



**HAL**  
open science

# Différenciation des monocytes en macrophages M2 dans la néphropathie diabétique : Telmisartan versus Losartan

Thibaut Florin

► **To cite this version:**

Thibaut Florin. Différenciation des monocytes en macrophages M2 dans la néphropathie diabétique : Telmisartan versus Losartan. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-02869598

**HAL Id: dumas-02869598**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02869598>**

Submitted on 16 Jun 2020

**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.

UNIVERSITE DE NICE SOPHIA - ANTIPOLIS

FACULTE DE MEDECINE DE NICE

**Différenciation des monocytes en macrophages M2  
dans la néphropathie diabétique : Telmisartan versus  
Losartan**

**Thèse d'exercice de Médecine**

Présentée et soutenue publiquement à la Faculté de Médecine de Nice

Le 28 Janvier 2020 par

**Monsieur Thibaut FLORIN**

Né le 28 Novembre 1991 à Seclin

**Pour l'obtention du grade de Docteur en Médecine**

D.E.S. Néphrologie

Composition du jury :

Monsieur le Professeur Vincent ESNAULT	Président
Monsieur le Professeur Nicolas CHEVALIER	Assesseur
Madame le Professeur Giulia CHINETTI	Assesseur
Monsieur le Professeur Guillaume FAVRE	Directeur

Liste des enseignants au 1er septembre 2019 à la Faculté de Médecine de Nice

Doyen

Pr. BAQUÉ Patrick

Vice-doyens

Pédagogie

Pr. ALUNNI Véronique

Recherche

Pr DELLAMONICA Jean

Etudiants

M. JOUAN Robin

Chargé de mission projet Campus

Pr. PAQUIS Philippe

Conservateur de la bibliothèque

Mme AMSELLE Danièle

Directrice administrative des services

Mme CALLEA Isabelle

Doyens Honoraires

M. RAMPAL Patrick

M. BENCHIMOL Daniel

**Liste des enseignants au 1er septembre 2019 à la Faculté de Médecine de Nice**
**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M.	BAQUÉ Patrick	Anatomie - Chirurgie Générale (42.01)
M.	BERNARDIN Gilles	Réanimation Médicale (48.02)
Mme	BLANC-PEDEUTOUR Florence	Cancérologie – Génétique (47.02)
M.	BOILEAU Pascal	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	DARCOURT Jacques	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	DRICI Milou-Daniel	Pharmacologie Clinique (48.03)
M.	ESNAULT Vincent	Néphrologie (52.03)
M.	FUZIBET Jean-Gabriel	Médecine Interne (53.01)
M.	GILSON Éric	Biologie Cellulaire (44.03)
M.	GUGENHEIM Jean	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	HASSEN KHODJA Reda	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	HÉBUTERNE Xavier	Nutrition (44.04)
M.	HOFMAN Paul	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
Mme	ICHAÏ Carole	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	LACOUR Jean-Philippe	Dermato-Vénérologie (50.03)
M.	LEFTHERIOTIS Georges	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (51.04)
M.	MARQUETTE Charles-Hugo	Pneumologie (51.01)
M.	MARTY Pierre	Parasitologie et Mycologie (45.02)
M.	MICHELIS Jean-François	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	MOUROUX Jérôme	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
Mme	PAQUIS Véronique	Génétique (47.04)
M.	PAQUIS Philippe	Neurochirurgie (49.02)
M.	PRADIER Christian	Épidémiologie, Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	QUATREHOMME Gérald	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	RAUCOULES-AIMÉ Marc	Anesthésie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	ROBERT Philippe	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	SCHNEIDER Stéphane	Nutrition (44.04)
M.	THYSS Antoine	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	TRAN Albert	Hépatogastro-entérologie (52.01)

**Liste des enseignants au 1er septembre 2019 à la Faculté de Médecine de Nice**
**PROFESSEURS PREMIERE CLASSE**

Mme	ASKENAZY-GITTARD Florence	Pédopsychiatrie (49.04)
M.	BARRANGER Emmanuel	Gynécologie Obstétrique (54.03)
M.	BÉRARD Étienne	Pédiatrie (54.01)
M.	BONGAIN André	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
Mme	BREUIL Véronique	Rhumatologie (50.01)
M.	CASTILLO Laurent	O.R.L. (55.01)
M.	CHEVALLIER Patrick	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	DE PERETTI Fernand	Anatomie-Chirurgie Orthopédique (42.01)
M.	FERRARI Émile	Cardiologie (51.02)
M.	FERRERO Jean-Marc	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	FONTAINE Denys	Neurochirurgie (49.02)
M.	GIBELIN Pierre	Cardiologie (51.02)
M.	HANNOUN-LEVI Jean-Michel	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	LEVRAUT Jacques	Médecine d'urgence (48.05)
M.	LONJON Michel	Neurochirurgie (49.02)
M.	MOUNIER Nicolas	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	PADOVANI Bernard	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	PASSERON Thierry	Dermato-Vénérologie (50-03)
M.	PICHE Thierry	Gastro-entérologie (52.01)
Mme	RAYNAUD Dominique	Hématologie (47.01)
M.	ROSENTHAL Éric	Médecine Interne (53.01)
M.	STACCINI Pascal	Biostatistiques et Informatique Médicale (46.04)
M.	THOMAS Pierre	Neurologie (49.01)
M.	TROJANI Christophe	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)

**Liste des enseignants au 1er septembre 2019 à la Faculté de Médecine de Nice**
**PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE**

Mme	ALUNNI Véronique	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	ANTY Rodolphe	Gastro-entérologie (52.01)
M.	BAHADORAN Philippe	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BAILLIF Stéphanie	Ophthalmologie (55.02)
Mme	BANNWARTH Sylvie	Génétique (47.04)
M.	BENIZRI Emmanuel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	BENOIT Michel	Psychiatrie (49.03)
M.	BERTHET Jean-Philippe	Chirurgie Thoracique (51-03)
M.	BOZEC Alexandre	ORL- Cancérologie (47.02)
M.	BREAUD Jean	Chirurgie Infantile (54-02)
Mme	BUREL-VANDENBOS Fanny	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	CHEVALIER Nicolas	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
Mme	CHINETTI Giulia	Biochimie-Biologie Moléculaire (44.01)
M.	CLUZEAU Thomas	Hématologie (47.01)
M.	DELLAMONICA Jean	réanimation médicale (48.02)
M.	DELOTTE Jérôme	Gynécologie-obstétrique (54.03)
M	FAVRE Guillaume	Néphrologie (44-02)
M.	FOURNIER Jean-Paul	Thérapeutique (48-04)
Mme	GIORDANENGO Valérie	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	GIOVANNINI-CHAMI Lisa	Pédiatrie (54.01)
M.	GUÉRIN Olivier	Méd. In ; Gériatrie (53.01)
M.	IANNELLI Antonio	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	ILIE Marius	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M	JEAN BAPTISTE Elixène	Chirurgie vasculaire (51.04)
M.	ROHRLICH Pierre	Pédiatrie (54.01)
M.	ROUX Christian	rhumatologie (50.01)
M.	RUIMY Raymond	Bactériologie-virologie (45.01)
Mme	SACCONI Sabrina	Neurologie (49.01)
M.	SADOUL Jean-Louis	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
M.	VANBIERVLIEET Geoffroy	Gastro-entérologie (52.01)

**Liste des enseignants au 1er septembre 2019 à la Faculté de Médecine de Nice**
**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

