



HAL
open science

Les microARNs : molécules innovantes dans la prise en charge de la maladie rénale chronique

Lucien Favroult

► **To cite this version:**

Lucien Favroult. Les microARNs : molécules innovantes dans la prise en charge de la maladie rénale chronique. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-03252144

HAL Id: dumas-03252144

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03252144>

Submitted on 7 Jun 2021

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.



THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée à l'UFR de Pharmacie de l'université de Picardie Jules Verne

Par

Lucien FAVROULT

Né le 04 Décembre 1991 à Amiens

Les microARNs : molécules innovantes dans la prise en charge de la maladie rénale chronique

Soutenue publiquement le 21 octobre 2019 à Amiens, devant le jury :

Président et directeur de thèse : Monsieur Laurent Metzinger, Professeur des Universités de l'Université de Picardie Jules Verne

Membre du jury : Madame Valérie Metzinger-Le Meuth, Maître de conférences de l'université de Paris 13

Membre du jury : Monsieur Julien Tilloloy, Docteur en Pharmacie

Thèse n°

Remerciements

À Monsieur Laurent Metzinger, Professeur à l'Université de Picardie Jules Verne, UFR de Pharmacie,

Merci d'avoir accepté de me guider en me proposant ce sujet de recherche d'avoir relu et corrigé ce travail, pour vos conseils et merci pour l'honneur que vous me faites de présider mon jury. Veuillez accepter l'expression de ma profonde reconnaissance.

À Madame Valérie Metzinger-Le Meuth, maitre de conférences de l'Université de Paris 13,

Pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse, je vous adresse mes plus sincères remerciements.

À Monsieur Julien Tilloloy, Docteur en Pharmacie,

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci pour ta disponibilité, ta présence et ta motivation. Merci de m'avoir soutenu dans la réalisation de cette thèse.

Je remercie également mes parents et mes amis pour leur soutien tout au long de ces études qui ont égayé toutes ces années par leur présence.

Enfin, je remercie toutes les personnes présentes lors de ma soutenance.

Sommaire

Liste des abréviations.....	6
Listes des figures.....	10
1 ^{ère} Partie : Les microARNs.....	12
I. Introduction.....	13
II. Biogénèse.....	14
1. Localisation des gènes à miARN.....	14
2. Biogénèse générale des microARNs.....	15
3. Mécanismes nucléaires de la synthèse des microARNs.....	16
3.1. Voie canonique : le microprocesseur.....	16
3.2. Voies non canoniques : voie des mirtrons.....	18
3.3. Transfert vers le cytoplasme.....	19
4. Mécanismes cytoplasmiques de la synthèse des microARNs.....	20
4.1. Introduction.	20
4.1.1. Dicer.....	20
4.1.2. Protéines argonautes.....	21
4.1.3. TRBP et PACT.....	21
4.2. Le complexe protéique.....	21
4.3. Appariement à l'ARNm cible.....	22
III. Mécanisme d'action des microARNs.....	23
1. Introduction.....	23
2. Répression de la traduction par les microARNs.....	24
2.1. Voie canonique : mécanisme coiffe-dépendant.....	24
2.2. Voies alternatives.....	25
2.3. Dégradation de l'ARNm dans les P-bodies.....	25
2.4. Conclusion.....	27
IV. La régulation de l'activité des microARN.....	27
1. Variations génétiques : SNP et mutations germinales dans les gènes de microARNs.....	27
1.1. SNP (single nucleotide polymorphism)	27
1.2. Mutations germinales.....	29
2. Pseudogènes et LncRNA.....	29
2.1. Pseudogènes.....	29
2.1.1. H19.....	29
2.1.2. Linc-MD1.....	30
2.1.3. PTEN.....	31

2 nd e Partie : La Maladie Rénale Chronique.....	32
1. Définition.....	33
2. Dépistage et diagnostic.....	33
3. Classification et Évaluation de l'IRC.....	37
3.1. Classification.....	37
3.2. Évaluation.....	38
4. Épidémiologie.....	38
4.1. Incidence et prévalence de l'IRC avant le stade terminal.....	38
4.2. Incidence et prévalence de l'IRC au stade terminal.....	39
5. Étiologies associées à la maladie rénale chronique.....	39
5.1. Diabète, hypertension artérielle et atteintes vasculaires.....	39
5.2. Les glomérulonéphrites primaires (ou primitives)	40
5.3. La polykystose rénale.....	40
5.4. La pyélonéphrite.....	41
5.5. Autres causes de l'IRC.....	41
6. La fibrose rénale : mécanismes et exemple de la fibrose rénale tubulo-interstitielle.....	42
6.1. Phase inflammatoire.....	43
6.2. Phase d'apparition des myofibroblastes.....	44
6.3. Phase d'accumulation de la matrice extracellulaire (MEC)	44
7. Facteurs de risques et facteurs aggravants.....	44
8. Complications de l'insuffisance rénale chronique.....	45
8.1. Les complications cardio-vasculaires de l'IRC.....	46
8.1.1. Hypertension artérielle.....	46
8.1.2. Atteintes cardiaques et vasculaires.....	46
8.2. Les troubles du métabolisme phosphocalcique.....	47
8.3. Les troubles hématologiques.....	48
8.4. Les troubles de l'équilibre acide-base.....	48
8.5. Les conséquences métaboliques.....	49
8.5.1. Hyperuricémie.....	49
8.5.2. Hyperkaliémie.....	49
8.5.3. Dyslipidémies.....	50
8.5.4. Dénutrition protéino-énergétique.....	50
8.5.5. Troubles sexuels et de la fertilité.....	51
9. Le traitement de la maladie rénale chronique.....	52
9.1. Les traitements médicamenteux étiologiques de la MRC.....	52
9.2. Les traitements de suppléance.....	53

3 ^{ème} Partie : Les microARNs dans la maladie rénale chronique.....	54
1. Introduction.....	55
2. Les microARNs antifibrotiques dans la MRC.....	55
2.1. La famille miARN let-7.....	55
2.2. La famille miARN-29.....	57
2.3. MiR-126.....	59
2.4. La famille miR-30.....	60
3. Les microARNs profibrotiques dans la MRC.....	63
3.1. MiR-21.....	63
3.2. MiR-214 et miR-119a.....	68
3.3. MiR-433.....	71
3.4. Famille miR-132 et miR-212.....	72
3.5. MiR-324-3p.....	72
4. Les microARNs avec des résultats contradictoires.....	73
4.1. La famille miR-192.	73
4.2. La famille miR-200.....	77
5. Autres microARNs impliqués dans la fibrose rénale.....	78
5.1. MiR-146a et miR-146b-5p.....	78
5.2. MiR-34.....	79
5.3. MiR-216a.....	79
5.4. MiR-382.....	79
5.5. MiR-503.....	80
6. Les nouvelles stratégies antifibrotiques potentielles utilisant les microARNs.....	81
6.1. Les oligonucleotides anti-miARN.....	82
6.2. Les mimiques de miARN.....	83
6.3. Autres techniques.....	84
6.4. Conclusion.....	84
Conclusion générale.....	85
Références.....	87

Liste des abréviations

α -SMA : alpha smooth muscle actine

3'UTR : 3'- untranslated transcribed region

AcSDKP : N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline

ADMA : diméthylarginine asymétrique

ADN : acide désoxyribonucléique

Ago : protéines argonautes

ANAES : agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé

ANP : aminonucléoside de la puromycine

ARAI : antagoniste du récepteur AT de l'angiotensine II

ARN : acide ribonucléique

ARNsb/ARNdb : acide ribonucléique simple brin/double brin

ARNm : acide ribonucléique messenger

ARNnc : acide ribonucléique non codant

ASE : agent stimulant de l'érythropoïèse

AVC : accident vasculaire cérébrale

AZIN1 : inhibiteur d'antizyme 1

BIC : B-cell integrated cluster

BCL-2 : B-cell lymphoma 2

BMP : bone morphogenetic protein

CACNG8 : calcium channel gamma submit 8

CAF1 : chromatin assembly factor 1

CCR4 : chemokine receptor type 4

CG : Cockcroft & Gault

CKD-EPI : chronic kidney disease epidemiology collaboration

Clcr : clairance de la créatinine

CRP : protéine C réactive

CTGF : connective tissue growth factor

DCL-1 : dicer-like 1

DDAH1 : diméthylarginine diméthylaminohydrolase 1

DFG(e) : débit de filtration glomérulaire (estimé)

DGCR8 : de George critical region 8

DIO3 : iodothyronine deiodinase 3

DLEU2 : deleted in lymphocytic leukemia 2

DLK-1 : delta like non-canonical notch ligand 1

DNM-3 : gène de la dynamin-3

DNMT3 : DNA methyl-transferase

DOM : départements d'outre-mer

DP : dialyse péritonéale

DPA : dialyse péritonéale automatisée

DPCA : dialyse péritonéale continue ambulatoire

E-cad : E-cadhérine
EGFL7 : epidermal growth factor-like domain containing protein 7
elf : eukaryotic initiation factor
EPO : érythropoïétine
ERK : extracellular signal-reduced kinase
EZH2 : enhancer of zeste homolog 2

FGF23 : fibroblast growth factor 23
FGFR : fibroblast growth factor receptor
FSH : hormone folliculo-stimulante
FTI : fibrose tubulo-interstitielle

HAS : haute autorité de santé
HDL : high density lipoprotein
HIF : hypoxia inducible factor
HK : human kidney
HNF : facteur nucléaire hépatocytaire
HOXA11 : homeobox protein
Hsp90 : heat-shock protein
HTA : hypertension artérielle
HVG : hypertrophie ventriculaire gauche

IDM : infarctus du myocarde
IEC : inhibiteurs de l'enzyme de conversion
IFN γ : interferon gamma
IgA : immunoglobuline A
IL : interleukine
IMC : indice de masse corporelle
IRAK1 : interleukin 1 receptor-associated kinase 1
IRC(T) : insuffisance rénale chronique (terminale)
IRES : internal ribosome entry site
IRS1 : insulin-receptor substrate 1

KCNN4 : potassium calcium-activated channel subfamily member 4
KDOQI : kidney disease outcomes quality initiative
KO : knock out

LDL : low density lipoprotein
let-7 : lethal-7
LH : hormone lutéinisante
Linc-MD1 : long interfering non protein coding RNA, muscle differentiation 1
LLC : leucémie lymphoïde chronique
lncARN : long non-coding ARN

MAML1 : mastermind-like 1
MAPK : mitogen-activated protein kinase
MCM7 : minichromosome maintenance complexe component 7

MDCK : madin-darby canine kidney
MDRD : modification of diet in renal disease
MEC : matrice extra-cellulaire
MEF2C : myocyte-specific enhancer factor 2
MHD : mesure hygiéno-diététique
miARN : microARN
MID : middle domain
MMP : metalloproteinase
MPC5 : mouse podocyte cell line 5
MRC : maladie rénale chronique
MRE : microRNA response element
MWF : munich wistar fromter

ND : néphropathie diabétique
NKF : national kidney foundation
NOMO1 : nodal modulator 1
NOS : oxyde nitrique synthase

OUU : obstruction urétérale unilatérale

PABP : poly(a) binding protein
PACT : protein activator of the interferon-induced protein kinase
PAD : pression artérielle diastolique
PAI-1 : plasminogene activator inhibitor 1
PAS : pression artérielle systolique
PAZ : piwi/argonaute/zwilli
P-bodies : processing bodies
pH : potentiel hydrogène
PI3K/Akt : Phosphoinositide 3-kinases/protéine kinase B
PKRAD : polykystose rénale autosomique dominante
PPAR α : recepteur activé par les proliférateurs des peroxysomes alpha
pTEC : proximal tubular epithelial cell
PTEN : phosphate and tensin homologue
PTENP : PTEN pseudogene
PTH : parathormone ou hormone thyroidienne

REIN : reseau épidémiologique et information en nephrologie
RCP : résumé caractéristique du produit
RISC : RNA-induced silencing complex
RNase : ribonuclease
ROS : espèces réactives de l'oxygène

SBE : small binding element
shARN : short hairpin ARN
siARN : small interfering ARN
SNP : single nucleotide polymorphism
Spry1 : homologue 1 de Sprouty

STZ : streptozotocine

TEM : transition épithélio-mésenchymateuse

TEndM : transition endothélio-mésenchymateuse

Tfe3 : facteur de transcription E3

TGF β : transforming growth factor beta

TIMP : tissue inhibitor of metalloprotease

TLR-4 : toll-like receptor 4

TNF α : tumor necrosis factor alpha

TNRC : trinucleotide repeat-containing gene

TRAF : tumor necrosis factor receptor associated factor

TRBP : transactivating response RNA-binding protein

TS : target site

Tsc22 : TGF β -stimulated clone 22

TTP : tristétraproline

VEGF : vascular endothelial growth factor

VGM : volume globulaire moyen

VLDL : very low density lipoprotein

WNK : with no lysine

WT : wild type

Zeb1/2 : Zinc finger E-box binding homeobox 1 & 2

Liste des figures

Figure 1. Localisation génomique et structure des gènes de miARNs

Figure 2 : Voie principale de la biogénèse et mécanisme d'action d'un microARN

Figure 3 : modèle de maturation du pri-miR

Figure 4 : Schéma d'épissage de l'intron

Figure 5 : Trois différentes voies de synthèse d'un microARN

Figure 6 : A) représentation de Dicer et ses domaines d'activités. B) représentation spatiale de Dicer en interaction avec un pré-miR

Figure 7 : représentations de la protéine argonaute 2 « Ago2 » chez les eucaryotes

Figure 8 : Régulation des ARNm cibles par les miARNs

Figure 9 : la régulation par les P-bodies

Figure 10 : représentation de SNP aux niveaux pri-miARN et pré-miARN

Figure 11 : Représentation schématique de Linc-MD1 et son mode d'action

Figure 12 : tableau des valeurs des dosages urinaire de protéine et d'albumine

Figure 13 : Classification HAS et KDOQI de la maladie rénale chronique par stades et de sévérité de l'IRC

Figure 14 : Les 3 étapes de la fibrose tubulo-interstitielle

Figure 15 : Représentation schématique des troubles du métabolisme phosphocalcique

Figure 16 : Les mécanismes de l'accumulation de collagène dans la pathogenèse de la néphropathie diabétique dépendant des familles Lin28b et Let-7.

Figure 17 : Résultat d'expérience de transfert de gène miR-29b évite la fibrose rénale chez un modèle murin de néphropathie (7^e jour).

Figure 18 : Mécanisme proposé pour les effets supposés d'une glycémie élevée sur la voie de signalisation médiée par miR-29c conduisant à la néphropathie diabétique

Figure 19 : Schéma non exhaustif des voies de signalisation et des fonctions cellulaires affectées par miR-126

Figure 20 : Tableau représentatifs des expressions au niveau sérique de miR-126 (A) et de miR-223 (B) de la cohorte de patients atteints de MRC selon les stades et de cas-témoins

Figure 21 : Schéma modifié des voies de signalisation de TGF- β 1 associé à certains microARNs profibrotiques menant la progression de la MRC

Figure 22 : Images microscopique et tableaux illustrant les résultats d'expériences d'injection d'anti-miR-21 sur des souris transgéniques Col4a3 -/-

Figure 23 : Le miR-214 contribue à l'hypertrophie des cellules mésangiales glomérulaires en ciblant directement le PTEN

Figure 24 : Représentation schématique des voies de signalisation miR-199a-5p / Klotho impliquées dans la fibrose et l'inflammation induites par l'HG dans les CMR

Figure 25 : Représentation schématique de microARNs (y compris miR-433) impliqués dans la signalisation TGF- β /Smad3 menant vers le processus fibrotique.

Figure 26 : Représentation schématique des mécanismes miARN-dépendants pour l'expression de MEC induit par le TGF- β dans la pathogénèse de la néphropathie diabétique

Figure 27 : Modèle proposé pour la régulation progressive de miR-192 dans les MC traitées au TGF- β

Figure 28 : Modifications de l'expression de miR-141 / 200a dans le rein dans le modèle de fibrose rénale induite par l'adénine

Figure 29 : Modèle schématique de la régulation à la hausse de la traduction de Tsc-22 par le TGF- β ou des conditions diabétiques

Figure 30 : modèle schématique d'activation du promoteur Col1a2 en réponse au TGF- β

Figure 31 : Modèle schématique des mécanismes impliquant les microARNs et la signalisation du TGF- β dans la fibrose rénale dépendante de TGF- β

Figure 32 : Illustration de stratégies d'administration pour le ciblage intra rénal de miARN

1^{ère} Partie :

Les microARNs

I. Introduction

La découverte des microARNs a eu lieu en 1993 suite à l'analyse d'un ver rond : *Caenorhabditis elegans*, en étudiant les gènes *lin-14* et *lin-4* et leurs rôles dans le développement larvaire. Des scientifiques mettent donc en évidence le gène *lin-4* codant une protéine *lin-4*. Celle-ci possède une séquence complémentaire de la région 3' non codante (3'UTR) de l'ARNm de *lin-14*. Ces chercheurs révèlent ainsi qu'une régulation négative de *lin-4* sur le gène *lin-14* assure le terme du développement larvaire [1][2]. Une autre équipe a montré que la répression par *lin-4* est post-transcriptionnelle et empêche la traduction de la protéine *lin-14* afin que le cycle larvaire se poursuive normalement. Ces microARNs étaient alors, à ce moment, identifiés comme « small temporal RNAs » d'après les effets observés sur le développement des stades du cycle larvaire [3]

Les travaux qui suivirent sur *C. elegans* ont également révélé que cet ARN particulier peut interagir avec plusieurs ARNm : l'ARN codé par *lin-4* interagit aussi avec le gène *lin-28* qui est également impliqué dans le cycle larvaire. [4] Un deuxième microARN est découvert et nommé *let-7*. Le microARN *Let-7* intervient à un autre moment du cycle larvaire. [5]

Cette découverte a servi de base pour des recherches postérieures. Des ARN de même structure ont été observés dans d'autres organismes : algues, plantes, virus, invertébrés et vertébrés [6-8] Ce n'est qu'en l'an 2001 qu'après avoir supposé que ces « small temporal RNA » avaient plusieurs fonctions et soient considérés comme un sous-type spécifique d'ARN non codants (ARNnc) qu'on les nommera « microARNs » [9]

Ils sont considérés ainsi car ils possèdent certaines caractéristiques propres, qui diffèrent des autres types d'ARNnc dont nous n'évoquons que les noms. Les microARNs sont des ARN simples brins et uniquement d'origine endogène au contraire des siARN (petit ARN interférant) et shARN (petit ARN en épingle à cheveux) qui eux sont doubles brins et peuvent être d'origine exogène en provenant de virus par exemple. [10] Une autre différence qui caractérise les microARNs sont leur capacité à s'apparier partiellement ou totalement sur leur cible alors que le siARN s'apparie toujours parfaitement. [11]

Les études portant sur cette nouvelle classe d'ARN continuent d'alimenter des bases de données répertoriant non seulement les microARNs découverts selon l'espèce concernée mais aussi leur fonction ainsi que leurs cibles notamment sur le site www.mirbase.org. [12] À la dernière mise à jour d'octobre 2018, le site en compte plus de 38 000.