M.	AMBROSETTI Damien	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BERNARD-POMIER Ghislaine	Immunologie (47.03)
M.	BRONSARD Nicolas	Anatomie Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (42.01)
M.	CAMUZARD Olivier	Chirurgie Plastique (50-04)
Mme	CONTENTI-LIPRANDI Julie	Médecine d'urgence ( 48-04)
M.	DOGLIO Alain	Bactériologie-Virologie (45.01)
M	DOYEN Jérôme	Radiothérapie (47.02)
M.	FOSSE Thierry	Bactériologie-Virologie-Hygiène (45.01)
M.	GARRAFFO Rodolphe	Pharmacologie Fondamentale (48.03)
Mme	HINAULT Charlotte	Biochimie et biologie moléculaire (44.01)
M.	HUMBERT Olivier	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	LAMY Brigitte	Bactériologie-virologie ( 45.01)
Mme	LONG-MIRA Elodie	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	MAGNIÉ Marie-Noëlle	Physiologie (44.02)
M.	MASSALOU Damien	Chirurgie Viscérale ( 52-02)
Mme	MOCERI Pamela	Cardiologie (51.02)
M.	MONTAUDIE Henri	Dermatologie (50.03)
Mme	MUSSO-LASSALLE Sandra	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	NAÏMI Mourad	Biochimie et Biologie moléculaire (44.01)
Mme	POMARES Christelle	Parasitologie et mycologie (45.02)
M.	SAVOLDELLI Charles	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie (55.03)
Mme	SEITZ-POLSKI barbara	Immunologie (47.03)
M.	SQUARA Fabien	Cardiologie (51.02)
M.	TESTA Jean	Épidémiologie Économie de la Santé et Prévention (46.01)
Mme	THUMMLER Susanne	Pédopsychiatrie ( 49-04)
M.	TOULON Pierre	Hématologie et Transfusion (47.01)

Liste des enseignants au 1er septembre 2019 à la Faculté de Médecine de Nice

MAITRE DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS

M.	DARMON David	Médecine Générale (53.03)
Mme	GROS Auriane	Orthophonie (69)

PROFESSEURS AGRÉGÉS

Mme	LANDI Rebecca	Anglais
-----	---------------	---------

PRATICIEN HOSPITALIER UNIVERSITAIRE

M.	DURAND Matthieu	Urologie (52.04)
M.	SICARD Antoine	Néphrologie (52-03)

PROFESSEURS ASSOCIÉS

M.	GARDON Gilles	Médecine Générale (53.03)
Mme	MONNIER Brigitte	Médecine Générale (53.03)

MAITRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Mme	CASTA Céline	Médecine Générale (53.03)
M.	GASPERINI Fabrice	Médecine Générale (53.03)
M.	HOGU Nicolas	Médecine Générale (53.03)



Liste des enseignants au 1er septembre 2019 à la Faculté de Médecine de Nice

Constitution du jury en qualité de 4ème membre

Professeurs Honoraires

M. AMIEL Jean	M. GASTAUD Pierre
M ALBERTINI Marc	M. GÉRARD Jean-Pierre
M. BALAS Daniel	M. GILLET Jean-Yves
M. BATT Michel	M. GRELLIER Patrick
M. BLAIVE Bruno	M. GRIMAUD Dominique
M. BOQUET Patrice	M. HOFLIGER Philippe
M. BOURGEON André	M. JOURDAN Jacques
M. BOUTTÉ Patrick	M. LAMBERT Jean-Claude
M. BRUNETON Jean-Noël	M. LAZDUNSKI Michel
Mme BUSSIERE Françoise	M. LEFEBVRE Jean-Claude
M. CAMOUS Jean-Pierre	M. LE FICHOUX Yves
M. CANIVET Bertrand	Mme LEBRETON Elisabeth
M. CASSUTO Jill-patrice	M. MARIANI Roger
M. CHATEL Marcel	M. MASSEYEFF René
M. COUSSEMENT Alain	M. MATTEI Mathieu
Mme CRENESSE Dominique	M. MOUIEL Jean
M. DAR COURT Guy	Mme MYQUEL Martine
M. DELLAMONICA Pierre	M. ORTONNE Jean-Paul
M. DELMONT Jean	M. PRINGUEY Dominique
M. DEMARD François	M. SANTINI Joseph
M. DESNUELLE Claude	M. SAUTRON Jean Baptiste
M. DOLISI Claude	M. SCHNEIDER Maurice
Mme EULLER-ZIEGLER Liana	M. TOUBOL Jacques
M. FENICHEL Patrick	M. TRAN Dinh Khiem
M . FRANCO Alain	M VAN OBBERGHEN Emmanuel
M. FREYCHET Pierre	M. ZIEGLER Gérard

M.C.U. Honoraires

M. ARNOLD Jacques	M. GIUDICELLI Jean
M. BASTERIS Bernard	M. MAGNÉ Jacques
M. BENOLIEL José	Mme MEMRAN Nadine
Mlle CHICHMANIAN Rose-Marie	M. MENGUAL Raymond
Mme DONZEAU Michèle	M. PHILIP Patrick
M. EMILIOZZI Roméo	M. POIRÉE Jean-Claude
M. FRANKEN Philippe	Mme ROURE Marie-Claire
M. GASTAUD Marcel	

## Remerciements

***Je remercie très sincèrement les membres du jury :***

*Monsieur le Professeur Vincent Esnault, pour m'avoir fait bénéficier de son enseignement et de ses conseils tout au long de mon internat avec patience et bienveillance, et pour me faire l'honneur d'être le président de mon jury de thèse.*

*Monsieur le Professeur Nicolas Chevalier, pour avoir spontanément accepté de juger ce travail à la croisée de deux disciplines et y avoir participé en nous confiant ses patients.*

*Madame le Professeur Giulia Chinetti, pour m'avoir ouvert les portes du centre méditerranéen de médecine moléculaire me faisant par la même occasion découvrir le monde de la recherche médicale.*

*Monsieur le Professeur Guillaume Favre, à l'initiative de ce travail, pour m'avoir fait l'honneur de m'y inclure, pour m'avoir guidé dans sa réalisation et enfin pour m'avoir initié à la recherche clinique.*

**Je remercie également :**

*Tous les acteurs ayant participé à ce projet :*

*Claudine Moratal pour tout ce que tu m'as appris, pour ta bonne humeur et toutes les manipulations de dernière minute.*

*Les équipes du laboratoire du C3M pour leur rigueur et leur professionnalisme.*

*Céline Fernandez dont l'aide a été indispensable tous au long de ce travail.*

*L'équipe de l'hôpital de jour de Néphrologie et le centre de prélèvement de Pasteur 2.*

*Audrey qui m'a mis le pied à l'étrier.*

*Les équipes du service de néphrologie que ce soit aux soins intensifs, en hospitalisation, en transplantation ou encore en dialyse : merci de m'avoir supporté pendant toutes ces années et toutes ces gardes, parfois difficiles, et ce malgré mon caractère d'ours ! Merci de votre travail au quotidien sans lequel je ne pourrais pas faire le mien.*

*Les médecins du service de néphrologie et de transplantation pour m'avoir transmis leur savoir et m'avoir confié leurs patients : Dr Cassuto, Dr Albano, Ahmed, Emmanuelle, Dr Sicard, Dr Vido, Dr Islam, Hélène, Dr Bencherine, Aimèle sans oublier Marine qui m'a fait l'honneur de m'encadrer pour la rédaction du mémoire.*

*Les médecins et équipes des différents services dans lesquels j'ai eu la chance de travailler au cours de mon cursus notamment en cardiologie, en médecine interne, en infectiologie et en réanimation médicale.*