La découverte de ces microARNs dans différentes espèces soulève la question de savoir quelles sont leurs fonctions et s'ils sont impliqués aussi bien dans des processus physiologiques comme celui décrit pour *C. elegans* que les processus pathologiques.

Pour reprendre cette idée, Calin et al. a établi un lien entre l'expression dérégulée des microARNs et le cancer [13]. Nous décrivons plus loin l'avancée actuelle de l'étude des microARNs impliqués dans la physiopathologie de la maladie rénale chronique.

II. Biogénèse

1. *Localisation des gènes à miARN*

On distingue les microARNs dits intergéniques dont l'expression dépend d'un promoteur qui leur est propre et les intragéniques, nécessitant un promoteur codant également d'autres types d'ARN. Ils se situent soit sur des régions codantes pour des protéines dites introniques ou bien sur des régions qui ne codent pas de protéines dits exoniques. Dans le génome humain, la répartition est approximativement équivalente entre les microARNs intra- et intergéniques [14]. Les loci des miARNs se situent autour de 40% au niveau d'introns et environ 10% au niveau d'exons que ce soit pour les unités intergéniques ou les unités intragénomiques. Les microARNs peuvent être classés en 4 classes selon leurs localisations dans le gène.

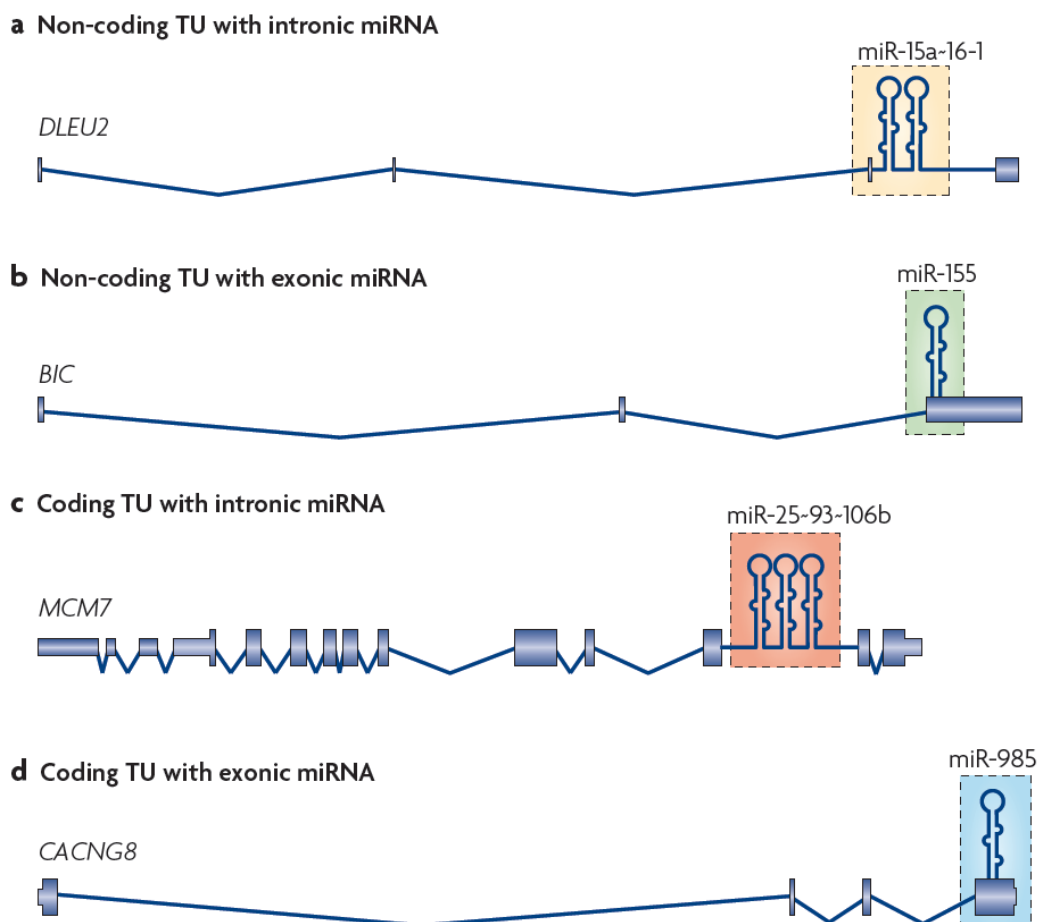


Figure 1. Localisation génomique et structure des gènes de miARNs : **a)** localisation dans l'intron de région non codante (40%) comme miR-15a-16-1 sur le gène DLEU2 (deleted in lymphocytic leukemia 2). **b)** localisation dans l'exon de région non codante (10%) comme miR-155 sur le gène BIC (B- cell Integrated Cluster). **c)** localisation dans l'intron d'une région codante (40%) comme miR-25- 93-106b sur le gène MCM7 (Minichromosome maintenance complexe component 7). **d)** localisation dans l'exon d'une région codante (10%) comme miR-985 sur le gène CACNG8 (Calcium channel gamma subunit 8).

2. Biogénèse générale des microARNs

Concernant la biogénèse des microARNs, la plupart sont initialement transcrits par l'ARN polymérase II en tant que miARN primaires appelés « pri-miARN » ayant une structure en tête d'épingle d'une longueur de 200 nucléotides. Ces pri-miARN sont ensuite coupés en « pré-miARN », d'une longueur de 60 – 70 nucléotides par une RNase nucléaire de classe III « Drosha » et son partenaire DGCR8. Le « pré-miARN » sort du noyau vers le cytoplasme par l'intermédiaire de la protéine d'exportation nucléaire Exportine 5. Une fois dans le cytoplasme, le pré-miARN se transforme en miARN mature double brin, long de 18 à 25 bases, via une autre enzyme RNase de classe III « Dicer » [15].

Cette biosynthèse en 2 étapes est retrouvée dans les modèles animaux et humains. Chez les plantes, l'ensemble du processus se fait dans le noyau avec une seule RNase de type III « DCL-1 » (Dicer-Like 1) [16].

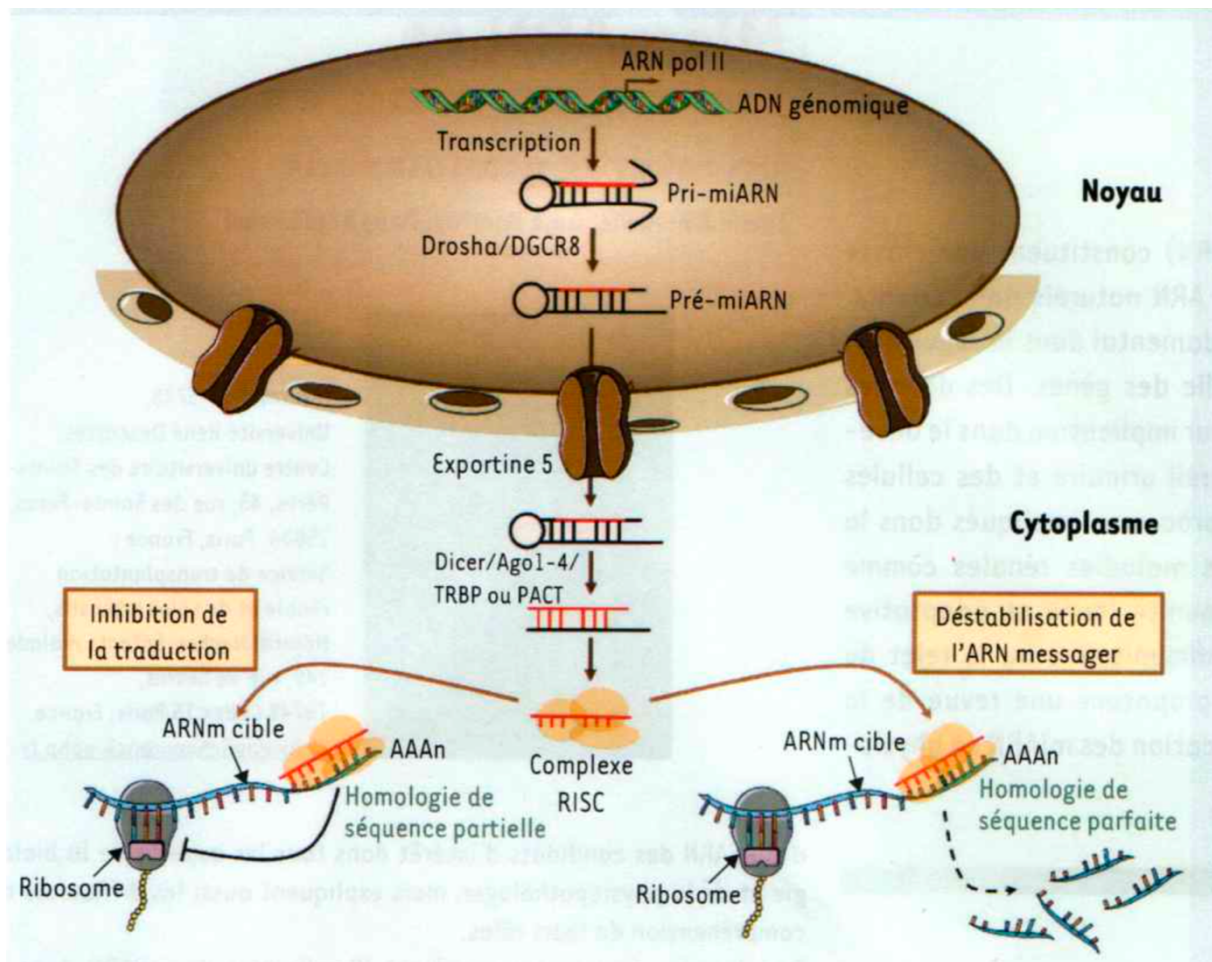


Figure 2 : Voie principale de la biogénèse et mécanisme d'action d'un microARN [6]

De manière générale, les microARNs inhibent la synthèse des protéines, soit par inhibition de la traduction, soit par dégradation de l'ARNm [17]. Ils sont en grande partie conservés au cours de l'évolution parmi les espèces et participent généralement à la régulation de divers processus cellulaires, notamment l'apoptose, la prolifération, l'hématopoïèse et

l'angiogenèse [18]. Les miARNs sont plus stables que les ARNm et sont présents dans différents fluides corporels tels que l'urine, ce qui suggère que les miARNs pourraient servir de biomarqueurs idéaux dans la maladie rénale chronique ainsi que d'autres domaines [19].

III. Mécanismes nucléaires de la synthèse des microARNs

1. *Voie canonique : le micro-processeur*

On entend par là, la voie principale de synthèse de microARN observée chez l'Homme qui se compose de 2 étapes :

- Étape de transcription du pri-miARN

La transcription des gènes de microARNs est relativement semblable à celle des gènes codant des protéines. Cette étape débute dans le noyau par l'action de l'ARN polymérase II sur le gène concerné pour former un pri-miARN (Figure 2). La littérature montre que parfois cette étape est réalisée par l'ARN polymérase III [20]. Les pri-miARNs sont de très longs transcrits allant jusqu'à plusieurs milliers de paires de bases et dans la moitié des cas, ces pri-miR sont dits « polycistroniques » c'est-à-dire que leur maturation est à l'origine de plusieurs microARNs matures [21] on parle alors de « cluster » pour désigner un ensemble de microARNs produits à partir d'un même pri-miR. (Figure 3). En reprenant maintenant la Figure 1, représentant différentes structures de pri-miARN, a), b) et c) sont des exemples de micro-ARN transcrits avec d'autres gènes car leur unité de transcription fonctionne avec les autres gènes.

- Étape de maturation en pré-miARN

Toujours au sein du noyau, le pri-miR est pris en charge par deux molécules : Drosha, une enzyme RNase de type III et une protéine DGCR8 pour « DiGeorge Syndrome Critical Region 8 ». Ces deux composants forment un complexe permettant la reconnaissance et le clivage du pri-miARN et pour donner un « pré-microARN », un transcrit de plus courte taille.

En ce qui concerne les caractéristiques de ces 2 acteurs clés pour la maturation du pri-miR ; Drosha possède 2 domaines RNase III (RIIIDa et RIIIDb) et un domaine de liaison à l'ARN double brin (=ARNdb) dans sa partie C-terminale [22]. DGCR8 possède 2 sites de liaison à l'ARNdb dans sa partie C-terminale [23]. Ces deux protéines interagissent ensemble pour former un dimère : le « microprocesseur » (Figure 3). Sans une action coordonnée, aucun des 2 ne peut mener à bien la maturation [24]. Yeom et al, ont étudié DGCR8 afin de connaître son mode d'appariement sur Drosha et ont montré que sa fixation se fait par sa région C-terminale. De plus, c'est cette région possédant les 2 domaines de liaison à l'ARNdb qui permet la liaison du microprocesseur au pri-miR. Han et al. ont prouvé que Drosha ne fixe pas l'ARN et intervient uniquement pendant la réaction catalytique [23][25]. DGCR8 détermine sa localisation nucléaire grâce à sa partie N-terminale.

Concrètement l'étape de maturation s'effectue en 2 temps : la reconnaissance du substrat et la réaction catalytique. D'abord, le microprocesseur se fixe sur le pri-miR en ne faisant

intervenir que DGCR8. Celui-ci reconnaît le substrat grâce à une séquence codée au niveau de la jonction ARNs_b-ARN_{db} (c'est-à-dire la base de la tige-boucle sur la figure 3) et interagit dans son ensemble avec 33 paires de bases. Drosha intervient pendant la réaction catalytique qui suit, clive le pri-miARN à une distance de 11 paires de bases depuis la jonction ARNs_b-ARN_{db} [26] Plus précisément, ce sont les 2 domaines RNase III de Drosha qui sont impliqués dans le clivage : RIIIDa s'occupe du brin 3' du pri-miR et RIIIDb, du brin 5'. Il en résulte le « pré-miARN » constitué de 55 à 70 nucléotides.

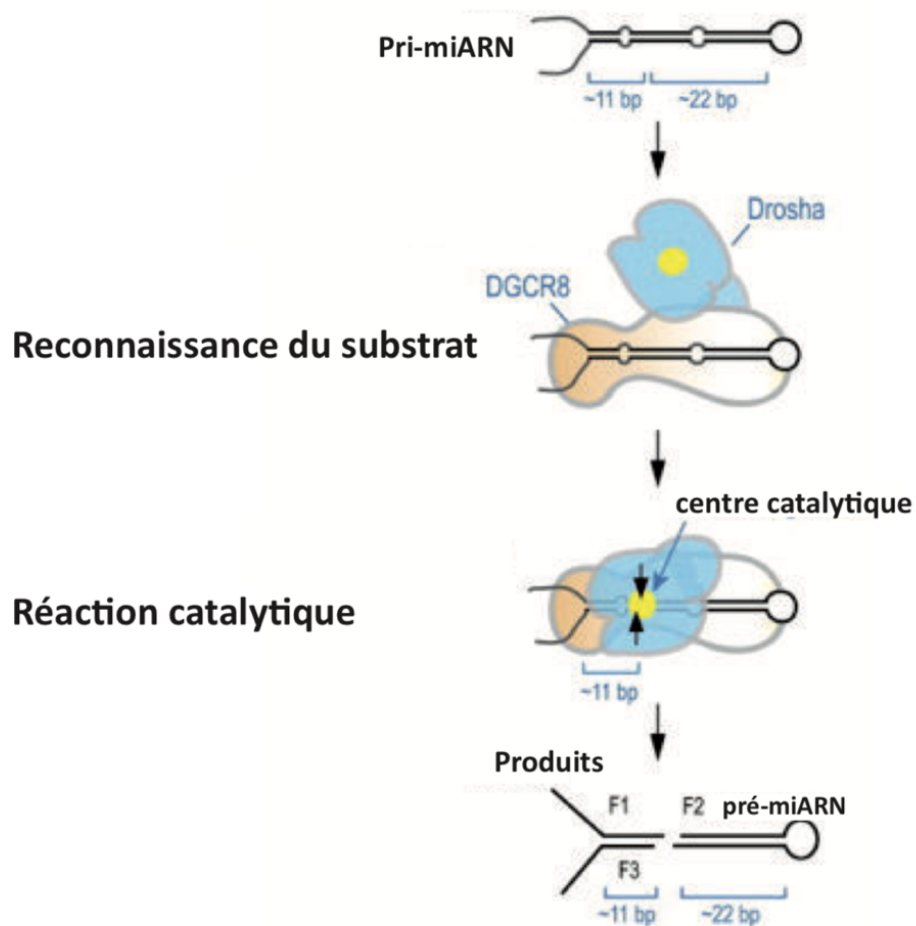


Figure 3 : modèle de maturation du pri-miR. Illustration traduite en français par Contrant M. [27] d'après Han J. et al. 2006 [28].

DGCR8 sert d'ancre moléculaire à Drosha en reconnaissant la jonction simple brin – double brin de l'ARN (au niveau de la tige de 33 nucléotides ou de la boucle terminale). Après l'interaction de DGCR8 avec le pri-miARN, Drosha s'associe au substrat par l'intermédiaire de DGCR8 et clive le pri-miARN en pré-miARN. Le centre catalytique en jaune réunit les deux domaines RNase III, et clive la tige à environ 11 nucléotides de la base et produit une extrémité sortante de 2 nucléotides en 3'.

2. Voies non canoniques : voie des mirtrons

La séquence spécifique du futur microARN est incluse dans un intron court. C'est un type de pri-miR/intron particulier nommé « mirtrons » [29][30]. La maturation ne se fait pas grâce à Drosha mais grâce à un tout autre intervenant : le spliceosome, qui permet l'épissage de l'intron pour former un précurseur en forme de lasso dans lequel une partie du brin 3' est lié à la partie terminale du brin 5' (Figure 4B). Après l'action d'un deuxième intervenant : le « lariat debranching enzyme », le précurseur en lasso prend alors la forme d'un pré-miARN qui peut alors rejoindre ceux issus de la voie principale pour la suite de la biogénèse.

Des travaux portant sur des modèles animaux mutants présentant une déficience dans la voie principale de synthèse de microARN, démontrent que la voie des mirtrons permet d'assurer la régulation des gènes car celle-ci est conservée et même exploitée davantage [31].

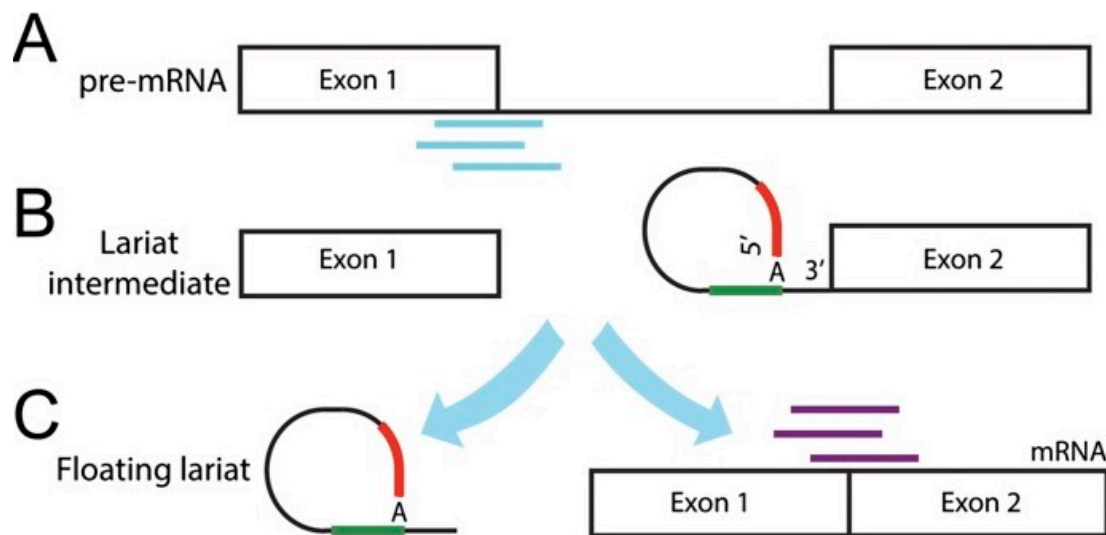


Figure 4 : Schéma d'épissage de l'intron [32]

Une troisième voie pour la production de miARN, la voie indépendante de Dicer, a récemment été identifiée chez le poisson zèbre et les mammifères [33]. Celle-ci diffère de la voie principale du fait que l'étape de maturation du pre-miR en microARN mature est médiée par la protéine Ago2 et non pas par l'enzyme Dicer. (Figure 5)

Ces voies alternatives indiquent que les cellules sont capables d'exploiter plusieurs mécanismes pour générer des microARNs et assurer la régulation des gènes.

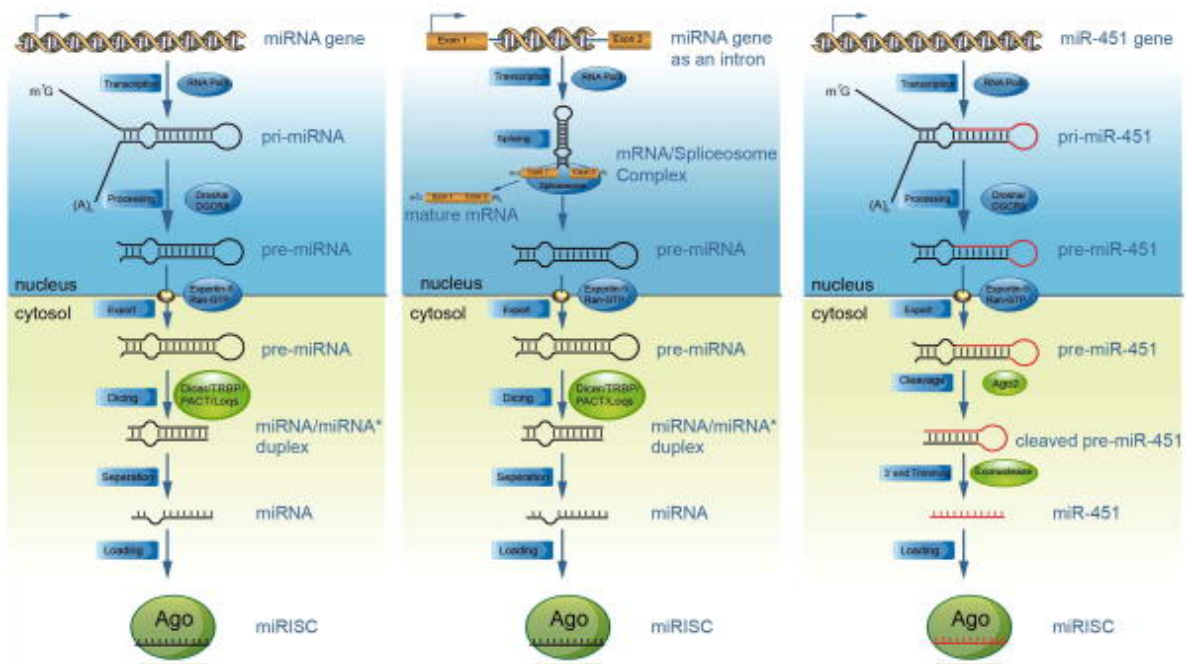


Figure 5 : Trois différentes voies de synthèse d'un microARN : À gauche, la voie principale ; au centre, la voie des mirtrons soit la voie indépendante du microprocesseur ; et à droite, la voie indépendante de Dicer [33].

3. Transfert vers le cytoplasme

Toutes les voies précédemment vues mènent à cette étape importante. Les pré-miR vont être transférés dans le cytoplasme pour subir d'autres étapes de maturation pour obtenir un microARN mature et fonctionnel. Le mécanisme est médié par l'Exportine-5, une protéine qui est un transporteur nucléaire [34-36].

Pour que le pré-miR soit pris en charge pour le transfert, l'exportine-5 se lie à un dimère RAN-GTP. Le RAN reconnaît la partie 3' terminale d'un pré-miR avec 2 nucléotides non appariés ainsi qu'une partie de la structure double brin [37]. Ensuite, le complexe Exportine-5/RAN-GTP/pré-miR rejoint le cytoplasme par les pores nucléaires et, en plus de sa fonction de transport, le complexe protège le transcrite des attaques de nucléases capables de le dégrader.

Cette étape se conclut par l'hydrolyse du RAN-GTP en RAN-GDP dans le cytoplasme permettant la dissociation du complexe et la libération du pré-miR [38].

IV. Mécanismes cytoplasmiques de la synthèse des microARNs

1. Introduction

Une fois dans le cytoplasme, les pré-miRs sont pris en charge par une autre enzyme RNase de type III : Dicer (Figure 6) ainsi que d'autres molécules qui vont interagir ensemble pour former un complexe protéique dans le but de libérer le micro-ARN mature et fonctionnel.

1.1. Dicer

Dicer est une enzyme essentielle pour le développement de l'organisme. Plusieurs études sur des modèles murins montrent qu'une déficience de Dicer entraîne la mort au stade embryonnaire [39]. Dicer dispose de plusieurs domaines : un domaine Helicase, un domaine PAZ (pour Piwi/Argonaute/Zwilli), deux domaines RNase III et un domaine de liaison à l'ARN double brin.

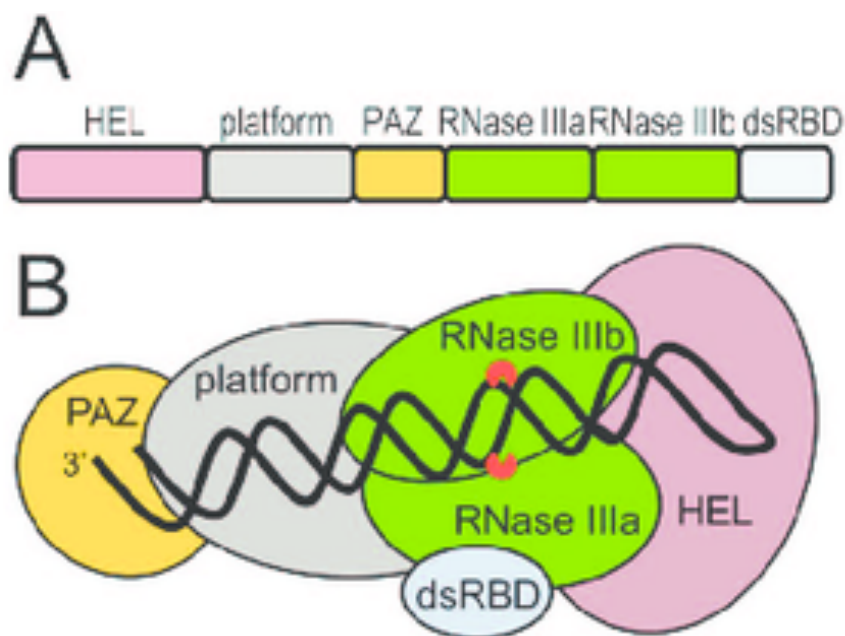


Figure 6 : A) représentation de Dicer et ses domaines d'activités. B) représentation spatiale de Dicer en interaction avec un pré-miR (Podolska, Sedlak et al. 2013) [40]

Le clivage du pré-miR est réalisé par Dicer en permettant l'hydrolyse de la structure en tête d'épingle et libère un petit ARN double brin que l'on nomme « duplex miARN : miARN* ». Ce duplex est constitué d'un miARN fonctionnel appelé aussi brin guide et d'un miARN dit brin passager qui se séparera du duplex et sera, le plus souvent, détruit. Toutefois, certains pré-miR peuvent, après maturation, donner des miARNs matures provenant des 2 brins notés miR-X-3' et miR-X-5' provenant respectivement du brin 3' et 5' ou bien miR-X et miR-X*. Ces miR-X* peuvent être fonctionnels [41].

Cependant, en règle générale, la sélection du brin guide au sein du duplex va dépendre de la stabilité thermodynamique des extrémités du duplex. Ainsi le brin le plus faiblement apparié à son extrémité 5' est majoritairement incorporé au complexe protéique [42]. On parle ici d'un complexe protéique car Dicer nécessite l'action de co-facteurs pour accomplir sa tâche. Chez la drosophile, Dicer est aidé d'une protéine chaperonne Hsp90 (Heat-shock protein) pour recevoir le duplex d'ARN [43].

2.1. Protéines argonautes

Chez l'Homme, il existe quatre types de protéines argonautes (Ago 1-4). Ceci dit, même si les 4 types sont susceptibles d'être sollicités dans cette étape, Ago2 semble être préférentiellement choisi par TRBP pour former le complexe protéique [44]. Ces protéines possèdent 3 domaines (Figure 7) : le domaine PAZ peut relier les 2 nucléotides non appariés du pré-miARN [45], le domaine MID permet l'interaction avec le groupement phosphate en 5' et le domaine PIWI possède une activité de RNase qui permet le clivage du miR passager mais aussi de l'ARN messager (ARNm) ciblé par le miR fonctionnel [46].

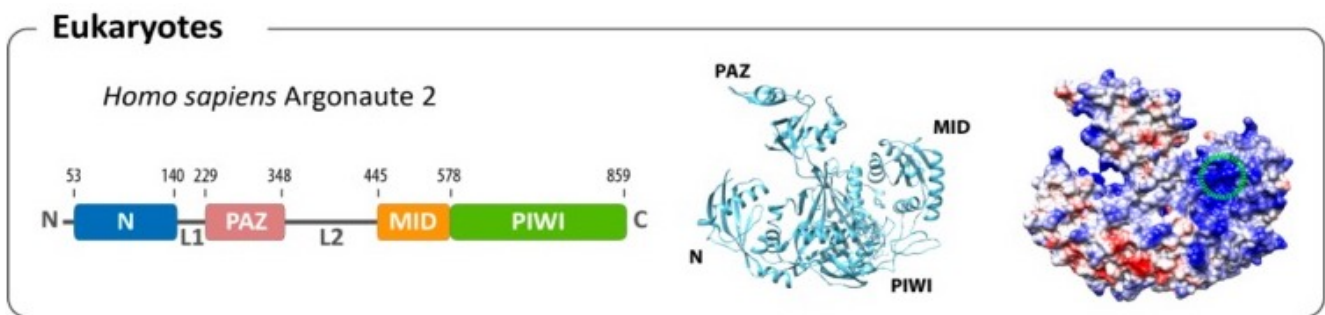


Figure 7 : représentations de la protéine argonaute 2 « Ago2 » chez les eucaryotes (Willkomm, Zander et al. 2015) [47]

3.1. TRBP et PACT

Dicer interagit aussi avec des protéines de liaison à l'ARN double brin : TRBP (transactivating response (TAR) RNA-binding protein) et /ou PACT (Protein ACTivator of the interferon-induced protein kinase). Ce sont deux protéines structurellement proches et qui agissent de concert pour faciliter la production de miARN. De plus, leurs fonctions augmentent la stabilité entre Dicer et son substrat [48].

2. Le complexe protéique

La formation du complexe commence avec la liaison entre Dicer et le pré-miR. Les protéines TRBP et Ago vont venir se greffer par la suite. PACT a également un rôle à jouer dans ce complexe [49]. Dans un premier temps, le domaine PAZ de Dicer sert de point d'ancrage au pré-miR en se reliant à ses 2 nucléotides non appariés situés sur le brin 3' (Figure 6B). Par la suite, la protéine Ago utilise ses domaines PIWI et MID pour interagir avec la région C-

terminale de Dicer (où se trouve les deux domaines RNase III et le site de liaison à l'ARN db)(figure 6A). Ensuite, la région N-terminale de la protéine Ago interagit, en association avec TRBP ou PACT, avec le domaine hélicase de Dicer. Ce complexe prend une forme triangulaire avec, en son centre, un canal où le pré-miR rentre pour y subir la réaction de clivage. [50]

En principe, le brin miARN mature se fixe au complexe multiprotéique appelé RISC (RNA-induced silencing complex) formé notamment de la RNase III Dicer et d'une endonucléase de la protéine argonaute (= le domaine PIWI de Ago). [51] Le miARN* se sépare alors du duplex et va généralement être dégradé. Le miARN mature associé avec RISC va permettre sa fixation sur son ARNm cible et ainsi réprimer l'expression post-transcriptionnelle de sa cible [52]. Le complexe RISC va être activé par la dissociation du duplex miARN : miARN*. Le miARN mature va servir de guide vers l'ARNm complémentaire menant ainsi le complexe à s'associer de manière spécifique à un ARNm cible.

3. Appariement à l'ARNm cible

L'appariement du complexe protéique activé et guidé par le miARN mature sur son ARNm cible est essentiel pour permettre une régulation spécifique de l'ARNm. Cette régulation étant, dans la majorité des cas, négative en agissant sur la traduction et/ou sur la dégradation de l'ARNm.

Cette spécificité est permise grâce à une certaine complémentarité entre la séquence dans l'ARNm cible appelée MRE (MicroRNA Response Element) et la séquence du miARN. Cette séquence MRE est le plus souvent située dans le brin 3' UTR de l'ARNm cible. [53]

Le miARN vient au contact de la partie 3' UTR de l'ARNm grâce à une séquence de nucléotides en 2 jusqu' 8, à partir du brin 5' du miARN. Cette séquence est nommée « séquence seed » et son rôle est déterminant pour l'activité du miARN. [54][55] Cette appariement peut être suffisant pour réprimer l'ARNm cible, cependant le degré de complémentarité entre le miARN et l'ARNm cible est corrélé au type de répression qui sera exercé. Le type de protéine argonaute est aussi une variante à prendre en compte dans le futur mécanisme d'action qui sera mis en place. Ainsi, Ago2 est le plus souvent retrouvé dans le complexe protéique quand on est devant un appariement parfait.

La séquence seed est assez courte et, de ce fait, un miARN peut réguler beaucoup d'ARNm différents. Les miARN possédant la même séquence seed sont regroupés en famille, par conséquent, chaque membre d'une famille d'un miARN peut réguler la même cible avec une inhibition renforcée de l'ARNm à la clé. D'autre part, un ARNm cible peut posséder plusieurs sites de liaison pour les miARN ce qui multiplie les possibilités de régulation par différents miARN. [56]

V. Mécanismes d'action des microARNs

1. Introduction

Un ARNm se caractérise en particulier par sa coiffe (7-méthylguanosine en position 5' terminale) et sa queue Poly(A). Ces deux éléments coopèrent pour promouvoir la traduction de l'ARNm.