*Mes co-internes, de néphrologie et d'ailleurs : Hajar, Florence, Sonia B, Thierry, Joël, Audrey L (encore), Tristan, Gabriel, Marion, Claire, Jimmy, Alexandre, Yanis, Antoine, Audrey C, Renaud, Loïc, Sonia S, Lucas et Charlotte : j'ai eu de la chance d'avoir des co-internes aussi sympathiques que vous !*

*Merci à ma mère, mon beau-père, ma sœur et tout le reste de ma famille pour m'avoir apporté du réconfort et un soutien indéfectible tout au long de ces années, et ce malgré les épreuves de la vie.*

*Merci à mon père,*

## Table des matières

Remerciements.....	9
I. Introduction.....	13
II. Patients et méthodes .....	15
A. Population .....	15
B. Recueil de données et mesures .....	15
C. Méthodes .....	16
D. Critère de jugement principal.....	18
E. Analyse statistique .....	19
III. Résultats .....	20
IV. Discussion .....	25
V. Conclusion .....	27
VI. Bibliographie.....	28
VII. Abréviations .....	30
VIII. Résumé .....	31
IX. Serment d’Hippocrate .....	32

## I. Introduction

La néphropathie diabétique est la seconde cause la plus fréquente d'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT), en France elle est responsable d'un quart des IRCT d'après le Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie (REIN) et impose le recours à la greffe ou à l'épuration extra-rénale (EER) chez ces patients <sup>(1)</sup>. Le diabète de type 2 est responsable de 90% des cas d'IRCT du fait de sa prévalence bien supérieure à celle du diabète de type 1.

La néphropathie diabétique est la conséquence de l'hyperglycémie chronique sur les glomérules rénaux et fait partie de la microangiopathie. Cette hyperglycémie chronique induit la production de radicaux superoxydes toxiques pour les cellules mésangiales et endothéliales intra-glomérulaires <sup>(2)</sup>. Ces lésions cellulaires induisent la fuite de protéines dans les urines. Une portion de cette protéinurie est réabsorbée dans le tube proximal et dégradée par le lysosome. La saturation des capacités de dégradation lysosomale déclenche la production de cytokines pro-inflammatoires, en particulier le Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) <sup>(3)</sup>.

Il est bien décrit dans la littérature que les concentrations urinaires de MCP-1 sont corrélées aux lésions histologiques rénales observées dans la néphropathie diabétique <sup>(4,5)</sup> alors que les taux de MCP-1 sanguins ne sont pas différents de ceux des contrôles sains, ce qui suggère un mécanisme inflammatoire intra-rénal.

Ces cytokines, sécrétées localement, attirent les monocytes circulants dans l'interstitium rénal par diapédèse, ils se différencient ensuite en macrophages pro-inflammatoires (M1) ou alternatifs (M2) <sup>(6-8)</sup>. Les macrophages M1 produisent davantage de MCP-1 ce qui entretient le phénomène de recrutement des monocytes circulants. Les macrophages M2 ont un rôle anti-inflammatoire et de cicatrisation. Ils produisent du transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) qui est pro-fibrosant <sup>(7,9,10)</sup> et l'accumulation de macrophages M2 dans le parenchyme rénal est corrélée à l'apparition des lésions histologiques spécifiques de la néphropathie diabétique <sup>(11,12)</sup>. La fibrose rénale est inversement proportionnelle au débit de filtration glomérulaire (DFG) <sup>(13,14)</sup>. Une des façons de quantifier la fibrose rénale sans recourir à la biopsie est la mesure du PIIINP urinaire (propeptide aminoterminal du procollagène 3) <sup>(15)</sup>.

Une piste pour diminuer la fibrose rénale serait de diminuer l'infiltration monocyttaire rénal en favorisant la différenciation des monocytes vers des macrophages M2 plutôt que M1, diminuant ainsi la production de MCP-1 et donc le recrutement des monocytes dans l'interstitium.

Le blocage du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) par un inhibiteur de l'enzyme de conversion (IEC) ou un antagoniste du récepteur AT1 de l'angiotensine II (ARAI) permet de diminuer

la pression artérielle et de réduire la protéinurie (<sup>16,17</sup>). Au-delà de ces effets hémodynamiques, ces médicaments sont supérieurs aux autres antihypertenseurs car ils ralentissent la progression vers l'IRCT dans la néphropathie diabétique (<sup>18,19</sup>) en partie par l'interruption de la voie fibrosante du TGF- $\beta$  (<sup>10,20</sup>). Le Telmisartan est en plus un agoniste partiel du Peroxysome Proliferator-Activated Receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) et ce facteur de transcription est connu pour augmenter le rapport M2/M1 au niveau tissulaire chez la souris (<sup>21,22</sup>).

Notre hypothèse de travail est que, chez les patients atteints de néphropathie diabétique, le Telmisartan, via son effet agoniste partiel de PPAR $\gamma$ , orienterait la différenciation des monocytes vers un phénotype de macrophage M2 et diminuerait la production urinaire de MCP-1 ainsi que la production rénale des marqueurs de fibrose comme PIIINP.

Pour tester cette hypothèse nous avons comparé la capacité des monocytes circulants à se différencier en macrophages M1 ou M2 chez des patients atteints de néphropathie diabétique traités par Losartan ou Telmisartan et nous avons comparé MCP-1 et PIIINP dans l'urine.

## II. Patients et méthodes

### A. Population

Cette étude a été conduite au Centre Hospitalier Universitaire de Nice avec l'approbation du Comité de Protection des Personnes (CPP Méditerranée) de l'ANSM et de la CNIL. Tous les patients ont signé un consentement éclairé.

Les critères d'inclusion dans notre étude étaient les suivants : Sujets âgés d'au moins 18 ans, diabète de type 2 diagnostiqué depuis plus d'un an, traitement par IEC ou ARAII à dose maximale, microalbuminurie définie par une albuminurie supérieure à 30 mg/g de créatininurie et une protéinurie inférieure à 3,5 g/g de créatininurie, sujet ayant signé le consentement éclairé.

Les critères de non-inclusion étaient les suivants : Traitement en cours par Aliskiren, hypotension mal tolérée, néphropathie non diabétique, DFG < 30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, diabète de type 1, Maturity Onset Diabetes of the Youth (MODY), utilisation du Telmisartan dans les 6 mois avant l'inclusion, cirrhose hépatique (production possible de PIIINP) et insuffisance hépatique sévère, maladie inflammatoire chronique, cancer évolutif, traitement immunosuppresseur, hypersensibilité connue aux sartans ou au Telmisartan, occlusion biliaire, hyperaldostéronisme primaire connu, traitement en cours par agonistes de GLP-1, HBA1c > 10%, infection sévère dans les 6 derniers mois, femme enceinte ou allaitante ainsi que les critères éthiques habituels.

Les critères d'exclusion de l'étude étaient les suivants : Recours à la dialyse ou à la greffe rénale, doublement de la créatinine au cours des 6 mois de l'étude, retrait du consentement éclairé par le patient.

Les sujets éligibles ont été identifiés par screening des dossiers des consultations de néphrologie et de diabétologie. La participation à l'étude était proposée à tous les sujets éligibles. Ils étaient ensuite reçus en consultation de Néphrologie dédiée entre le 15 mai 2017 et le 3 mars 2019 afin de vérifier la conformité des différents critères et de donner leur accord écrit.

### B. Recueil de données et mesures

Au cours de la consultation d'inclusion, après signature du consentement éclairé, les mesures anthropométriques étaient relevées (poids, taille, périmètre abdominal, tour de hanche), de même que l'âge et le sexe. Trois mesures de la tension artérielle couchée et une debout étaient réalisées.