La coiffe en 5' est reconnue par le facteur d'initiation de la traduction eIF4F (eukaryotic initiation factor 4F). eIF4F est un complexe protéique formé entre autres, par les facteurs eIF4E (liaison à la coiffe), eIF4G (échafaudage moléculaire permettant de recruter la petite sous-unité 40S du ribosome) et eIF4A (une ARN hélicase). La queue poly(A) est recouverte par une protéine spécifique, la PABP (poly(A) binding protein), qui elle-même interagit avec eIF4G ce qui conduit à une circularisation de l'ARNm (Figure 8, structure centrale).

Les miARNs régulent l'expression génique en agissant sur la traduction et/ou la dégradation des ARN messagers. Globalement, trois processus différents sont décrits : un clivage spécifique, une inhibition de la traduction (ou rarement une activation) et une dégradation de l'ARNm. Le mécanisme qui sera mis en place dépend de la complémentarité entre le miARN et l'ARNm.

- Si la complémentarité des bases est parfaite : le complexe miARN-RISC va dégrader la cible par clivage endonucléolytique via l'action de la protéine Ago2, il faut noter que ce cas de figure est très rare chez l'homme et est bien plus fréquent chez les plantes (Figure 8A).
- Si la complémentarité des bases est imparfaite : les mécanismes de régulation de l'ARNm appliqués sont soit, le blocage de la traduction de l'ARNm [57], soit une réaction de déadénylation suivie de la dégradation de l'ARNm. À noter que ces deux processus ne sont pas clairement identifiés comme étant reliés à l'autre ou exclusifs.

Il existe cependant quelques cas où les miARN activent la traduction de l'ARNm au lieu de la réprimer comme c'est le cas de mir-369-3 pouvant activer la traduction de TNF α (Tumor Necrosis Factor alpha) [58], ou le miR-10a. [59]

Il existe d'autres facteurs que l'appariement qui interviennent dans la reconnaissance par un miARN de sa cible et orientent sa fonction :

- Le nombre de sites de liaison d'un miARN sur un même transcrit, la distance entre ses différents sites, la distance par rapport à l'extrémité 3' UTR. [60]
- La structure de l'interaction miARN-ARNm : le nombre d'interaction, le type et la position des mésappariements [61] ainsi que l'accessibilité du miRNA sur le site cible. [62]
- Le promoteur utilisé pour la transcription de l'ARNm [63]
- La composition du complexe RISC (type de protéine Ago, type de protéines de liaison associés au complexe) peut également moduler l'effet du miARN sur la cible. [64]

2. Répression de la traduction par les microARNs

Certaines études montrent que le blocage de la traduction induite par les miARNs survient pendant l'étape d'initiation et d'autres études, au cours des étapes qui suivent l'initiation de la traduction.

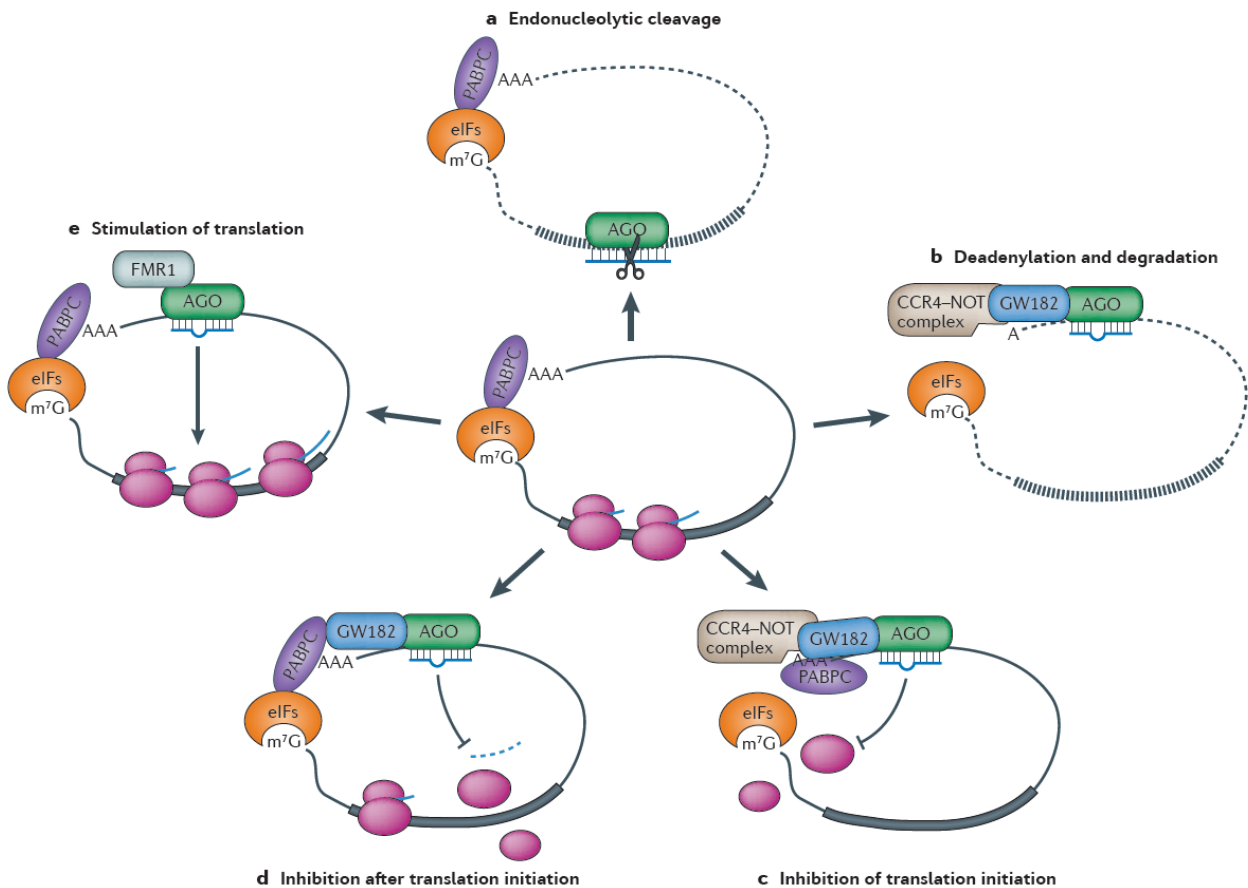


Figure 8 : Régulation des ARNm cibles par les miARNs

a. Clivage endonucléotidique de l'ARNm par AGO2. b. Déadénylation et dégradation de l'ARNm. c. Inhibition de l'initiation de la traduction. d. Inhibition de l'étape d'élongation. e. Activation de la traduction. La partie centrale représente la circularisation des ARNm. En rose, les ribosomes ; en orange, les complexes d'initiation eIF et en violet, les protéines de liaison à la queue poly(A) PABPC. (Pasquinelli 2012). [65]

2.1. Voie canonique : mécanisme coiffe-dépendant

L'initiation de la traduction à la coiffe commence par une dissociation des sous-unités ribosomiques, par liaison de chacune d'elle à des facteurs d'initiation eIF :

- eIF1A, 2 et 3 pour sous-unité 40S
- eIF6 pour sous-unité 60S

La sous-unité 40S, les facteurs d'initiations et l'ARN de transfert initiateur forment le complexe de pré-initiation. Il y'a un recrutement de ce complexe à la coiffe de l'ARNm grâce au complexe

de liaison à la coiffe eIF4F. Ce complexe d'initiation glisse le long de l'ARNm jusqu'au codon de départ. La sous-unité 60S vient se fixer, forme avec une sous-unité 40S le ribosome 80S et l'élongation commence. En reprenant les études affirmant que le blocage de la traduction se fait à l'étape d'initiation, la répression passerait par une reconnaissance de la coiffe.

Il faut noter qu'il existe des mécanismes d'initiation de la traduction dits « alternatifs » tels que l'entrée interne de ribosomes appelées IRES (Internal Ribosome Entry Site). Les ARNm traduits par une séquence IRES ou porteur d'une coiffe synthétique (non reconnue par le complexe d'initiation) sont indifférents à la répression de traduction exercée par les miARNs. [66][67]

Une hypothèse établie, à la suite des travaux de Kiriakidou [68] est que la protéine Ago2 est capable de se fixer spécifiquement à la coiffe et d'être en compétition avec eIF4E (c'est-à-dire l'unité permettant la liaison de la coiffe de l'ARNm au complexe d'initiation) et aussi d'inhiber la traduction. [69]

2.2. Voies alternatives

Les travaux de Chendrimada ont suggéré que la répression de la traduction pouvait être induite par un mécanisme différent de la coiffe par une inhibition du recrutement de la sous-unité 60S.

Le facteur eIF6, qui est impliqué dans la maturation de la sous-unité 60S et qui permet à la sous-unité 60S d'être libre et donc disponible pour un nouveau cycle de traduction, a été identifié comme faisant partie des facteurs associés au complexe RISC des miARNs. Il pourrait ainsi bloquer le recrutement de la sous-unité 60S sur des ARNm cible. [70]

D'autres travaux avancent l'hypothèse que l'inhibition de la traduction induite par les microARNs se fait après l'étape d'initiation comme le détachement des ribosomes pendant l'élongation. [71] Petersen et al., co-auteur de ce même travail, affirme aussi que la traduction d'un ARNm par un mécanisme IRES pouvait être réprimée par des miARNs. Cette affirmation semble être contradictoire à celle de Pillai, ainsi que celle d'Humphreys. [66][67] La dégradation des polypeptides naissants en croissance par des enzymes non identifiés est une autre théorie, émise après observation sur le miARN humain Let-7a. [72]

2.3. Dégradation de l'ARNm dans les P-bodies

Contrairement au mécanisme précédemment cité sur la complémentarité parfaite des bases mais néanmoins assez rare (Figure 8A), de nombreuses études ont montré qu'une régulation par les miARNs se manifestait plus fréquemment par une déstabilisation de la cible par complémentarité dite « imparfaite » (Figure 8B).

Une étude de Guo et al. a mis en évidence le caractère essentiel de ce mode de régulation en particulier car elle montre que la déstabilisation des ARNm cible, soit leur dégradation, constitue déjà la principale cause de la réduction de production de protéines. [73]

Des études montrent que la répression de nombreuses cibles de miARNs s'accompagne de leur déadénylation et de leur dégradation.[74] La déadénylation est la première étape de la dégradation des ARNm. Moléculairement, il s'agit d'une interaction entre les protéines Argonautes et les protéines GW182 (Glycine-tryptophan repeats containing proteins) également connues sous le nom de TNRC6A, TNRC6B et TNRC6C chez les vertébrés, qui permet le recrutement du complexe de déadénylation CAF1-CCR4-NOT et l'élimination de la queue poly(A). [75] La perte de la queue poly(A) sensibilise les ARNm : la coiffe est éliminée par le complexe DCP2 et ses partenaires, et les ARNm décoiffés sont finalement dégradés par XRN1, une exoribonucléase 5'-3'.

Tous ces éléments sont organisés dans le cytoplasme au sein de structures appelées P-bodies (Processing Bodies) ou GW-bodies. Ce sont des structures cytoplasmiques permettant le catabolisme et/ou le stockage temporaire des ARNm non traduits, qui pourront ensuite être restituées à la traduction active ou être dégradées (Figure 9). [76]

Il existe une corrélation entre l'inhibition de la traduction initiée par les microARNs et l'accumulation des ARNm cibles dans les P-Bodies. Il faut noter que les P-bodies ne sont pas indispensables à l'action des miARNs, cependant elles seraient la conséquence de l'inhibition de la traduction initiée par les miARNs.

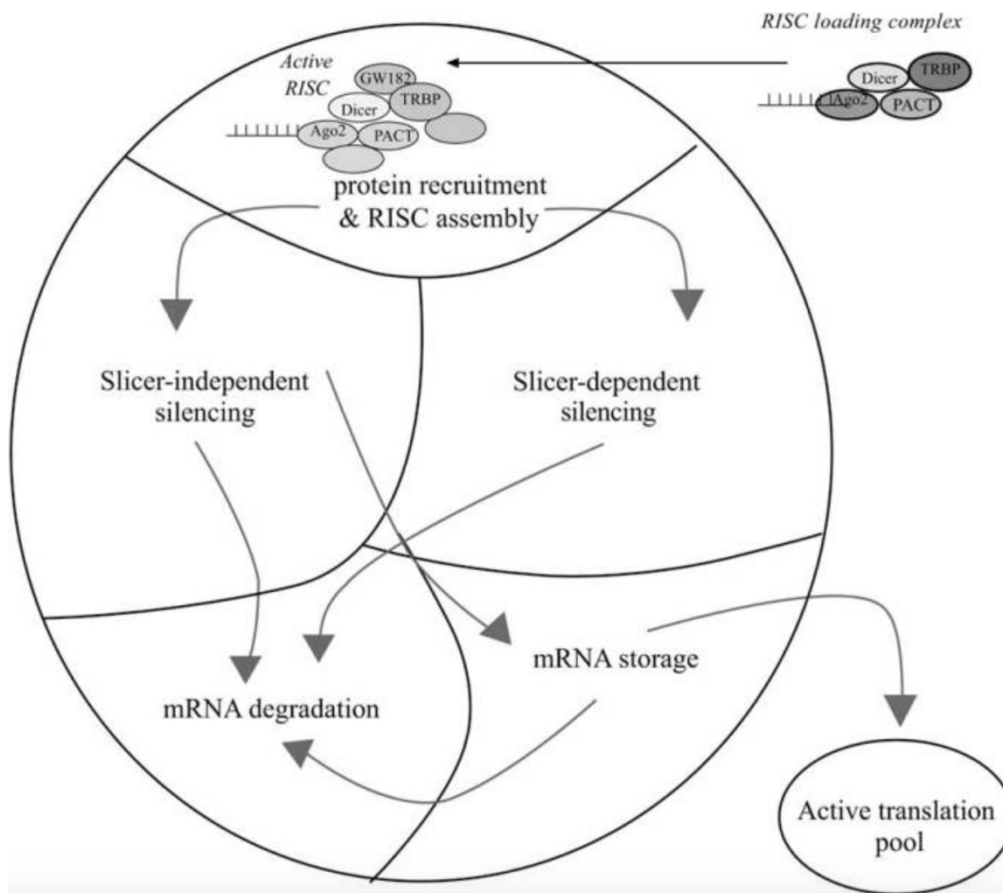


Figure 9 : la régulation par les P-bodies. Extrait de Macfarlane et Murphy 2010 [77]

2.4. Conclusion

Les microARNs, la plupart du temps, inhibent l'expression de leurs cibles par des mécanismes de répression ou par dégradation de l'ARNm. Ces différents procédés pourraient également être couplés : la dégradation des ARNm pourrait être la conséquence du blocage de la traduction ou inversement, la déadénylation pourrait entraîner une inhibition de la traduction. La mécanique exacte n'est pas complètement élucidée, ces processus pourraient être couplées ou bien exclusifs, il s'agit donc d'une piste de recherche à approfondir.

Nous avons abordé l'origine des miARNs, leur biogénèse et exposé les principaux mécanismes d'actions jusqu'à maintenant mis à jour de ces petits nucléotides. Il serait intéressant, à présent, d'étudier les processus de régulation de leur activité qui motivent les chercheurs à utiliser cette partie du génome, pour comprendre davantage la physiopathologie de certaines maladies et élaborer de nouveaux outils à visée diagnostique voire thérapeutique.

VI. La régulation de l'activité des microARNs.

1. Variations génétiques : SNP et mutations germinales dans les gènes de microARNs

1.1. SNP (single nucleotide polymorphism)

En règle générale, les variations de séquences dans les gènes de miARNs (matures ou précurseurs) ont un effet sur la biogénèse et/ou la fonction des miARNs matures [78]. Les SNP constituent la forme la plus abondante de variations génétiques dans le génome humain. Ils représentent 90% de toutes les différences entre les individus. Par définition, c'est un type de polymorphisme de l'ADN dans lequel une séquence donnée diffère par une seule paire de base et peut apparaître à n'importe quel niveau de l'ADN.

Les SNP peuvent être classés en 3 catégories :

- Un polymorphisme en cis ou trans du promoteur du gène à miARN, ou du gène dans lequel se trouve le pri-miR pouvant influencer sur les niveaux de transcription
- Une variation dans la séquence même du pri- ou pré-miR (miR-SNP), affectant la biogénèse du microARN mature
- Une variation dans la séquence du miARN mature (que ce soit dans la séquence seed ou dans la partie 3'), ayant des conséquences sur sa capacité à réguler une cible et/ou sa stabilité.

Il existe aussi une autre forme. Un polymorphisme affectant les parties 3' UTR des ARN messagers (miR-TS-SNP ; TS pour *Target Site*) et qui peuvent moduler le nombre de sites de fixation des miARNs.

En parallèle de la base de données en ligne des microARNs « miRBase », il existe un équivalent pour les SNP : la base de données « MirSNP » [79], consultable via cette adresse : <http://bioinfo.bjmu.edu.cn/mirsnp/search/>.

Le polymorphisme au niveau des gènes de miARNs n'est pas fréquent. Une étude de Saunders et al. a évalué la fréquence à laquelle les séquences de pré-miR étaient polymorphes (par rapport aux régions flanquantes en 5'-3' c'est-à-dire environ une centaine de nucléotides de part et d'autre du miARN). [80] Les résultats montrent que, sur 474 pré-miRs étudiés, 90% n'avaient aucun polymorphisme et que sur le restant, quasiment aucun pré-miR polymorphe n'a vu sa région seed touchée. Les auteurs ont conclu qu'il s'agit d'une forte pression de sélection négative qui s'exerce afin de limiter les conséquences délétères que pourrait avoir un changement dans la séquence des microARNs matures.

Une autre étude plus récente de Quach et al. séquençant 92 régions contenant des miARNs (soit 117 miRs matures) chez 91 individus, montre qu'une pression sélective, particulièrement au niveau du microARN mature, limitait le polymorphisme de ces gènes. [81]

Cependant, il y a des exemples qui montrent effectivement un polymorphisme (limité) au niveau des gènes à miARNs [78]. Les premières études fonctionnelles dans le domaine tendent à prouver que le polymorphisme n'a pas d'effet sur la biogénèse. Par exemple, celle de Diederichs et al. [82] met en évidence des SNP au niveau des gènes à miARNs, surtout au niveau du précurseur pri-miR, qui entraînent des changements structuraux visibles mais aucun effet sur l'expression des miARNs matures.

Par la suite, des études vont contredire ce dogme : Duan et al. identifie un SNP en position 8 sur miR-125a qui bloquerait la biogénèse de ce miARN, par blocage de la transition de pri-miR à pré-miR. [83]

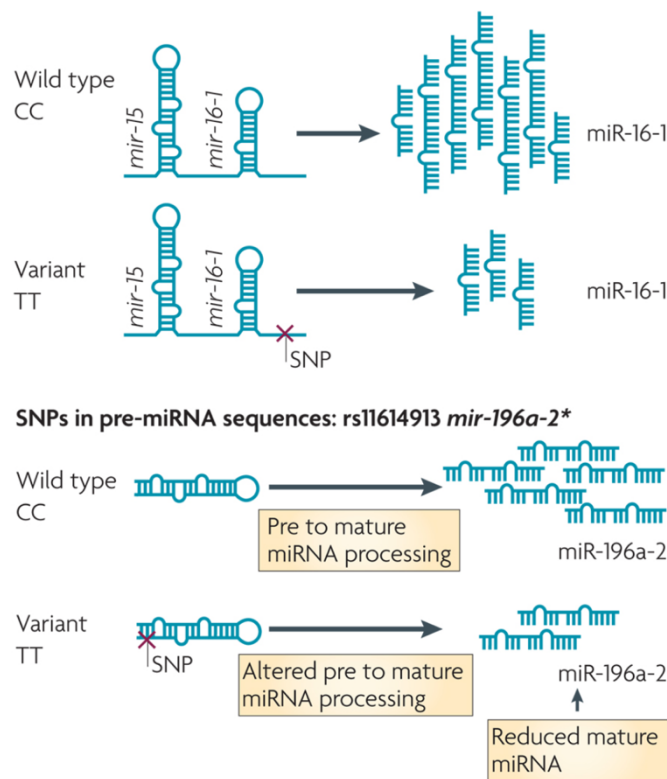


Figure 10 : représentation de SNP aux niveaux pri-miARN et pré-miARN. Extrait de Ryan et al. 2010 [78]

(Figure 10) : Les SNP se produisant à ces niveaux sont susceptibles de modifier le taux d'expression du miARN mature, en le régulant en générale à la baisse, comme le pre-miR-196-a2 polymorphe qui voit l'expression du miARN mature réduite.

L'intérêt de l'étude de ces polymorphismes au sein des gènes de miARNs est de pouvoir les associer à des pathologies humaines. Nous reprenons l'exemple de miR-196a. Hu et al., en étudiant un polymorphisme au niveau de ce microARN, ont observé qu'il était associé à un mauvais pronostic chez les patients homozygotes possédant ce SNP et atteints de cancer bronchique non à petites cellules. [84]

1.2. Mutations germinales

On parle de mutation germinale, quand la mutation porte sur l'ADN des cellules souches d'un gamète. Peu ont été identifiées dans les gènes à miARNs. L'exemple le plus connu et le plus important est celui des miR-16-1 et miR-15a (Figure 10). Cette mutation germinale se trouve également être une SNP.

Dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC), une délétion fréquente affecte le chromosome 13q13.4 dans lequel sont situés ces 2 miARNs suppresseurs de tumeurs (ils agissent sur BCL2 et répriment son action anti-apoptotique). Calin et al. [85] ont montré que la perte de l'expression de ces 2 miARNs serait également due à une mutation G → T au niveau de leur précurseur pri-miR et que l'on retrouve uniquement chez les patients atteints de LLC. Cette mutation génétique spécifique de cette pathologie nous oriente vers une piste de recherche à des fins médicaux. Utiliser les miARNs pour confirmer une pathologie serait une possibilité.

2. **Pseudogènes et LncRNA**

2.1. Pseudogènes

Les pseudogènes sont des segments d'ADN liés à de vrais gènes. Ils ont perdu au moins certaines fonctionnalités par rapport au gène complet notamment leur capacité à coder pour des protéines.[86] La perte de cette fonction est causée par une mutation ou une délétion. Ils sont, cependant, capable de remplir des fonctions de régulations grâce à l'expression de ARNs non codants.

2.1.1. *H19*

Gao et al. ont étudié le rôle du gène H19, codant pour le précurseur du miR-675, sur des placentas pré-éclampsique à apparition précoce.[87] L'inactivation du gène H19 ou l'inhibition du miR-675 favorisent la prolifération des cellules trophoblastiques humaines (*in vitro*). Le miR-675 peut directement réguler négativement l'expression de la protéine Nodal Modulator 1 (NOMO1) par liaison à sa séquence 3'UTR. La surexpression de cette protéine NOMO1 est à l'origine de la prolifération cellulaire et la phosphorylation de Smad2.

Après observation dans les placentas pré-éclampsiques à apparition précoce, on note que :

- Le taux d'expression du gène H19 et de miR-675 étaient plus faibles
- Le taux d'expression de NOMO1 était plus élevé que dans les placentas normaux

Les données assemblées suggèrent que le gène H19 pourrait inhiber la prolifération des cellules du trophoblaste humain via le codage de miR-675 qui ciblait NOMO1. La libération contrôlée de miR-675, à partir du gène H19, pourrait également permettre une inhibition rapide de la prolifération cellulaire en réponse à un stress cellulaire ou à des signaux oncogènes.[88]

Fait intéressant, il a été démontré que H19 sert de précurseur pour des miARN distincts mais il agit également comme un récepteur de miARN.[89] Un an plus tard, Kallen et al. ont constaté que chez le vertébré, H19 héberge des sites de liaison canoniques et un certain nombre de sites « non-canoniques » pour la famille de microARN Let-7, qui ont un rôle important dans le développement, le cancer et le métabolisme.

H19 module la disponibilité de Let-7 en agissant comme une éponge à miARN. [90][91] Cette « éponge » comporte des sites de liaisons non-canoniques ayant néanmoins une implication réelle dans la régulation génétique.

Dans cette étude, Kallen et al ont mis en évidence, in vitro, qu'un appauvrissement en H19 accélère la différenciation musculaire, à cause de la surexpression de Let-7. Les données assemblées confirment le rôle de H19 en tant que régulateur de taux d'expression de Let-7.

Dans la même période, Cesena et al. ont étudié un lncRNA spécifique au muscle, appelé Linc-MD1, régulant la différenciation des myofibroblastes en agissant comme une éponge pour miR-133 et miR-135. [90]

2.1.2. *Linc-MD1*

Il est retrouvé spécifiquement au niveau des muscles. Il agit comme un leurre pour miR-133 et miR-135, qui sont tous les deux concernés dans la différenciation musculaire et dans la myogénèse. Le miR-133 cible l'ARNm de MAML1 (mastermind-like1) en s'appareillant avec 2 sites de fixations et le miR-135 cible l'ARNm de MEF2C (myocyte-specific enhancer factor 2c) avec un seul site. (Figure 11)

MEF2C se lie au promoteur de gènes musculaires et régule de manière positive la différenciation musculaire. MAML1 a un rôle de co-activateur de cette transcription. Lorsqu'il y'a une diminution de Linc-MD1, l'expression de ses 2 cibles baisse, alors que lors d'une augmentation de l'expression de Linc-MD1, celle des 2 facteurs augmente aussi. Ce lncRNA a donc un rôle essentiel dans cette voie de différenciation.

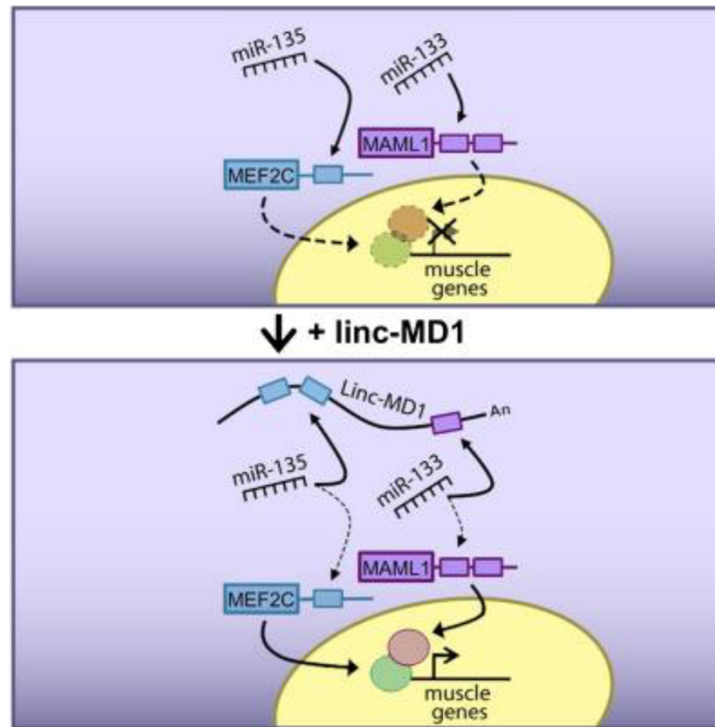


Figure 11 : Représentation schématique de Linc-MD1 et son mode d'action. Extrait de Cesana et al. [90]

2.1.3. PTEN

PTEN (Phosphatase and tensin homologue) est un gène suppresseur de tumeur. Il a pour fonction d'inhiber l'expression de la protéine PI3k, qui est responsable de l'activation du cycle cellulaire. Ce gène est réduit au silence dans plusieurs cancers. [92]

L'expression de PTEN est elle-même régulée par le pseudogène PTENP1 (PTEN pseudogene 1). L'expression de ce pseudogène conduit à la formation de 3 transcrits dont 2 antisens par rapport à PTEN : antisens α et β [93]. L'antisens α agit en fixant la chromatine et induit son remodelage en recrutant DNMT3 et EZH2 au niveau du promoteur de PTEN pour altérer son expression. L'antisens β a pour fonction de stabiliser le transcrit sens car il ne possède pas de queue poly-A. Le transcrit sens partage des éléments de réponses miARNs (MRE) en commun avec PTEN, ce dernier va pouvoir agir comme un leurre et adsorber les miARN ciblant PTEN, comme le miR-21 par exemple, en vue de leur dégradation.

2^{nde} Partie :
La Maladie Rénale
Chronique

1. Définition

La maladie rénale chronique (MRC) est définie, indépendamment de sa cause, par la présence pendant plus de trois mois de marqueurs d'atteinte rénale ou d'une baisse du débit de filtration glomérulaire estimé au-dessous de $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$. [94]

2. Dépistage et diagnostic

Le dépistage de la MRC concerne, en théorie, une population à risque, en médecine ambulatoire. Ce qui caractérise cette population particulière est la présence d'un ou de plusieurs facteurs de risques parmi les suivants : diabète, hypertension artérielle traitée ou non, âge > 60 ans, obésité (IMC >30), antécédents cardio-vasculaire, maladie auto-immune et affections urologiques ; pour ne citer que les principales. [94]

Les principaux marqueurs d'atteintes rénales actuels utilisés pour le dépistage et le diagnostic sont :

L'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFGe), réalisé à partir du dosage sanguin de la créatinine (un déchet métabolique normal produit par l'organisme). Elle permet d'apprécier la fonction rénale. Cette estimation est réalisée à partir de différentes équations, Modification of Diet in Renal Disease (MDRD), Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI)). La clairance de la créatinine se calcule grâce à l'équation de Cockcroft et Gault (CG). [94]

Le DFG peut être mesuré à partir de la clairance de marqueurs exogènes, tels que l'inuline (méthode de référence) ou l'iohexol. Cependant il s'agit de techniques lourdes qui ne sont pas utilisées en pratique courante, ni en situation de dépistage.

Les ratios albuminurie/créatininurie (A/C) et protéinurie/créatininurie (P/C) qui sont déterminés à partir d'un échantillon urinaire (bandelettes) ou bien **l'albuminurie et la protéinurie** sur un recueil des urines de 24 heures. Pour les patients diabétiques, on ne prend en compte que le ratio A/C, par conséquent, il est d'usage de pratiquer le dosage urinaire de l'albumine en première intention pour tous les patients. Le dosage de la protéinurie est cependant un marqueur intéressant pour les populations particulières (patients âgés, patients séropositifs, ...). À noter qu'il s'agit d'un moyen non invasif, facile à mettre en place, peu coûteux. (Figure 12)

Le diagnostic est confirmé par le médecin en répétant les tests du dépistage :

- Par la persistance d'une diminution du DFG (inférieur à $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) sur deux ou trois examens consécutifs positifs réalisés dans les trois mois et avec la même technique de dosage de la créatininémie, soit une méthode enzymatique ou un méthode colorimétrique basée sur la réaction de Jaffé.
- Ou par la persistance d'une albuminurie sur deux ou trois examens consécutifs positifs réalisés dans les trois mois.

En dehors du diagnostic fait suite à un dépistage positif d'une personne dit « à risque », le diagnostic peut être posé suite une situation urgente nécessitant une prise en charge spécialisée : une insuffisance rénale aigue, une tumeur, une hématurie, etc.

Bandelette	Dosage de la protéinurie		Dosage de l'albuminurie	
	P/C	Protéinurie/24 h [*]	A/C	Albuminurie/24 h ¹
Négative	NA	Négative < 500 mg/24 h	Négative < 3 mg/mmol (≈ 30 mg/g)	Négative < 30 mg/24 h
Traces			Positive 3 à 30 mg/mmol ² (≈ 30 à 300 mg/g ²)	Positive 30 à 300 mg/24 h ²
Positive ≥ 1+	Positive ≥ 50 mg/mmol (≈ 500 mg/g)	Positive ≥ 500 mg/24 h	> 30 mg/mmol ³ (≈ 300 mg/g)	> 300 mg/24 h ³
	Sévère ≥ 100 mg/mmol (≈ 1 g/g)	Sévère ≥ 1g/24 h	Sévère > 70 mg/mmol (≈ 700 mg/g)	Sévère > 700 mg/24 h

NA : non applicable

A/C : rapport albuminurie/créatininurie, dosage réalisé à partir d'échantillon urinaire

P/C : rapport protéinurie/créatininurie, dosage réalisé à partir d'échantillon urinaire

¹ Recueil des urines de 24 h : au temps T₀, vider sa vessie puis, à partir de ce moment-là, recueillir TOUTES les urines pendant 24 heures, jour et nuit, jusqu'à T₀ + 24 h où une dernière vidange de la vessie dans le flacon de recueil sera réalisée.

² Valeurs correspondant à une « microalbuminurie », significatives sur le plan clinique et en conséquence définies comme seuil de positivité chez le diabétique (Nice clinical guideline 73). Une valeur intermédiaire entre celle définie habituellement chez l'homme (2,5 mg/mmol ou 25 mg/g) et chez la femme (3,5 mg/mmol ou 30 mg/g) est proposée pour simplifier.

³ Valeurs correspondant à une albuminurie « clinique », significatives sur le plan clinique et en conséquence définies comme seuil de positivité de l'albuminurie chez le non-diabétique (Nice clinical guideline 73).

Figure 12 : tableau des valeurs des dosages urinaire de protéine et d'albumine. Extrait de l'Annexe 2 du guide HAS. [94]

Une protéinurie est dite « pathologique » quand l'excrétion urinaire de protéines est supérieure à 150mg/jour. [95] En dessous de cette limite, il s'agit d'une excrétion physiologique de protéines dans les urines.

L'albumine est une protéine hydrosoluble avec un poids moléculaire de 65 kilodaltons (kDa) fabriqué par le foie. En présence d'anomalie de la barrière de filtration ou de réabsorption tubulaire, une quantité plus importante d'albumine et de protéines est retrouvée dans les urines, il s'agit alors d'un état pathologique.

Une microalbuminurie pathologique est définie par une production urinaire d'albumine de 30 à 300 mg/jour et elle est spécifique d'une atteinte glomérulaire. Au-delà de 300mg/jour, on parle de macroalbuminurie. (Figure 12)

Une albuminurie de faible débit (c'est-à-dire un ratio A/C de 3 à 30 mg/mmol²) est considérée comme un marqueur de risque de maladie rénale chronique chez le patient diabétique de type 1 ou de type 2 [96] et comme marqueur indépendant de risque cardio-vasculaire chez le patient hypertendu.

En plus de ces marqueurs, il existe d'autres signes d'atteinte du rein qui affirment le caractère chronique de la maladie rénale s'ils sont observés pendant plus de trois mois : hématurie, leucocyturie, anomalie morphologique rénale.

En pratique clinique courante, la fonction rénale est évaluée à partir de la créatininémie à l'aide d'équations permettant d'estimer le DFG ou la clairance de la créatinine. Les principales équations sont celles de Cockcroft et Gault (CG), proposée en 1976, et celle issue de l'étude Modification of Diet in Renal Disease (MDRD), établie en 1999. Une autre équation est produite par Levey et al., en 2009, appelée CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). Nous rappelons que l'estimation du DFG est moins précise que la mesure du DFG par un marqueur exogène.