La présence des comorbidités suivante était recherchée : hypertension artérielle (HTA), asthme, cardiopathie ischémique, rétinopathie diabétique, neuropathie diabétique, artériopathie des membres inférieurs (AOMI), revascularisation carotidienne, accident vasculaire cérébral (AVC) ou accident ischémique transitoire (AIT), présence d'une diarrhée sous metformine, syndrome d'apnée du sommeil (SAHOS).

Les traitements suivis par les patients étaient également relevés : statine, metformine, insuline lente et rapide, répaglinide, inhibiteurs des alpha-glucosidases, sulfamides hypoglycémisants, inhibiteurs de DPP4, acide acétylsalicylique et clopidogrel.

Un bilan sanguins initial était prélevé avec la mesure des paramètres suivants : hémoglobine glyquée, créatininémie avec calcul du débit de filtration glomérulaire selon le CKD-EPI, kaliémie, albuminémie, créatininurie, protéinurie et microalbuminurie.

Au terme de la consultation les patients étaient randomisés dans le groupe Losartan, à la dose de 100 mg par jour, ou Telmisartan, à la dose de 80 mg par jour, en remplacement du précédent traitement par IEC ou ARA II pour une durée de 6 mois.

Une première visite avait lieu à 8 jours du début du protocole afin de vérifier la bonne tolérance clinique et biologique du traitement via le dosage d'une créatininémie et d'une kaliémie puis une seconde visite avait lieu à 3 mois. La visite de fin de protocole était réalisée à 6 mois, la mesure de l'ensemble des paramètres précédemment cités était de nouveau réalisée. Enfin 7 tubes de sang total (35 ml) étaient prélevés et adressés au C3M pour isoler les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC).

La survenue d'un effet indésirable ou d'un effet indésirable grave était systématiquement recherchée à chaque visite prévue par le protocole et consignée.

## C. Méthodes

### *Isoler les PBMCs*

L'ensemble des manipulations concernant les PBMCs a été réalisé au laboratoire du Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire (C3M) de l'Archet par le Dr Claudine Moratal qui travaille dans l'équipe du Professeur Giulia Chinetti. Les prélèvements sanguins destinés à isoler les PBMCs étaient directement acheminés au laboratoire C3M. Les PBMC étaient extraits par centrifugations successives sur milieu de Ficoll. La suspension cellulaire ainsi obtenue était conservée à -125°C pour analyse ultérieure.

### *Différenciation en macrophages*

Une fois l'ensemble des prélèvements réalisés, les cellules étaient décongelées selon un protocole standard pour chaque patient. Une fois décongelées les PBMCs étaient repris dans un milieu RPMI contenant de la Gentamycine et de la Glutamine (milieu de base). Les monocytes étaient ensuite comptés sur cellule de Malassez après coloration au Giemsa. Ils étaient ensemencés et incubés à 37°C pendant 2 heures afin que les monocytes adhèrent au support. Les plaques sont ensuite lavées au PBS pour éliminer les cellules flottantes telles que les lymphocytes. Les monocytes ainsi isolés étaient ensuite incubés à l'étuve pendant 6 jours à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>.

Quatre conditions ont été déterminées pour chaque patient :

- Exposition à du sérum humain seul afin d'obtenir des macrophages non-polarisé (RM)
- Exposition à du sérum humain avec IL-1 $\beta$  afin d'obtenir des macrophages M1
- Exposition à du sérum humain avec IL-4 afin d'obtenir des macrophages M2 sans inhibiteur de PPAR $\gamma$ .
- Exposition à du sérum humain avec IL-4 afin d'obtenir des macrophages M2 avec inhibiteur synthétique de PPAR $\gamma$  (le composé GW9662).

### *Extraction des ARNs*

L'extraction des ARN messagers était réalisée au terme de l'incubation. Les macrophages étaient lysés avec 200  $\mu$ L de Trizol dans la glace, 40  $\mu$ L de chloroforme sont ajouté au lysat. Après centrifugation la phase aqueuse contenant les ARNs totaux solubles était collectée. Les ARNs étaient précipités en ajoutant 80  $\mu$ L d'isopropanol puis stocké au minimum 24 heures à -20°C. Après centrifugation, les culots d'ARNs étaient lavés dans 200  $\mu$ L d'éthanol à 70%. Les culots étaient ensuite séchés et repris dans 10  $\mu$ L d'eau RNase/DNase free. Enfin les ARNs étaient dosés par spectrophotométrie au NanoDrop.

### *Reverse Transcription (RT)*

L'ensemble des échantillons ont été dilués à l'eau stérile libre de DNase/RNase afin d'obtenir une quantité standardisée de 200 ng d'ARNm par échantillon. Le kit de reverse transcription Quantitect

(QIAGEN) était utilisé afin d'obtenir de l'ADN complémentaire (ADNc). Les ARNs étaient incubés dans un thermocycleur pendant 2 minutes à 42°C dans un tampon gDNA Wipeout afin d'éliminer tout ADN génomique contaminant. Ensuite l'ARN était rétro-transcrit pendant 30 minutes à 42°C en présence des nucléotides, de l'enzyme reverse transcriptase et du tampon du kit. Enfin la réaction enzymatique était arrêtée en incubant les ADNc obtenus à 95°C pendant 3 minutes.

#### *PCR semi-quantitative*

Les ADNc étaient dilués dans de l'eau RNase/DNase free. La PCR semi-quantitative des différents gènes d'intérêt était réalisée avec le Syber Green Fluor en utilisant l'appareil StepOnePlus Real-Time PCR System. Les ADNc étaient amplifiés par polymérisation en chaîne. La quantité d'ADNc amplifiée était mesurée par la fluorescence au CT (Crossing Threshold). L'expression des marqueurs est mesurée selon la méthode du  $\Delta\Delta CT$  qui consiste à normaliser à l'expression d'un gène de ménage, la cyclophiline A, et à la moyenne du groupe. Les marqueurs M1 choisis étaient les suivants : IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MCP-1, CCL3. Les marqueurs M2 choisis étaient les suivants : TGF- $\beta$ 1, CD206, AMAC1, IL-1R $\alpha$ , F13A1, CD200R et FN1.

#### *Mesure de MCP1 et de PIIINP*

Les dosages urinaires ont été réalisés par méthode ELISA avec respectivement un kit R&D Systems (ref. DCP00) et un kit MyBiosource.com (ref. 160429). La quantité de MCP1 urinaire a été divisée par la créatininurie et la variation entre M6 et M0 a été calculée. Les résultats sont en pg/g. Les dosages de MCP1 dans le surnageant des cultures cellulaires RM et M1 ont été faits par ELISA avec le même kit et rapportés à la quantité d'ARNm cyclophiline A.

### D. Critère de jugement principal

Le critère principal était dépendant du nombre de marqueurs de différenciation M2 et M1 au bout de 6 mois de traitement. Un marqueur était augmenté dans les macrophages M2 ou M1 si son expression dépassait d'au moins 20% celle du même marqueur mesuré dans les macrophages RM. La somme des marqueurs M2 significativement augmentés était divisée par la somme des marqueurs M1 significativement augmentés ( $\geq 1$  par convention) donnant un score. La prédominance de

macrophages M2 était signifiée par un score  $> 1$  tandis que la prédominance de M2 était signifiée par un score  $\leq 1$ . Le résultat était finalement exprimé en nombre de patients avec un score  $> 1$  ou  $\leq 1$  selon le traitement par Losartan ou Telmisartan.