L'équation de Cockcroft et Gault

Cette formule estime la Clcr (en mL/min), très proche du DFG. Elle consiste à estimer l'excrétion urinaire de créatinine. Elle prend en compte les facteurs rénaux de variations de la créatininémie : le poids, l'âge et le sexe pour prédire la clairance de la créatinine (Clcr)

$$\text{Clairance créatinine} = (140 - \text{âge}) \times \text{Poids} \times K / \text{créatininémie} (\mu\text{mol/l})$$

K = 1,23 pour les hommes, K = 1,04 pour les femmes

Âge exprimé en années, Poids en Kg

La correction effectuée pour les femmes est basée sur le fait, qu'à poids égal la femme a en moyenne 15% de muscles en moins que l'homme.

La créatinine est le paramètre d'exploration rénale le plus utilisé. Cette substance, dite marqueur endogène est un produit de dégradation du métabolisme musculaire normal. Sa concentration sérique est donc très dépendante de la masse musculaire des individus.

Cette équation a été recommandée par l'ANAES (Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé) [94] en 2002 puisqu'elle a l'avantage d'être facile d'utilisation. Cependant il y a plusieurs limites : la première est son rapport avec la créatinine, celle-ci implique une surestimation du DFG chez les patients obèses, très maigres ou œdémateux et une sous-estimation pour les sujets âgés (>75 ans). Une étude démontre que la formule n'est pas exacte dès lors que la masse musculaire des sujets ne correspond pas à celle qu'ils devraient avoir pour leur sexe en fonction de leur âge et de leur poids [97]

Cependant l'adaptation posologique des médicaments se fait encore en fonction de la clairance calculée par l'équation de CG avec comme argument majeur que la clairance rénale de la créatinine est la donnée principale disponible dans la base de données du Vidal® et les RCP (Résumé caractéristique du Produit). Dans ce seul but, l'estimation de la clairance de la créatinine par la formule de CG est encore utilisée en attendant que l'adaptation des posologies en fonction du DFG par les équations MDRD et CKD-EPI soit possible.

Cette position peut paraître problématique au vu d'études qui ont montré que la posologie pouvait varier de plus de 20% selon la formule utilisée pour l'adaptation posologique. [98]

L'équation de MDRD

Cette équation a été élaborée à partir des données de l'étude de même nom (Modification of Diet in Renal Disease) dont l'objectif principale est d'évaluer l'impact de la restriction protéique et de la diminution de la tension artérielle sur l'évolution de l'insuffisance rénale chronique. Une étude de Klahr et al. [99] a permis d'établir en 1999 une nouvelle équation pour estimer le DFG à partir de la créatinine sérique.

$$DFG = 175 \times (\text{créatininémie } (\mu\text{mol/l}))^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203}$$

x 1,212 pour les sujets d'origine africaine, x 0,742 pour les femmes

En comparaison à l'équation de CG : l'équation MDRD ne prend pas en compte le poids du sujet (car insensible aux variations importantes de poids), elle est également plus fiable en cas d'insuffisance rénale sévère. Elle calcule un DFG normalisé en mL/min/1,73m².

Cependant, elle a pour limite de sous-estimer les DFG supérieurs à 60 mL/min/1,73m² soit les stades 1 et 2 de l'insuffisance rénale chronique dans la classification HAS. (Figure 13)

L'équation de CKD-EPI

En 2009, Levey propose une nouvelle formule qui augmenterait la précision de l'estimation du DFG pour les valeurs supérieures à 60 mL/min/1,73m². Un an plus tard, une étude comparative des différentes équations, menée par Levey et ses collaborateurs, propose même que l'équation CKD-EPI fournirait une estimation plus précise que l'équation MDRD pour les patients en stade 3A. [100]

Cette formule est actuellement la référence validée par la HAS pour l'évaluation de la fonction rénale. [94]

$$DFR = 141 \times \min(\text{Scr}/K, 1)^\alpha \times \max(\text{Scr}/K, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Age}}$$

x 1,159 pour les sujets d'origine africaine x 1,018 pour les femmes

Avec Scr : Créatininémie

K : 0,7 pour les femmes et 0,9 pour les hommes

α : - 0,329 pour les femmes et - 0,411 pour les hommes

min (Scr/K,1) : utiliser la valeur minimale entre Scr/K et 1

max (Scr/K, 1) : utiliser la valeur maximale entre Scr/K et 1

3. Classification et Évaluation de l'insuffisance rénale chronique

3.1. Classification

Les critères de diagnostic et de degré de sévérité sont fondés sur les classifications de l'insuffisance rénale chronique (IRC) adoptées en 2012 par la HAS (Haute Autorité de Santé) et en 2002 par le NKF/KDOQI (National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcomes Quality Initiative). (Figure13)

DFG (mL/mn/1,73m ²)	HAS 2012 (4)	NKF/KDOQI 2002 (5)
≥90	Stade 1: Maladie rénale chronique* avec DFG normal ou ↑	Stade 1: Atteinte rénale avec DFG normal ou ↑
60-89	Stade 2: Maladie rénale chronique* avec DFG légèrement diminué	Stade 2: Atteinte rénale avec légère ↓ du DFG
30-59	Stade 3A: (DFG entre 45-59): Insuffisance rénale chronique modérée Stade 3B: (DFG entre 30-44): Insuffisance rénale chronique modérée	Stade 3: Diminution modérée du DFG
15-29	Stade 4: Insuffisance rénale chronique sévère	Stade 4: Diminution sévère du DFG
< 15	Stade 5: Insuffisance rénale chronique terminale	Stade 5: Défaillance rénale

* - anomalies rénales biologiques et/ou histologiques et/ou morphologiques persistant pendant plus de trois mois

Figure 13 : Classification HAS et KDOQI de la maladie rénale chronique par stades et de sévérité de l'IRC. Extrait de Brel. 2015. [101]

Il y a 5 stades dans cette classification allant du stade 1, le plus faible état d'atteinte rénal, au stade 5, le plus sévère. Le stade 3 d'insuffisance rénale chronique modérée intègre 2 niveaux de sévérité : 3A et 3B. L'avis médical d'un néphrologue associé à celui du médecin traitant est recommandé à partir du stade 3B, soit dès que le DFG est inférieur à 44 ml/min/1,73m².

Fin 2009, le CKD Prognosis Consortium effectue une analyse de données provenant de plus de 40 études de cohorte sur la MRC au niveau mondial et il en ressort un accroissement du risque de mortalité et de la progression vers l'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT) lié à l'effet combiné du niveau d'albuminurie et de la diminution du DFG. Ces résultats incitent à tenir compte de l'albuminurie dans la classification des stades de l'IRC.

Un an plus tard, le Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) a proposé une nouvelle classification prenant en compte le paramètre de l'albuminurie [102] Cette nouvelle classification repose sur le DFG et le ratio A/C et met l'accent sur le diagnostic clinique. [103] L'HAS recommande de également de classer l'IRC selon la classification des KDIGO 2012.

3.2. Évaluation

L'évaluation du DFG permet l'exploration d'une des fonctions rénales, l'épuration. Le DFG est influencé par de nombreux facteurs dont les plus importants sont l'âge et le sexe. Plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer le DFG. Le principe de l'ensemble de ces méthodes repose sur la clairance rénale qui est une propriété physiologique du rein menant à l'épuration du volume plasmatique d'une substance donnée par unité de temps.

Un bon marqueur d'évaluation du DFG doit répondre à des critères spécifiques. Qu'il soit endogène ou exogène, le marqueur doit être de faible poids moléculaire, être entièrement filtré par le glomérule, non réabsorbé, non sécrété ou métabolisé au niveau tubulaire, non lié aux protéines plasmatiques et physiologiquement non toxique. [104]

La clairance rénale de l'inuline a été utilisée pendant longtemps comme technique de référence pour la mesure de la fonction rénale car elle remplissait les critères d'un bon marqueur. Plusieurs autres molécules exogènes comme l'iohexol, ou l'iode 125 sont également employées pour la mesure de la fonction rénale mais précédemment nous avons vu que ces méthodes n'étaient pas utilisées en pratique courante car elles sont onéreuses, invasives, et nécessitent une collecte d'urine de 24 heures.

Au quotidien, l'estimation du DFG a été développée à partir de différentes formules basées sur la créatinine vues précédemment. La créatinine est une molécule de bas poids moléculaire, filtrée par les glomérules. De plus, des études ont mis en évidence la corrélation entre la clairance de la créatinine et le DFG, et la créatinine sérique. [105] Cependant, la clairance de la créatinine est supérieure à celle du DFG parce qu'en plus d'être filtrée au niveau glomérulaire, la créatinine est aussi sécrétée par les cellules du tube proximal.

4. *Épidémiologie*

Les études épidémiologiques disponibles en population générale évaluent à 10% la prévalence des adultes présentant un ratio A/C urinaire supérieur à 3 mg/mmol ou un DFG inférieur à 60 ml/min/1,73m². Le nombre de personnes ayant une maladie rénale chronique en France peut donc être estimé à près de 3 millions.

4.1. Incidence et prévalence de l'IRC avant le stade terminal

En France, la prévalence globale de l'IRC non terminal est estimée entre 1,74 et 2,5 millions de personnes. Cette valeur s'explique par la pyramide des âges observée dans les pays industrialisés, avec plus de 10% de la population ayant plus de 60ans, et donc le risque de pathologie vasculaire qui se répercute sur les reins et pouvant aboutir à une IRC est grandissant.

Par ailleurs, la prévalence de l'IRC croît avec l'âge. À partir de 40 ans, on observe une diminution du DFG de 1 ml/min par an chez 60% des patients.

Le taux d'incidence rapporte le nombre de nouveaux cas d'une pathologie observée pendant une période donnée. Comme l'IRC reste pendant longtemps silencieuse, il est difficile d'établir son incidence avant le dernier stade de la maladie.

4.2. Incidence et prévalence de l'IRC au stade terminal

Le nombre de patients suivis pour une insuffisance rénale terminale (IRCT) en France est connu grâce au registre national REIN (Réseau Épidémiologique et Information en Néphrologie), qui a été mis en place progressivement à partir de 2002. Actuellement, selon les données issues du rapport du réseau REIN en 2016 : 84683 personnes sont au stade 5 dont plus de 11000 ont commencé un traitement de suppléance pour IRCT en France métropolitaine et départements d'Outremer, soit une incidence globale de 165 par millions d'habitant (pmh).

L'objectif de ce registre REIN est d'estimer la prévalence et l'incidence de l'IRCT et d'évaluer sa prise en charge par traitement de suppléance, dans le but d'adapter le système de soins. Il repose sur un enregistrement en continu d'informations sur l'ensemble des malades en traitement de suppléance pour une IRCT.

L'incidence est plus élevée chez les hommes (+91%) par rapport aux femmes, surtout en France métropolitaine. L'âge médian des patients à l'initiation du traitement de suppléance est de 70,7 ans, alors qu'elle est de 59,5 ans en Guyane. [106] L'incidence globale augmente fortement avec l'âge jusqu'à 75 ans. La greffe préemptive et la dialyse péritonéale représentent respectivement 4% et 10,1% des premiers traitements de l'IRCT chez l'ensemble des patients compris dans le registre. La dialyse péritonéale reste pratiquée en premier dans l'hexagone (hormis en Aquitaine et DOM)

Les néphropathies hypertensive et vasculaire (25%) et la néphropathie diabétique (23%) représentent environ la moitié des cas. Nous allons donc nous intéresser à ces étiologies associées à la MRC.

5. *Étiologies associées à la maladie rénale chronique*

5.1. Diabète, hypertension artérielle et atteintes vasculaires

L'IRC est secondaire à une hypertension artérielle dans un quart des cas et un autre quart à un diabète. Ces pathologies entraînent des lésions vasculaires qui altèrent la fonction rénale, elles endommagent les vaisseaux sanguins de petits calibres qui amènent le sang vers les cellules rénales, celles-ci étant chargées de l'élimination de l'eau et des déchets métaboliques. En cas de privation d'oxygène, ces cellules meurent et la fonction diminue ce qui réduit la capacité de filtration globale des reins.

Selon une étude en 2003, 10 ans après le début d'un diabète, un tiers des patients développeront une IRC dont 6% à un stade avancé. L'incidence de l'insuffisance rénale terminale liée au diabète augmente en raison de l'incidence du diabète et de l'allongement de la survie des patients due à l'amélioration de la prise en charge cardio-vasculaire [107].

L'atteinte rénale par l'hyperglycémie chronique (ou néphropathie diabétique) est une atteinte spécifique, portant sur les petits vaisseaux des glomérules rénaux. La première manifestation décelable de la néphropathie diabétique est une augmentation progressive de l'albuminurie : d'abord faible (micro-albuminurie) puis plus importante (protéinurie), avec une diminution croissante de la capacité du rein à filtrer (IRC).

À la différence des autres étiologies, celle-ci se distingue par d'éventuelles complications propres au diabète, notamment une rétinopathie diabétique qui est constante dans le diabète de type 1, et présente dans 75 % des cas dans le diabète de type 2 [107].

L'effet délétère sur la fonction rénale d'une pression artérielle élevée et le bénéfice d'un traitement antihypertenseur sont reconnus. D'une part, l'hypertension artérielle (HTA) est une cause potentielle d'IRC dans la mesure où elle est responsable d'environ 30% des cas d'IRCT. D'autre part, l'hypertension est une conséquence fréquente de l'IRC, environ 80% des patients souffrant d'une IRC présentent une HTA au cours de la progression de leur maladie rénale.

Les néphropathies vasculaires regroupent des maladies hétérogènes caractérisée par une atteinte des vaisseaux rénaux. Ces maladies impliquent les gros vaisseaux (obstruction des artères rénales) ou bien les plus petits (néphroangiosclérose) et l'HTA reste au premier plan en étant soit la cause soit la conséquence de la maladie rénale.

5.2. Les glomérulonéphrites primaires (ou primitives)

Auparavant considéré comme la cause principale d'IRC, aujourd'hui, elle ne concerne plus que 11% des patients en IRCT. Il s'agit le plus souvent d'une maladie inflammatoire auto-immune du glomérule. L'hématurie (sang dans les urines) et la protéinurie sont des signes caractéristiques des glomérulonéphrites.

Certains types de glomérulonéphrites sont relativement bénins, d'autres ont une évolution lentement progressive et sont souvent associés à une HTA et une IRC.

La réduction de la fonction rénale aboutit à une sollicitation plus importante des néphrons restants. Cela contribue à l'installation d'une hyperfiltration avec une hyperpression intra-glomérulaire. Cette dernière aboutit à la perte des néphrons restants et la progression de l'IRC.

5.3. La polykystose rénale

La polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD) est une maladie génétique héréditaire, caractérisée par de nombreux kystes au niveau des reins, responsable de 6% des cas d'IRCT. LA PKRAD est la maladie rénale héréditaire la plus fréquente. L'atteinte rénale est secondaire au développement de multiples kystes. Leur formation est due à une protéine impliquée dans la différenciation des cellules de l'épithélium tubulaire. Ces kystes peuvent être responsables de pesanteur lombaire particulièrement invalidante pour les patients.

Cette maladie se caractérise par une période de plusieurs décennies sans aucune anomalie clinique. Une hypertension artérielle apparaît vers 30 – 40 ans, puis survient une IRC sans protéinurie ni hématurie (contrairement à une glomérulonéphrite). Cependant ces signes cliniques peuvent survenir lors de complications rénales ultérieures. Une échographie abdominale montrant des reins aux contours déformés par les kystes permet le diagnostic, ainsi qu'éventuellement une localisation extra-rénale de kyste, au niveau hépatique notamment. [108] L'âge moyen de l'IRCT se situe entre 50 et 70 ans et la PKRAD est la cause de 8 à 10% des IRCT.

5.4. La pyélonéphrite

Les pyélonéphrites récidivantes (une cause infectieuse de néphropathie interstitielle chronique) sont à l'origine de 4% des IRCT, surtout chez la femme. Les néphropathies interstitielles chroniques regroupent une large variété de pathologies, caractérisées par un dysfonctionnement tubulaire et une évolution lente. Ces néphropathies résultent d'une atteinte prédominante du tissu conjonctif qui constitue la trame de soutien entre les néphrons.

La pyélonéphrite se manifeste souvent par des poussées fébriles à répétition dès l'enfance. La répétition dans le temps de ces épisodes entraîne au cours du temps la destruction des reins et peut évoluer vers une IRC.

Les signes qui permettent de diagnostiquer une néphropathie interstitielle chronique peuvent être :

- Des données de l'interrogatoire (antécédents d'infections urinaires à répétition, prises de médicaments)
- Des signes liés à la découverte d'une IRC ou d'une anomalie comme une microalbuminurie, hématurie microscopique, leucocyturie
- Une fréquente polyurie avec nycturie
- Une HTA d'apparition plus tardive que dans les autres néphropathies chroniques (vers les stades 4 ou 5 de l'IRC)

5.5. Autres causes de l'IRC

Le lupus érythémateux disséminé

C'est une maladie systémique, auto-immune, qui touche préférentiellement les femmes. Cette pathologie est la source d'auto-anticorps et de complexes immuns entraînant des lésions sur de multiples organes et tissus de l'organisme.

Les symptômes les plus fréquents sont des lésions cutanées au visage caractéristiques (dit « masque lupique »), des douleurs articulaires type polyarthrite et surtout un retentissement sur différents organes notamment les reins. [109]

Le syndrome d'Alport

C'est une maladie héréditaire se caractérisant par des anomalies de la composition biochimique de la membrane basale du glomérule entraînant un défaut de filtration. Elle résulte de mutations dans les gènes codant pour les chaînes de type alpha (α3, α4 ou α5) du collagène de type IV qui perturbent la fonction normale des membranes basales capillaires

dans les reins, yeux et oreille interne [110]. L'association de troubles auditifs, voire oculaire et d'IRC surtout chez le garçon, doit faire penser à cette maladie. L'IRC s'installe précocement entre 15 et 30 ans.

En conséquence, l'intégrité de la barrière de filtration glomérulaire est perturbée, entraînant des modifications hémodynamiques glomérulaires et par la suite, une fibrose glomérulaire et tubulo-interstitielle progressive avec inflammation sévère [111].

La gravité de la mutation du gène est associée à l'apparition plus ou moins rapide de la maladie et son évolution agressive [112].

Les néphropathies glomérulaires chroniques secondaires

Ce sont des néphropathies secondaires notamment à une maladie de système comme le lupus érythémateux disséminé, le purpura rhumatoïde, la maladie de Berger et d'autres causes plus rares comme une cirrhose voire le syndrome d'immunodéficience humaine.

Cliniquement, les signes d'appels les plus fréquents sont la protéinurie (l'importance est variable mais qui peut parfois dépasser 3 grammes par 24 heures), l'hématurie et l'HTA qui va s'aggraver au fur et à mesure de la progression de l'IRC.

Le purpura rhumatoïde et la maladie de Berger, à l'origine des néphropathies dite à Immunoglobuline A (IgA), ont en commun la présence de dépôts d'IgA dans le mésangium mais qui peuvent proliférer vers les zones endo- et extracapillaires, décelable grâce à un examen par immunofluorescence.

6. La fibrose rénale : mécanismes et exemple de la fibrose tubulo-interstitielle

Comme nous l'avons vu précédemment, les causes primitives des atteintes rénales peuvent être multiples. Cependant, quelle que soit l'atteinte initiale, la majorité des néphropathies évolue vers le développement d'une fibrose rénale. La fibrose est définie par une accumulation exagérée de matrice extracellulaire (MEC), elle peut se développer dans plusieurs organes (foie, poumons, cœur, rein) et sa présence est souvent associée à la perte de l'organe concerné [113] [114]. Nous allons ici aborder le cas de la fibrose rénale.

En règle générale, à la suite d'une lésion, le rein déclenche le processus de cicatrisation pour se régénérer. Ce processus est bien régulé, aboutit à la formation d'un tissu cicatriciel et permet le maintien structural et fonctionnel du tissu. La fibrose s'assimile à un phénomène de cicatrisation mal contrôlé. [115] En effet, lors de ce processus, malgré la résolution du stress initial le processus de cicatrisation se poursuit ce qui mène à une accumulation de MEC, à la formation de cicatrices fibreuses, à la déstructuration architecturale de l'organe et à la perte de la fonction rénale.

Il existe 3 grands types de fibrose rénale, dépendantes de l'étiologie de départ : la fibrose vasculaire, la fibrose glomérulaire (glomérulosclérose) et la fibrose tubulo-interstitielle (FTI). La majorité des pathologies rénales chroniques ont pour origine une atteinte du glomérule et sont donc associées à des lésions de glomérulosclérose. Cependant, la fibrose progresse ensuite le plus souvent vers le compartiment tubulo-interstitiel [116].

Nous allons brièvement présenter l'exemple de la FTI, afin de comprendre la physiopathologie de la fibrose rénale qui explique biologiquement la diminution de la capacité rénale.

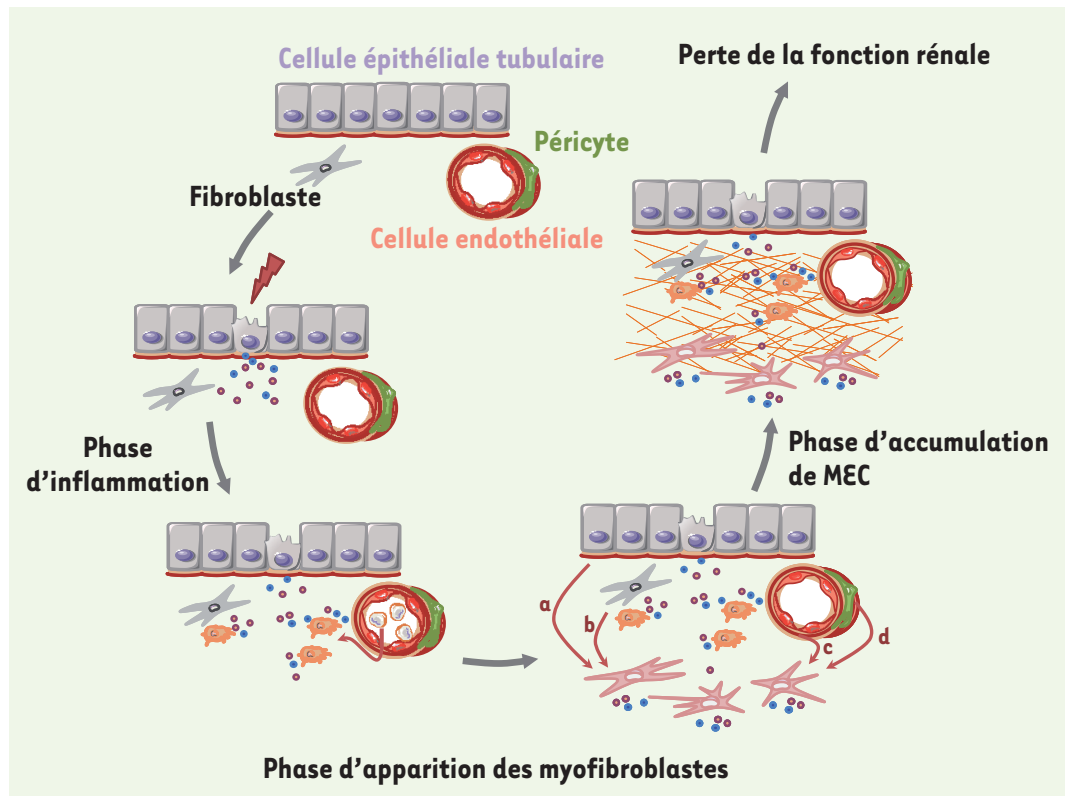


Figure 14 : Les 3 étapes de la fibrose tubulo-interstitielle. Extrait de l'article de Klein J. [117]

6.1. Phase inflammatoire

En réponse à l'atteinte initiale, les cellules rénales stressées produisent des cytokines inflammatoires et des chimiokines, induisant de ce fait une réponse inflammatoire chronique. Il s'ensuit une augmentation de l'expression des chimiokines et des molécules d'adhésion, associée à une infiltration massive de cellules inflammatoires[118][119] notamment des macrophages dont le degré d'infiltration est d'ailleurs considéré comme un facteur prédictif des néphropathies [120]. Il faut noter qu'il y a deux types de macrophages présents dans le tissu inflammatoire :

- **Macrophages de type M1**, naissent lorsque les monocytes sont activés par IFN γ (interféron γ) et le TNF α (tumor necrosis factor α), qui sont délétères, produisant des radicaux libres oxygénés et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires tels que TNF α et IL-1- β , contribuant à la progression de la fibrose
- **Macrophages de type M2**, naissent lorsque les monocytes sont activés par IL-4, IL-10 et IL-13 ou TGF β (transforming growth factor β), qui ont un effet protecteur. Même s'ils produisent le TGF β et de la MEC, ils ont comme fonction principale de réduire l'inflammation grâce à la sécrétion de cytokines anti-inflammatoire comme IL-10 et IL-6. [121][122]

6.2. Phase d'apparition des myofibroblastes

Les macrophages activés synthétisent de grandes quantités de TGF β et CTGF (connective tissue growth factor) soit deux cytokines qui peuvent stimuler la prolifération et l'activation des fibroblastes en myofibroblastes. [123] Des études récentes suggèrent que d'autres populations de cellules peuvent servir de réservoirs à myofibroblastes tels que les cellules épithéliales tubulaires des vaisseaux. Ces cellules, lors de la fibrose, peuvent potentiellement être changées par l'intermédiaire de processus appelés respectivement : **transition épithélio-mésenchymateuse (TEM)** et **transition endothélio-mésenchymateuse (TEndM)** selon les cellules concernées.

Les péricytes, cellules constitutives de la paroi des vaisseaux représenterait aussi un réservoir à myofibroblastes d'une grande capacité. (Figure 14)

6.3. Phase d'accumulation de la matrice extracellulaire (MEC)

La population réduite de cellules mésenchymateuse appelée fibroblastes, dont la fonction est le maintien architectural du tissu rénal devient donc une masse croissante de cellules différenciées appelées myofibroblastes, lors du processus inflammatoire.

Les myofibroblastes sont les cellules principales responsables de l'accumulation de la MEC car elles produisent de grandes quantités de **protéines matricielles (fibronectine, collagène de type I et III)**.

Parallèlement à cette accumulation, les myofibroblastes vont inhiber la dégradation des protéines matricielles en synthétisant des inhibiteurs de protéases tels que **PAI-1 (plasminogène activateur inhibiteur 1)** ou les **TIMP (tissue inhibitor of metalloprotease)**

Pour résumer les trois phases, lors de la fibrose, les cytokines profibrotiques synthétisées par les macrophages infiltrés et les cellules rénales lésées induisent l'activation et la différenciation de multiples types cellulaires, ces phénomènes convergeant tous vers l'apparition des myofibroblastes et l'accumulation de MEC. De plus, les myofibroblastes synthétisent eux-mêmes de grandes quantités de TGF- β et de CTGF, faisant ainsi basculer le processus dans un cercle vicieux à l'origine de la propagation et de l'aggravation des lésions.

Nous reverrons ultérieurement, dans la partie consacrée à la place des microARNs dans la prise en charge de la maladie rénale chronique, ces étapes plus en détails ainsi que les mécanismes de progression de la fibrose.

7. Facteurs de risques et facteurs aggravants

Le risque de présenter une IRC est favorisée par un ensemble de facteurs intervenant lors des différents stades évolutifs de la maladie rénale chronique. La connaissance de ces facteurs permet d'envisager de façon plus appropriée la prise en charge dès l'IRC. On distingue les facteurs de susceptibilité, d'initiation et de progression.

- **Les facteurs de susceptibilité**, qui augmentent la probabilité de développer une MRC : antécédents de néphropathies, faible poids de naissance, diminution de la masse rénale, âge élevé, médicaments néphrotoxiques, épisodes d'insuffisance rénale aiguës, expositions à des toxiques professionnels (plomb, mercure, cadmium), faible niveau socio-culturel.
- **Les facteurs d'initiation**, qui jouent un rôle direct dans l'initiation de la MRC. Ils diffèrent en fonction de la lésion primitive considérée : diabète, HTA, maladies auto-immunes, infections systémiques (lié aux néphropathies à IgA), infections urinaires (incluant les pyélonéphrites), calculs et obstructions, maladie héréditaire.
- **Les facteurs de progression**, qui sont susceptibles d'aggraver les dommages rénaux et d'accélérer la progression de la maladie. Ils sont modifiables par une prise en charge adaptée : protéinurie importante, pression artérielle élevée, glycémie élevée, dyslipidémie, production d'Angiotensine II élevée, régime riche en protéides, anémie, tabagisme, médicaments néphrotoxiques, grossesse.

L'hypertension artérielle et la protéinurie représentent 2 facteurs majeurs de la progression de l'insuffisance rénale chronique. L'HTA induit une hyperfiltration des néphrons résiduels ce qui entraîne leur destruction accélérée et l'évolution vers la glomérulosclérose. Elle peut également induire une insuffisance cardiaque par augmentation de la post-charge du ventricule gauche, dont les effets s'ajoutent à ceux de l'IR.

La protéinurie est favorisée par l'hyperfiltration des néphrons restants. La maîtrise de l'HTA et de la protéinurie sont les principaux moyens utilisés pour ralentir la progression de l'IRC quelque soit l'origine de la néphropathie.

8. Complications de l'insuffisance rénale chronique

Les reins ont une capacité de travail très supérieure aux besoins habituels du corps (ce qui explique que l'on peut vivre normalement avec un seul rein). Ils peuvent compenser une perte de fonction progressive. En conséquence, les symptômes de l'insuffisance rénale chronique apparaissent plusieurs années après le début de la maladie.

Les symptômes cliniques principaux de la MRC sont :

- Asthénie, anémie, altération de la qualité de vie
- Crampes musculaires, démangeaisons, insomnies
- Rétention hydro-sodée, urines foncées, hypertension artérielle
- Nausées, dénutrition et perte de poids, œdèmes [124]

Les signes biologiques sont les suivants :

- Toxicité urémique majeure (urée et créatinine sériques très élevées)
- Vitesse de dégradation du DFGe
- Troubles électrolytiques et acido-basique majeurs (hyperkaliémie dans les derniers stades, acidose, hyperphosphorémie, hypocalcémie)

Les symptômes évoqués, du fait de la période asymptomatique de la MRC, n'apparaissent que tardivement lorsque les reins sont déjà endommagés par la maladie. De ce fait, on considère ces symptômes comme une partie des complications de l'IRC. Ici, nous détaillerons brièvement les principales complications connues.

8.1. Les complications cardio-vasculaires de l'IRC

L'insuffisance rénale chronique contribue à une dégradation de la fonction cardiaque, à une hypertrophie cardiaque et à un risque plus élevé d'accidents cardio-vasculaire. La détérioration de la fonction rénale favorise l'altération du système cardiovasculaire et inversement, définissant le syndrome cardio-rénal

8.1.1. *Hypertension artérielle*

Selon les dernières recommandations KDIGO 2012, une hypertension artérielle (HTA) est définie chez les patients souffrant d'IRC par une pression artérielle systolique (PAS) supérieure à 130 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique (PAD) supérieure à 80 mmHg. La pathogénèse de l'HTA associé à la MRC est constituée de plusieurs désordres hémodynamiques qui interagissent entre eux. En résumé, l'hypertension et la perte de néphrons s'aggravent mutuellement.

L'HTA est associé également à l'augmentation du débit cardiaque, secondaire à l'anémie et à l'expansion du volume extracellulaire avec rétention hydro-sodée et pourrait également refléter le processus d'artériosclérose.

8.1.2. *Atteintes cardiaques et vasculaires*

L'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) est précoce dans l'IRC et sa physiologie est mixte. En effet, elle est secondaire aux perturbations hémodynamiques (augmentation de la post-charge liée à l'HTA) et fonctionnelles (anémie chronique, hyper volémie, ...)

L'HTA, de par sa fréquence, représente l'étiologie principale de l'HVG.

L'HVG, en dehors de toute insuffisance cardiaque, est un facteur de risque indépendant de mortalité cardio-vasculaire.

Les calcifications valvulaires et coronariennes

Le système vasculaire de l'insuffisant rénal chronique est dilaté, épaissi et rigide. Parallèlement, les troubles du métabolisme minéralo-calcique contribuent aussi à la calcification des vaisseaux, notamment coronaires. En conséquence, plus de 50% des décès sont liés à un accident vasculaire artériel : accident vasculaire cérébral (AVC), infarctus du myocarde (IDM), artériopathie des membres inférieurs.

La cardiotoxicité des toxines urémiques a montré qu'elle entraînait une augmentation de l'épaisseur de l'intima et de la média. Le remodelage généralisé de la média artérielle conduit à la rigidité de l'arbre vasculaire.

8.3. Les troubles hématologiques

Le patient atteint d'IRC développe fréquemment une anémie (hémoglobine inférieure à 12 g/dL chez la femme et inférieure à 13 g/dL chez l'homme) en raison d'une diminution de la production rénale d'érythropoïétine (EPO), hormone qui stimule la production de globules rouges dans la moelle osseuse. La carence en fer est la raison principale qui limite le fonctionnement de l'érythropoïèse. Les patients atteints de néphropathie chronique sont prédisposés à une carence en fer, en particulier les patients sous dialyse. [126]

D'une part, l'anémie entraîne une altération de la qualité de vie des patients liée à ses manifestations cliniques : l'asthénie, l'incapacité à faire des efforts, essoufflement, maux de tête, vertiges, pâleur de la peau.

D'autre part, elle entraîne une augmentation du débit cardiaque, une dilatation des cavités ventriculaires suivie d'une hypertrophie compensatrice, et finalement, un dysfonctionnement systolique avec insuffisance cardiaque.

L'origine rénale de l'anémie est affirmée par :

- l'absence de saignement en particulier gastro-intestinal ou gynécologique ;
- le caractère normochrome (concentration globulaire en hémoglobine normale), arégénératif (taux de réticulocytes bas) ;
- le caractère normocytaire (taille des globules rouges normale) ;
- l'absence de carence en folates et vitamine B12 (volume globulaire moyen (VGM) normale) ;
- l'absence d'inflammation chronique ou aiguë (protéine C réactive (CRP) normale)

8.4. Les troubles de l'équilibre acide base.

L'acidose est définie par une concentration artérielle plasmatique des protons (H⁺) supérieure à 43 nmol/L ou un pH (potentiel hydrogène) inférieur à 7,38. L'acidose est dite « métabolique » lorsque l'anomalie primitive désigne une concentration artérielle plasmatique de bicarbonate (HCO₃⁻) inférieure à 22 mmol/L. [127]

Chez le sujet sain, une alimentation normale et sa métabolisation génère une charge acide quotidienne équivalente à 50 à 100 nmol de protons, que l'organisme doit éliminer pour maintenir le pH du liquide extracellulaire à 7,4. Les reins éliminent cette charge en acidifiant l'urine à un pH habituellement compris entre 5 et 6. L'excrétion acide dans les urines est principalement réalisée sous forme d'ions ammonium.

Lorsque l'IRC est légère, la réduction du nombre de néphrons fonctionnels est compensée par une augmentation de l'excrétion des protons par néphrons pour maintenir un équilibre. Lorsque l'IRC progresse, le faible nombre de néphrons fonctionnels restants ne permet plus une capacité d'adaptation tubulaire suffisante.

L'excès de protons accumulés consomme des ions des bicarbonates dont la concentration s'abaisse et se stabilise généralement entre 12 et 20 mmol/L au stade 5 de l'IRC.

L'acidose métabolique chronique a pour conséquences :

- Une aggravation des lésions au niveau osseux ;
- Un catabolisme protéique musculaire excessif ;
- Une majoration du risque d'hyperkaliémie.