### E. Analyse statistique

Nous avons fait l'hypothèse que 90% des patients auraient un score  $> 1$  dans le groupe Telmisartan contre moins de 20% dans le groupe Losartan. Sur cette base, le nombre de sujets nécessaires a été estimé à 10 dans chaque groupe, au risque alpha 5% et avec une puissance de 80%. L'analyse descriptive de la population comportait une évaluation des fréquences absolues et relatives avec leurs intervalles de confiance à 95% pour les variables qualitatives et une évaluation des moyennes, écart-types, médianes et interquartiles pour les variables quantitatives. La comparaison du score se faisait à l'aide d'un test exact de Fisher.

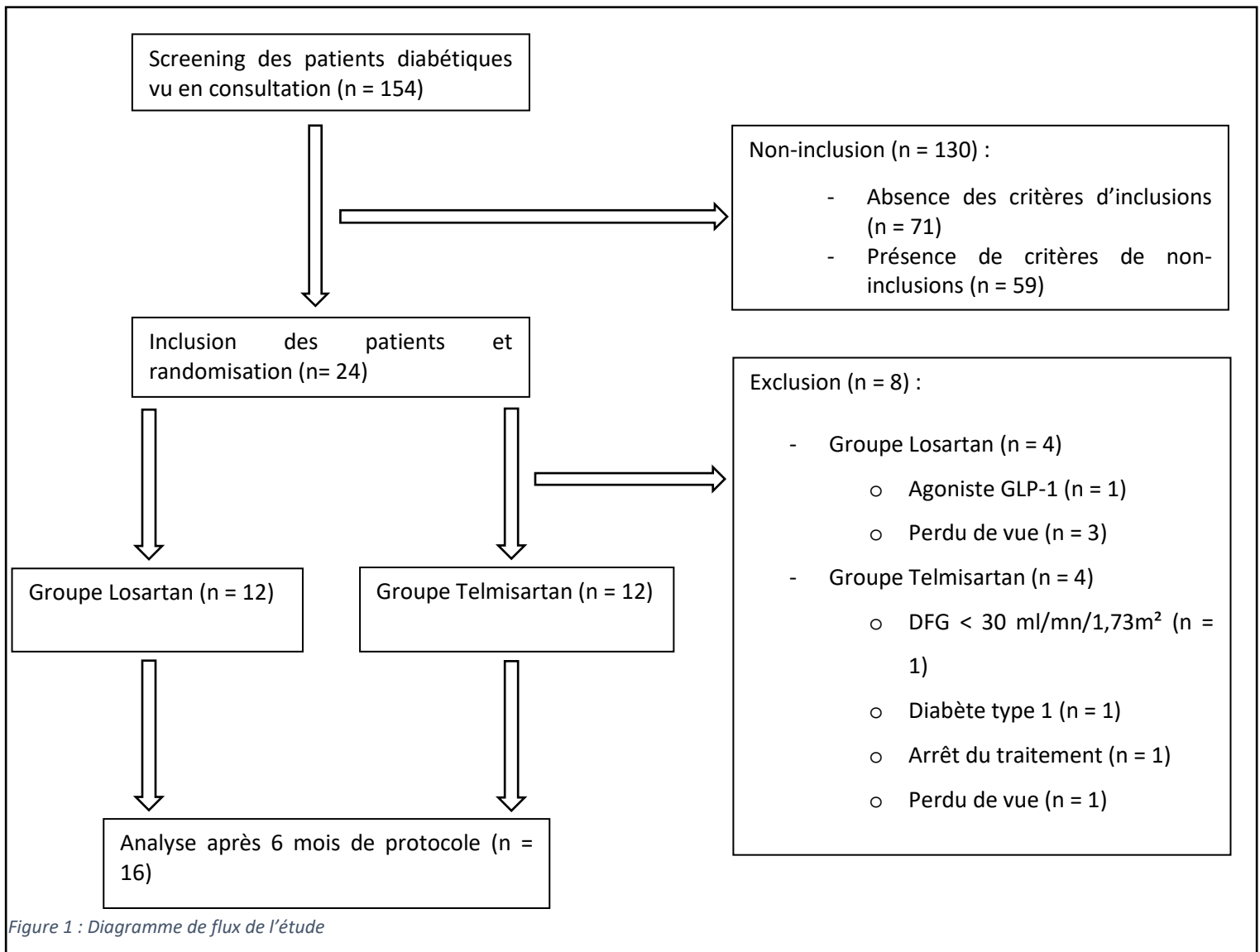
Les comparaisons de la variation des taux de MCP-1 urinaire au cours du temps entre les deux bras de traitement et de l'expression de MCP-1 dans les surnageants de culture se faisaient à l'aide d'un test des rangs signés de Wilcoxon.

La comparaison du DFG, de la pression artérielle et de la protéinurie entre les deux groupes de traitement à six mois était réalisée à l'aide d'un test non-paramétrique de Mann-Whitney.

La significativité statistique était définie par  $p < 0,05$ . La description de la population, les analyses statistiques et les graphiques ont été réalisés à partir du logiciel Graph Pad Prism 8.

### III. Résultats

Les patients vus en consultation de néphrologie ou d'endocrinologie pour un diabète de type 2 avec insuffisance rénale constituaient notre population source pour les inclusions. Au total 24 patients (12 dans chaque groupe) ont été inclus dans le protocole. 8 patients (4 dans chaque groupe) ont dû être exclus et n'ont donc pas été analysés (figure 1).



Les principales caractéristiques de notre population d'étude sont résumées dans les tableaux 1 et 2. L'âge global de nos patients était en moyenne à  $69 \pm 7$  ans avec une large prédominance masculine (94 %) et ils étaient globalement en surpoids ou obèse (IMC moyen à  $29 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>). Par ailleurs la quasi-totalité de l'effectif était traité par Metformine et Statine (94% et 88% respectivement). Les

deux groupes de patients étaient semblables pour la majorité des variables recueillies notamment la fonction rénale, l'HbA1c ou la protéinurie.

<b>Variabes</b>	<b>Population globale</b>	<b>Groupe Losartan</b>	<b>Groupe Telmisartan</b>
<b>Nombre (n)</b>	16	8	8
<b>Age (année)</b>	69 ± 6,9	72 ± 7	66 ± 6
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	29 ± 4,5	29 ± 3,5	30 ± 5,5
<b>TAS (mmHg)</b>	148 ± 16	145 ± 12	152 ± 20
<b>TAD (mmHg)</b>	81 ± 11	79 ± 11	84 ± 11
<b>Créatinine (µmol/L)</b>	122 ± 35	121 ± 33	123 ± 40
<b>DFG (ml/mn/1,73 m<sup>2</sup>)</b>	54 ± 17	50 ± 11	59 ± 21
<b>Microalbuminurie (mg/g de créatininurie)</b>	342,4 ± 539,8	282,2 ± 500,3	351,5 ± 557,5
<b>HbA1c (%)</b>	7,3 ± 1,4	7,1 ± 1,2	7,5 ± 1,7

Tableau 1 : Caractéristiques générales de la population. Les résultats sont exprimés selon la forme suivant : moyenne ± écart-type. IMC : indice de masse corporelle, TAS : tension artérielle systolique, TAD : tension artérielle diastolique, DFG : débit de filtration glomérulaire, HbA1c : hémoglobine glyquée.

Le score > 1 prédominait largement quel que soit le type de sartan utilisé en traitement ( $p = 0,005$ ) comme le montre la figure 2. En effet, dans le groupe Losartan, 75% des patients présentaient un profil de différenciation M2 versus 88% dans le groupe Telmisartan (1,44 [0,41 à 3,38],  $p=ns$ ). La figure 3 représente le profil de différenciation des macrophages pour chaque patient dans les deux groupes de traitement. Devant l'absence de différence de score selon le traitement, les données concernant PPAR $\gamma$  ne sont pas présentées.

La variation urinaire de MCP-1/créatininurie entre J0 et M6 n'est pas statistiquement différente entre le traitement par Telmisartan et le traitement par Losartan ( $p = 0,55$ ) ; ces résultats sont présentés dans la figure 4. Les taux de MCP-1 dans les surnageant de culture des macrophages M1 ne sont pas statistiquement différents entre les deux traitements ( $p = 0,95$ ). En revanche, nous observons une différence d'expression de MCP-1 dans les surnageants des macrophages M1 et les surnageants des macrophages RM ( $p < 0,001$ ). Ces données sont présentées dans la figure 5. Il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes de traitement sur le DFG ( $p = 0,20$ ), la pression artérielle ( $p = 0,82$ ) et la protéinurie ( $p = 0,51$ ) à six mois de traitement.

<b>Variables</b>	<b>Population globale</b>	<b>Groupe Losartan</b>	<b>Groupe Telmisartan</b>
<b>Nombre (n)</b>	16	8	8
<b>Genre (n)</b>			
<b>Homme</b>	15 (93,6%)	7 (87,5%)	8 (100%)
<b>Femme</b>	1 (6,25%)	1 (12,5%)	0 (0%)
<b>Comorbidités</b>			
<b>HTA</b>	16 (100%)	8 (100%)	8 (100%)
<b>CMI</b>	8 (50%)	4 (50%)	4 (50%)
<b>Rétinopathie diabétique</b>	4 (25%)	2 (25%)	2 (25%)
<b>Neuropathie diabétique</b>	5 (31,3%)	0 (0%)	5 (62,5%)
<b>AOMI</b>	3 (18,6%)	0 (0%)	3 (37,5%)
<b>AVC</b>	2 (12,5%)	2 (25%)	0 (0%)
<b>SAHOS</b>	6 (37,5%)	4 (50%)	2 (25%)
<b>Traitement habituel</b>			
<b>Statines</b>	14 (87,5%)	8 (100%)	6 (75%)
<b>Metformine</b>	15 (93,75%)	7 (87,5%)	8 (100%)
<b>Insuline lente</b>	5 (31,25%)	3 (37,5%)	2 (25%)
<b>Insuline rapide</b>	2 (12,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)
<b>Répaglinide</b>	5 (31,3%)	2 (25%)	3 (37,5%)
<b><math>\alpha</math>-glucosidase</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Sulfamide</b>	2 (12,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)
<b>Inhibiteurs de DPP4</b>	7 (43,6%)	3 (37,5%)	4 (50%)
<b>Aspirine</b>	9 (56,3%)	4 (50%)	5 (62,5%)
<b>Clopidogrel</b>	5 (31,3%)	2 (25%)	3 (37,5%)

Tableau 2 : Comorbidités et traitements habituels de la population d'étude à l'inclusion. Les données sont exprimées en effectifs absolus suivis de la fréquence relative exprimée en pourcentage. HTA : hypertension artérielle, CMI : cardiomyopathie ischémique, AOMI : artériopathie oblitérante des membres inférieurs, AVC : accident vasculaire cérébral, SAHOS : syndrome des apnées-hypopnées obstructives du sommeil.

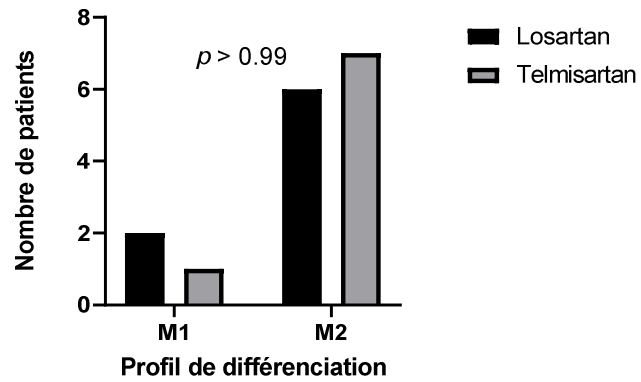


Figure 2 : Profil de différenciation des macrophages en fonction du traitement à six mois.

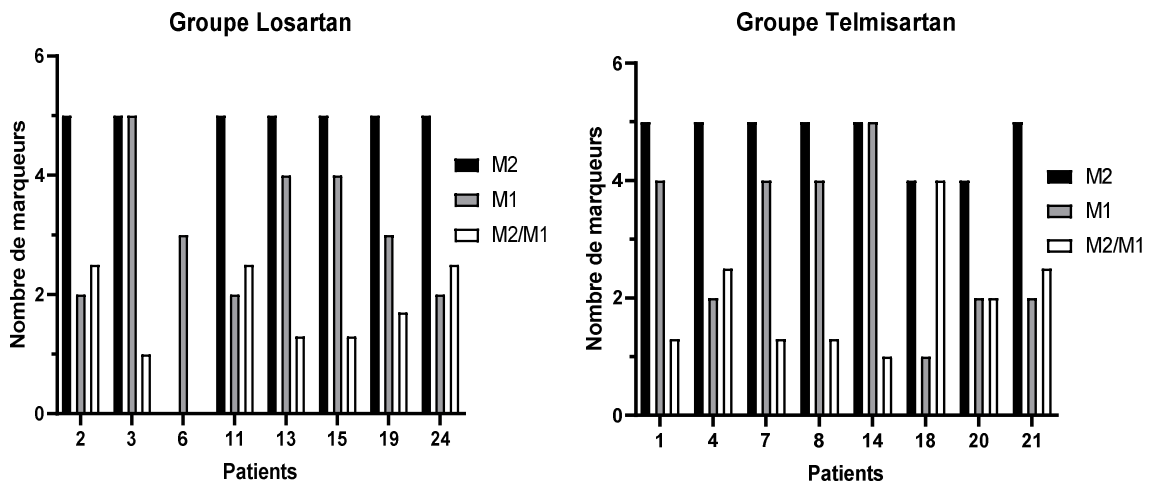


Figure 3 : Représentation du nombre de marqueurs augmentés de façon significative dans les deux bras de traitement.



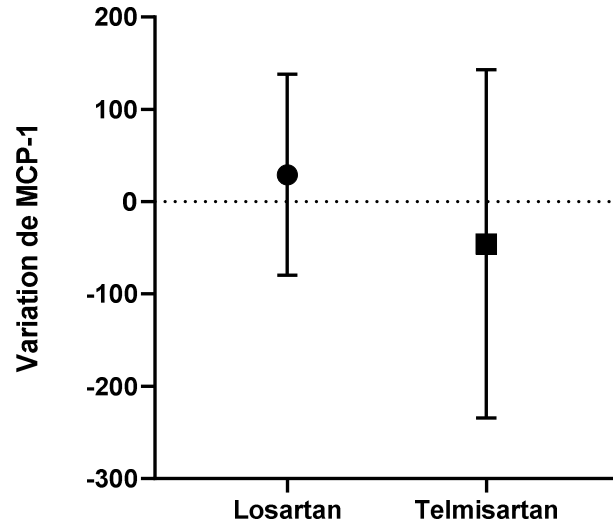


Figure 4 : Comparaison des variations d'expression de MCP-1 urinaire entre J0 et M6 entre les deux groupes de traitement. MCP-1 est exprimé en pg/g de créatininurie.

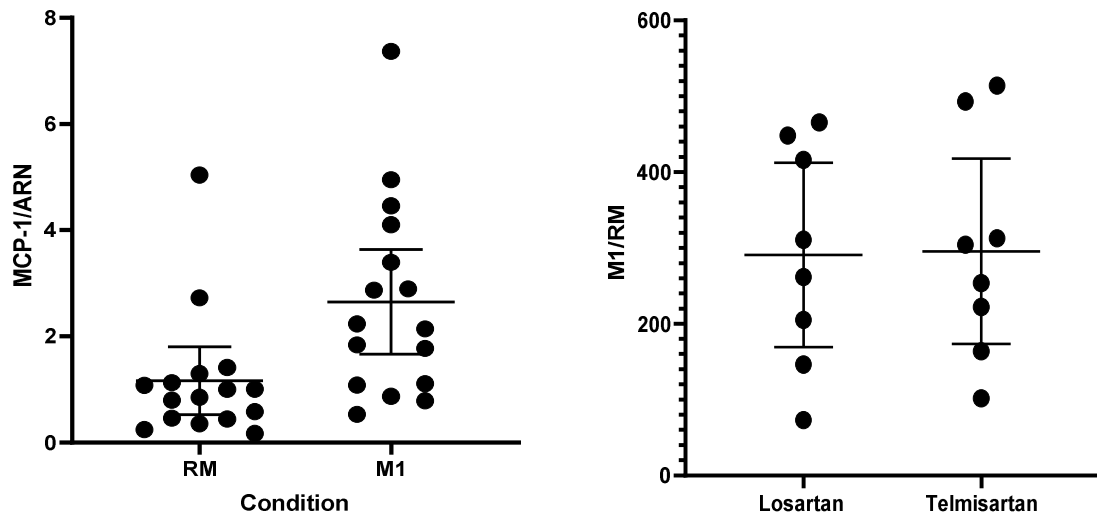


Figure 5 : Comparaison de l'expression de MCP-1 dans les surnageants de culture macrophagique. A gauche : comparaison des valeurs de MCP-1 entre les macrophages M1 et la condition de référence RM. A droite : Comparaison de l'expression de MCP-1 dans le surnageant de culture entre les deux bras de traitement.

## IV. Discussion

A notre connaissance il s'agit de la première étude évaluant l'impact d'un traitement par ARAII sur la différenciation macrophagique dans la néphropathie diabétique chez l'homme. Notre étude est négative pour le critère de jugement principal puisque nous n'observons pas de différence significative entre les deux bras de traitement concernant le score de différenciation macrophagique. En revanche nous avons observé une prédominance des marqueurs M2 par rapport aux marqueurs M1 chez l'ensemble des patients.

Ce résultat pourrait s'expliquer par l'emploi fréquent de la vitamine D native dans la prise en charge de la MRC. En effet, dans une étude récente, *Zhang et al.* montrent une diminution de l'expression de marqueurs M1 sous traitement par vitamine D chez le rat <sup>(23,24)</sup>.

Il pourrait s'expliquer aussi par le niveau de fonction rénale <sup>(12)</sup>. En effet les lésions histologiques observées à la phase précoce de la néphropathie diabétique (phase I et IIa) seraient associées à une prédominance de macrophages M1 tandis que les lésions histologiques observées à la phase tardive (phase III) seraient corrélées à la prédominance de macrophages M2 <sup>(12)</sup>. Or, nos patients étaient en phase III de la néphropathie diabétique puisque leur DFG était  $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .

L'absence de différence d'excrétion urinaire de MCP-1 entre nos deux groupes est cohérente avec l'absence de polarisation différentielle des macrophages bien que la différenciation *ex vivo* des monocytes circulants ne soit pas forcément le reflet de l'infiltrat macrophagique rénal. Les résultats concernant le PIIINP urinaire sont en attente <sup>(15)</sup>.

Nous n'attendions pas de différence significative entre les deux bras de traitement pour la tension artérielle, la protéinurie et le DFG à 6 mois de traitement car l'étude AMADEO n'avait montré de différence que sur la protéinurie avec les mêmes médicaments, sur des effectifs bien supérieurs et avec une durée de suivi deux fois plus longue <sup>(25)</sup>.

La qualité de la sélection de nos patients est un point fort de notre étude. En effet nous n'avons pas inclus de patients exposés à des facteurs connus pour influencer la différenciation des macrophages. Par exemple, un traitement par agonistes du glucagon-like peptide 1 était un critère de non-inclusion car ce médicament favorise la transition des monocytes vers la forme M2 chez l'homme <sup>(26)</sup>. Nous avons limité notre cohorte à des patients dont le DFG était supérieur à  $30 \text{ ml/mn/1,73m}^2$  car l'insuffisance rénale augmente la concentration des produits avancés de la glycation dont les récepteurs sont exprimés sur les monocytes et peuvent influencer leur différenciation <sup>(27)</sup>. Nous avons évité les patients avec une hémoglobine glyquée supérieurs à 10% car cette situation favorise

la différenciation vers les macrophages M1 (<sup>28</sup>). Enfin nous avons évité toute situation clinique induisant une inflammation telle que les infections, néoplasies ou maladies inflammatoires chroniques qui auraient pu interférer avec la différenciation des monocytes *ex vivo*. L'étape de différenciation *ex vivo* a été efficace puisque nous observons plus de protéine MCP-1 dans le surnageant des macrophages M1 que dans celui des RM. La principale limite de notre étude est l'absence de caractérisation de l'infiltrat macrophagique rénal ; cependant nous n'avons pas d'indication de biopsie rénale chez nos patients. La large prédominance masculine ne permet pas d'extrapoler nos résultats chez les femmes. Toutefois, aucun argument ne permet de penser que le mécanisme inflammatoire rénal diffère entre homme et femme.

## V. Conclusion

Ce travail montre l'absence de supériorité du Telmisartan sur le Losartan pour orienter *ex vivo* la différenciation monocyttaire vers des macrophages de phénotype M2 dans la néphropathie diabétique. Bien que la polarisation intra-rénale des macrophages n'obéisse pas forcément aux mêmes stimuli que ceux utilisés sur les monocytes *ex vivo*, il est peu probable que le Telmisartan influence la composition de l'infiltrat macrophagique rénal chez les patients diabétiques, micro-albuminuriques qui présentent une insuffisance rénale modérée.

## VI. Bibliographie

1. Les données du rapport REIN. France REIN. <https://www.francerein.org/actualites/23-les-donnees-du-rapport-rein>. Accessed December 30, 2019.
2. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications: A Unifying Mechanism. *Diabetes*. 2005;54(6):1615-1625. doi:10.2337/diabetes.54.6.1615
3. Liu Y. Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol*. 2011;7(12):684-696. doi:10.1038/nrneph.2011.149
4. Wada T, Furuichi K, Sakai N, et al. Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 2000;58(4):1492-1499. doi:10.1046/j.1523-1755.2000.00311.x
5. Tashiro K, Koyanagi I, Saitoh A, et al. Urinary levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukin-8 (IL-8), and renal injuries in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Clin Lab Anal*. 2002;16(1):1-4. doi:10.1002/jcla.2057
6. Landis RC, Quimby KR, Greenidge AR. M1/M2 Macrophages in Diabetic Nephropathy: Nrf2/HO-1 as Therapeutic Targets. *Curr Pharm Des*. 2018;24(20):2241-2249. doi:10.2174/1381612824666180716163845
7. Anders H-J, Ryu M. Renal microenvironments and macrophage phenotypes determine progression or resolution of renal inflammation and fibrosis. *Kidney Int*. 2011;80(9):915-925. doi:10.1038/ki.2011.217
8. Tian S, Chen S-Y. Macrophage polarization in kidney diseases. *Macrophage*. 2015;2(1). doi:10.14800/macrophage.679
9. Chatziantoniou C, Dussaule J-C. Is kidney injury a reversible process?: *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2008;17(1):76-81. doi:10.1097/MNH.0b013e3282f1bb69
10. Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA. Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor-beta expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest*. 1994;93(6):2431-2437. doi:10.1172/JCI117251
11. Tervaert TWC, Mooyaart AL, Amann K, et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2010;21(4):556-563. doi:10.1681/ASN.2010010010
12. Zhang X, Yang Y, Zhao Y. Macrophage phenotype and its relationship with renal function in human diabetic nephropathy. *PLoS ONE*. 2019;14(9). doi:10.1371/journal.pone.0221991
13. Schainuck LI, Striker GE, Cutler RE, Benditt EP. Structural-functional correlations in renal disease. II. The correlations. *Hum Pathol* 1970;1:631-41.
14. Risdon RA, Sloper JC, De Wardener HE. Relationship between renal function and histological changes found in renal-biopsy specimens from patients with persistent glomerular nephritis. *Lancet* 1968;2:363-6.
15. Ghouli BE, Squalli T, Servais A, et al. Urinary procollagen III aminoterminal propeptide (PIIINP): a fibrotest for the nephrologist. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2010;5(2):205-210. doi:10.2215/CJN.06610909

16. Andraws R, Brown DL. Effect of Inhibition of the Renin-Angiotensin System on Development of Type 2 Diabetes Mellitus (Meta-Analysis of Randomized Trials). *Am J Cardiol*. 2007;99(7):1006-1012. doi:10.1016/j.amjcard.2006.10.068
17. Barnett AH, Karlberg B, Mustonen J. Angiotensin-Receptor Blockade versus Converting-Enzyme Inhibition in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *N Engl J Med*. 2004;10.
18. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N Engl J Med*. 1993;329(20):1456-1462. doi:10.1056/NEJM19931113292004
19. de Zeeuw D, Remuzzi G, Parving H-H, et al. Proteinuria, a target for renoprotection in patients with type 2 diabetic nephropathy: Lessons from RENAAL. *Kidney Int*. 2004;65(6):2309-2320. doi:10.1111/j.1523-1755.2004.00653.x
20. Wolf G. Renal injury due to renin-angiotensin-aldosterone system activation of the transforming growth factor- $\beta$  pathway. *Kidney Int*. 2006;6.
21. Fujisaka S, Usui I, Kanatani Y, et al. Telmisartan Improves Insulin Resistance and Modulates Adipose Tissue Macrophage Polarization in High-Fat-Fed Mice. *Endocrinology*. 2011;152(5):1789-1799. doi:10.1210/en.2010-1312
22. Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Goforth MH, et al. Macrophage-specific PPAR $\gamma$  controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature*. 2007;447(7148):1116-1120. doi:10.1038/nature05894
23. Zhang X, Zhao Y, Zhu X, et al. Active vitamin D regulates macrophage M1/M2 phenotypes via the STAT-1-TREM-1 pathway in diabetic nephropathy. *J Cell Physiol*. 2019;234(5):6917-6926. doi:10.1002/jcp.27450
24. Zhang X, Zhou M, Guo Y, Song Z, Liu B. 1,25-Dihydroxyvitamin D $_3$  Promotes High Glucose-Induced M1 Macrophage Switching to M2 via the VDR-PPAR $\gamma$  Signaling Pathway. *BioMed Res Int*. 2015;2015:157834. doi:10.1155/2015/157834
25. Bakris G, Burgess E, Weir M, Davidai G, Koval S. Telmisartan is more effective than losartan in reducing proteinuria in patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 2008;74(3):364-369. doi:10.1038/ki.2008.204
26. Shiraishi D, Fujiwara Y, Komohara Y, Mizuta H, Takeya M. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) induces M2 polarization of human macrophages via STAT3 activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;425(2):304-308. doi:10.1016/j.bbrc.2012.07.086
27. Linden E, Cai W, He JC, et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease results from advanced glycation end products (AGE)-mediated inhibition of endothelial nitric oxide synthase through RAGE activation. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2008;3(3):691-698. doi:10.2215/CJN.04291007
28. Roma-Lavisce C, Tagzirt M, Zawadzki C, et al. M1 and M2 macrophage proteolytic and angiogenic profile analysis in atherosclerotic patients reveals a distinctive profile in type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2015;12(4):279-289. doi:10.1177/1479164115582351

## VII. Abréviation

IRCT : insuffisance rénale chronique terminale

REIN : Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie

EER : épuration extra-rénale

MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1

TGF- $\beta$  : transforming growth factor beta

DFG : débit de filtration glomérulaire

SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone

IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion

ARA II : antagoniste du récepteur AT1 de l'angiotensine II

PPAR $\gamma$  : peroxisome proliferator-activated receptor gamma

CPP : comité de protection des personnes

ANSM : agence nationale de sécurité du médicament

CNIL : commission nationale informatique et libertés

HTA : hypertension artérielle

AOMI : artériopathie obstructive des membres inférieurs

AVC : accident vasculaire cérébral

AIT : accident ischémique transitoire

SAHOS : syndrome d'apnées hypopnées obstructives du sommeil

IMC : indice de masse corporelle

PIIINP : propeptide aminoterminal du procollagène 3

## VIII. Résumé

**Introduction :** La néphropathie diabétique est responsable de 25% des cas d'insuffisance rénale chronique terminale en France. Notre hypothèse est que la néphropathie diabétique dépend de déterminants inflammatoires pour lesquels l'orientation de la différenciation macrophagique joue un rôle clefs.

**Matériel et méthodes :** Nous avons inclus des adultes atteints d'une néphropathie diabétique débutante avec une HbA1c < 10%, sous traitement par bloqueurs du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) à dose maximale. Les sujets étaient randomisés dans un bras de traitement par Losartan (n = 8) vs Telmisartan (n = 8) pendant 6 mois. Le profil de différenciation macrophagique était évalué par extraction des monocytes circulants et quantification de l'expression des marqueurs M1 et M2 en PCR quantitative. La différenciation était comparée entre les deux bras par un test exact de Fisher. Le nombre de marqueurs M1 et M2 significativement augmentés pour toute la cohorte était comparés par un test des rangs signés de Wilcoxon.

**Résultats :** Dans le bras de traitement par Telmisartan le taux de macrophages M2 était de 87,5% vs 75% dans le bras Losartan. Le profil de différenciation n'était pas différent entre les deux bras de traitement (RR = 1,44 IC [95% : 0,41 to 3,38],  $p = 0,99$ ). Le nombre de marqueurs M2 significativement exprimés était supérieur à celui des marqueurs M1 ( $p = 0,005$ ).

**Conclusion :** Ce travail montre l'absence de supériorité du Telmisartan sur le Losartan pour orienter la différenciation monocyttaire vers des macrophages M2 dans la néphropathie diabétique ainsi qu'une surexpression des marqueurs M2 par les macrophages de patients traités par bloqueurs du SRAA.



## IX. Serment d'Hippocrate

“Au moment d’être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d’être fidèle aux lois de l’honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J’interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l’humanité.

J’informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n’exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l’indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l’intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l’intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l’indépendance nécessaire à l’accomplissement de ma mission. Je n’entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J’apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu’à leurs familles dans l’adversité. Que les hommes et mes confrères m’accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j’y manque.”