Les manifestations cliniques d'une acidose métabolique sont peu spécifiques : en cas d'acidose aigüe sévère on note une polypnée (hyperventilation compensatrice), une détresse respiratoire, et en cas d'acidose chronique, lithiases et néphrocalcinose, amyotrophie, retard de croissance, ostéomalacie.

Un dosage annuel des bicarbonates sériques est recommandé en cas d'IRC légère pour détecter l'acidose métabolique en stade précoce de l'IRC et débiter une correction médicamenteuse dès que le taux de bicarbonates descend en dessous de 22 mmol/L.

8.5. Les conséquences métaboliques

8.5.1. *Hyperuricémie*

L'hyperuricémie est un problème fréquent chez les patients souffrant d'IRC. Des travaux ont démontré une association entre le taux d'urates sanguins et une progression de l'IRC. La manifestation clinique de l'hyperuricémie la plus commune est appelé « goutte » : typiquement, l'apparition brutale d'une monoarthrite douloureuse aux membres inférieurs (particulièrement la 1^{ère} articulation métatarso-phalangienne). [128] L'association entre maladie rénale chronique, la goutte et l'hyperuricémie est courante. [129][130]

L'hyperuricémie, définie par un taux d'acide urique supérieur à 420 $\mu\text{mol/L}$ chez l'homme et à 360 $\mu\text{mol/L}$ chez la femme, présente des conséquences directes sur le rein et la fonction glomérulaire.

Cliniquement, la plupart des patients hyperuricémiques restent silencieuses et ne nécessitent pas d'être traités. Cependant, en cas de crises de goutte, l'hyperuricémie doit être prévenue et traitée

La prise en charge des crises de gouttes peut être différente en raison des précautions d'emploi ou de contre-indications médicamenteuses chez les personnes atteintes dont la fonction rénale est altérée.

8.5.2. *Hyperkaliémie*

La concentration extracellulaire en potassium est régulée par divers mécanismes et lorsque la fonction rénale est normale, l'excédent de potassium est facilement éliminé (90% du potassium est éliminé par voie rénale). Au cours de l'IRC, cette fonction du rein est déséquilibrée, dans ce cas la diminution de la capacité d'excrétion rénale se traduit par une hyperkaliémie.

L'Hyperkaliémie se définit par un taux sérique de potassium supérieur à 5,5 mmol/L. L'hyperkaliémie peut provoquer des problèmes cardiaques (arythmies ventriculaires) et neuromusculaires (faiblesse musculaire).

Une surveillance s'impose en particulier chez les patients atteints de troubles du rythme et/ou de la conduction cardiaque chez lesquels même une légère augmentation de la kaliémie peut provoquer des arythmies sévères. Le risque d'hyperkaliémie est majoré chez les diabétiques (hypoaldostéronisme) et chez les patients traités par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC), les antagonistes du récepteur AT-1 de l'angiotensine II (ARAI) et les diurétiques épargneurs de potassium (l'amiloride et la spironolactone). [131]

8.5.3. Dyslipidémies

Le développement précoce d'une artériosclérose est favorisé par de nombreux facteurs dont les anomalies lipidiques dès les stades précoces de l'IRC. L'anomalie la plus fréquente consiste en une hypertriglycémie modérée qui est retrouvée chez 30 à 70% des IRC. Elle est liée à un défaut d'épuration des triglycérides en rapport avec une baisse de l'activité des différentes lipases ? Une augmentation du cholestérol total et du LDL-cholestérol (Low Density Lipoprotein) est rarement observée en l'absence de syndrome néphrotique.

L'hypertriglycémie, définie par une concentration sérique des triglycérides supérieure à 1,70 mmol/L n'est pas athérogène en soi. Par contre, la baisse du taux d'HDL-cholestérol (High Density Lipoprotein) ainsi que sa dysfonction[132] et l'augmentation des béta-VLDL (Very Low Density Lipoprotein) qui lui sont fréquemment associés, sont des facteurs athérogènes qui augmentent fortement le risque cardiovasculaire des IRC. En effet, les lipoprotéines de faibles densité (LDL et VLDL), en raison de leurs capacités à infiltrer la paroi du vaisseau, peuvent se retrouver dans l'intima artériel et sont sensibles à l'oxydation. [133]

Cependant, tandis que le cholestérol dans la population générale est lié au risque de développer et de mourir d'une maladie cardiovasculaire, les données de la population IRC sont moins claires. En fait, on assiste au phénomène d'épidémiologie inverse, mis en évidence chez les patients en dialyse, avec des taux de cholestérol plus bas, associés à des taux de mortalité plus élevés. Une explication possible serait la malnutrition et le statut inflammatoire de cette population. [134] Il faut noter que cette tendance observée dans la population dialysée n'est pas transposable aux populations IRC des stades plus précoces de la maladie.

8.5.4. Dénutrition protéino-énergétique

Au cours de l'IRC, une dénutrition peut apparaître lorsque la filtration glomérulaire devient inférieure à 40 mL/min/1,73m². Cette dénutrition relève de différents mécanismes :

- Réduction spontanée d'apports protéiques et caloriques (due à l'anorexie), d'autant plus prononcée que la fonction rénale est altérée ;
- Altération du métabolisme des principaux nutriments ;
- Accumulation de toxines urémiques (acide indol-3-acétique, indoxyl sulfate) [135] ;
- Catabolisme protéique en augmentation lié à l'acidose métabolique (surcharge d'acides non volatils issus de l'alimentation dans les reins) ;
- Résistance à l'insuline ;

- Hyperparathyroïdie et résistance à l'effet anabolique de l'hormone de croissance dues aux pathologies infectieuses ou inflammatoires intercurrentes. [136]

Cette complication se manifeste cliniquement par une perte de masse maigre avec atrophie musculaire importante, une altération de l'état général avec faiblesse ce qui affecte grandement la qualité de vie du patient et augmente le risque de morbidité et de mortalité. [137]

8.5.5. Troubles sexuels et troubles de la fertilité

Dans la plupart des cas, les troubles sexuels sont observés chez les patients dialysés (hémodialyse ou dialyse péritonéale) mais apparaissent souvent avant le début de la dialyse. Cela peut se manifester cliniquement chez la femme par : des irrégularités menstruelles (trop fréquentes ou trop rares) voire absentes (aménorrhée), des cycles anovulatoires expliquant une stérilité ; chez l'homme par : des troubles érectiles (plus commun si un patient est âgé et/ou en cas de diabète associé) et une baisse de la qualité du sperme.

Des études ont montré que l'analyse du sperme chez les hommes atteint d'IRC révèle souvent un volume d'éjaculation faible, une faible numérotation des spermatozoïdes et une diminution de leur mobilité [138][139]

La détérioration de la fonction rénale peut également impliquer des perturbations de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique avec des taux accrus d'hormone lutéinisante (LH) et d'hormone folliculostimulante (FSH) et de diminution du taux de testostérone, induisant la diminution de la spermatogénèse chez les hommes [140] et des troubles ovulatoires chez les femmes.

Il est à noter que le facteur hormonal n'est pas la seule cause possible. Ces troubles peuvent aussi être dus à une comorbidité (maladie concomitante), des médicaments (bétabloquants) ou des problèmes psychologiques.

9. Le traitement de la maladie rénale chronique

9.1. Les traitements médicamenteux étiologiques de la MRC

À tous les stades de la maladie, l'information et l'éducation du patient sont essentiels et posent les bases de la prise en charge de la maladie rénale chronique. Cela permet d'inclure le patient lui-même dans le processus de soin et de réduire les risques d'échec thérapeutique (inobservance du traitement médicamenteux, non-respect des mesures hygiéno-diététiques, apports alimentaires en sodium et en protéines non contrôlés par exemple).

Il est à noter que tout au long de l'évolution de la maladie, le contrôle clinique, le contrôle régulier des marqueurs biologiques associés aux complications de la MRC s'impose afin d'optimiser la prise en charge médicamenteuse. La prise en charge psycho-sociale est également importante en particulier dans les stades avancés de la maladie.

En premier lieu, le contrôle de la pression artérielle et de l'albuminurie sont essentiels au traitement de la MRC pour réduire le risque cardio-vasculaire et ralentir la progression de l'insuffisance rénale [94].

En cas d'albuminurie et/ou d'hypertension artérielle, le traitement médicamenteux de première intention inclus les **inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)** (ou les **antagonistes du récepteur de l'angiotensine II (ARAII)** si intolérance aux IEC ou contre-indication) soit les inhibiteurs du système rénine-angiotensine afin de réduire la protéinurie. Sur le plan clinique, les IEC ou ARAII ralentissent le déclin du DFG de manière plus efficace que d'autres traitements antihypertenseurs [141][142] et leur effet anti-protéinurique est non seulement lié à une baisse de la pression capillaire mais aussi à une modification de la perméabilité de la membrane basale glomérulaire [143].

La population des patients « MRC » a un risque cardio-vasculaire élevé. Il faut par conséquent contrôler le taux de lipides (prescription de **statines** justifiée si dyslipidémie, en compléments des MHD), évaluer le risque thrombotique et, si besoin, fournir une aide au sevrage tabagique.

Le cas particulier de la néphropathie diabétique inclus donc le contrôle glycémique et le **traitement du diabète** du patient. L'hyperglycémie, avec l'hypertension artérielle et le tabac, constituent des facteurs aggravant la protéinurie et contribuent à dégrader la fonction rénale [94].

À partir du stade 3 (3B) soit lorsque que le DFG est inférieur à 60 (45) mL/min/1,73m² :

Il convient de renforcer les mesures initiales : contrôle glycémique (hypoglycémies plus fréquentes, hémoglobine glyquée perturbée), contrôle de la pression artérielle (hyperkaliémie) et traiter les complications :

- **Anémie** (recherche de carence martiale associée et autres déficits en folates et/ou vitamine B12). Un traitement par **agent stimulant de l'érythropoïèse (ASE)** avec une **supplémentation en fer** est justifiée dès que le taux hémoglobine est inférieur à 10 g/dL et/ou que la ferritinémie est inférieure à 100 µg/L. S'il y'a une résistance aux ASE, ou hémodialyse associée, la transfusion sanguine est une option thérapeutique.

- **Troubles du métabolisme phosphocalcique**
 - Carence en vitamine D, supplémentation en **vitamine D3**.
 - Hyperphosphorémie, en plus de la restriction protéique, on peut utiliser des sels de calcium (carbonate et acétate de calcium), carbonate de lanthane et carbonate de sevelamer soit des **chélateurs du phosphore** afin d'éviter l'ostéodystrophie rénale.
 - Hypocalcémie, utilisation de sels de calcium (**carbonate de calcium**)
 - Hyperparathyroïdie, après correction de la carence en vitamine D recours en deuxième intention aux sels de calcium, aux dérivés actifs de la vitamine D (calcifédiol [25-OH-D3], alfacalcidol [1 α -OH-D3] et calcitriol [1,25-(OH)₂-D3], calcimimétiques (patient dialysé), chirurgie parathyroïdienne.
- **Acidose métabolique**, correction par du **bicarbonate de sodium** par voie orale, voir par voie intraveineuse si acidose aigue sévère.
- **Hyperkaliémie**, arrêter les traitements hyperkaliémiants (IEC, ARA II, diurétiques épargneurs de potassium en première intention, si besoin, utilisation de chélateurs du potassium soit des **résines d'échanges d'ions**
- **Dénutrition**, après correction des MHD, l'utilisation de complémentation nutritionnels par voie orale ou par voie entérale/parentérale si incapacité de manger et la supplémentation en vitamines (vit D, B1, B2, B6, vit C, acide folique, vit E) sont justifiées.

9.2. Les traitements de suppléance

À partir du stade 4 soit lorsque le DFG est inférieur à 30 mL/min/1,73m² : Avec l'avis d'un spécialiste en néphrologie, les traitements de suppléance sont envisagés, 1 an avant la date anticipée. Les traitements de suppléance sont :

- La transplantation, envisageable au stade 5 de la MRC
- La dialyse péritonéale, moins utilisé que l'hémodialyse en France (<10% des patients)
- L'hémodialyse

La **transplantation**, quand elle est possible, est le meilleur traitement. La transplantation sans dialyse préalable est préférable (greffe préemptive)[94]. Deux possibilités existent :

- Greffon prélevé sur un donneur en état de mort cérébrale (problème de disponibilité)
- Greffon chez un donneur vivant (problème d'information des patients et de leur famille, ainsi que des proches)

La dialyse est indiquée lorsque le DFG est inférieure à 10 mL/min/1,73m² ou quand apparaissent les premières manifestations cliniques d'insuffisance rénale terminale. La **dialyse péritonéale (DP)** est ambulatoire et réalisée quotidiennement : en journée, c'est la DP continue ambulatoire (DPCA) ; la nuit, c'est la DP automatisée (DPA). Quant aux séances d'**hémodialyse**, celles-ci sont réalisées en centre de dialyse en environnement contrôlé, ou hors centre voir à domicile : le patient reçoit une formation pour les effectuer seul ou accompagné d'un membre proche ou de personnel médical.

3^{ème} Partie : Les microARNs dans la maladie rénale chronique

Dans cette dernière partie, après avoir présenté les microARN et la maladie rénale chronique de manière générale, nous allons voir plus en détails l'impact que les miARN ont sur la maladie rénale chronique. En passant en revue les publications à ce sujet, nous verrons où en est la recherche scientifique dans l'implication des principaux microARN anti- et pro-fibrotiques, le diagnostic et principalement la recherche de solutions thérapeutiques pour traiter la maladie rénale chronique.

1. Introduction

Les analyses des profils d'expression de miARN ont permis d'identifier un panel de miARN, dont miR-215, miR-146a et miR-886, ainsi que d'autres miARN (miR-192, miR-194, miR-21, miR-200a, miR-204 et la famille let-7(a à g) dont l'expression est enrichie dans le rein par rapport aux autres organes.[145] En comparant les niveaux de miARN des reins normaux par rapport aux reins fibreux, Gomez et al.[146] ont identifiés 21 miARN régulés à la hausse et 3 régulés à la baisse.

La signature des miARN régulés positivement incluait plusieurs facteurs associés à la survie cellulaire dans divers cancers, dont miR-15,-21,-200 et -451. Lors de la comparaison des résultats obtenus avec des modèles de MRC humains et des modèles murins de lésion rénale avec fibrose due à une obstruction urétérale unilatérale ou à une lésion ischémique, il a été constaté que 24 miARN étaient régulés en commun. Ceux-ci incluent : let-7i, miR-15b, -21,-25,-132,-199 et -214, ce qui suggère que ces miARN pourraient jouer un rôle dans la régulation du processus de la maladie.

2. Les microARNs anti-fibrotiques dans la MRC

2.1. La famille miARN let-7

Lethal-7 (let-7), l'un des premiers miARN découverts, a été impliqué dans le cancer et la pluripotence [147][148]. Let-7 et les membres de sa famille sont hautement conservés d'une espèce à l'autre et ont un rôle essentiel dans la régulation de la reprogrammation cellulaire [148]. Chez la souris, 12 gènes codent pour des membres de la famille let-7, qui correspond à neuf miARN : let-7a, let-7c, let-7f (codés par deux gènes) et let-7b, let-7d, let-7e, let-7g, let-7i et miR-98 (tous codés par un seul gène) [147]

Les membres de la famille Let-7 agissent comme des régulateurs négatifs des processus profibrotiques dans plusieurs états pathologiques, y compris la fibrose rénale[149][150]. L'inhibition de let-7b dans les cellules épithéliales tubulaires proximales de rat augmenterait l'expression du récepteur 1 de TGF- β 1 (TGF- β R1) et imiterait certains des effets profibrotiques de TGF- β 1 [151]. Park et al.[150] ont découvert que les miARN de la famille let-7 ciblaient les produits géniques tels que le collagène de type 1- α 2 et le collagène de type 4- α 1 (Col1a2 et Col4a1) de la matrice extracellulaire de la voie de signalisation du TGF- β dans les cellules mésangiales de souris, et que la famille let-7 modulait négativement l'accumulation de la matrice extracellulaire en régulant plusieurs acteurs dans la voie en partant du récepteur jusqu'au produit final du gène.

Inversement, le régulateur négatif de la biogénèse des microARN let-7, **lin28b**, a été régulé à la hausse par TGF- β . **Lin28** agit comme un amplificateur de la traduction et est un facteur de

transcription qui forment un complexe avec OCT4 (octamer-binding transcription factor 4) sur l'ADN[152].

Lin28 a été longuement étudié en tant qu'oncogène et, récemment, il a été démontré qu'il peut supprimer l'expression des miARN let-7 en se liant à un motif situé dans la boucle terminale de son précurseur pre-let-7 et recrute 2 enzymes TUTases : Zcchc11 et Zcchc6 pour contrôler la maturation du précurseur et ainsi réguler le taux de microARN let-7 mature [153][154]

Il est à noter que dans les glomérules de souris diabétiques, les niveaux de let-7b sont diminués, alors que les taux de lin28b, Col1a2 et Col4a1 ont augmenté. Ces résultats suggèrent que la restauration des taux de let-7 pourrait jouer un rôle en tant que suppresseur naturel de la voie du TGF- β dans les cellules rénales au cours de la néphropathie diabétique (ND) [150]. Park et al.[150] ont démontré que la suppression des miARN de let-7 par lin 28 est médiée par le TGF- β par l'action des Smads. Le TGF- β induit par les conditions diabétiques augmente la régulation de Lin28b par l'activation de Smad2 / 3. La régulation négative induite par Lin28b des microARN de la famille let-7 facilite la régulation positive des collagènes (cibles des microARN « let-7 »), conduisant à une accumulation de matrice extracellulaire glomérulaire, une caractéristique principale de la néphropathie diabétique. Ces résultats identifient Lin28 comme un nouveau gène cible de TGF- β et suggèrent un nouveau rôle pour la voie Lin28 / let-7 dans le contrôle de l'accumulation de collagène induite par TGF- β dans la ND.

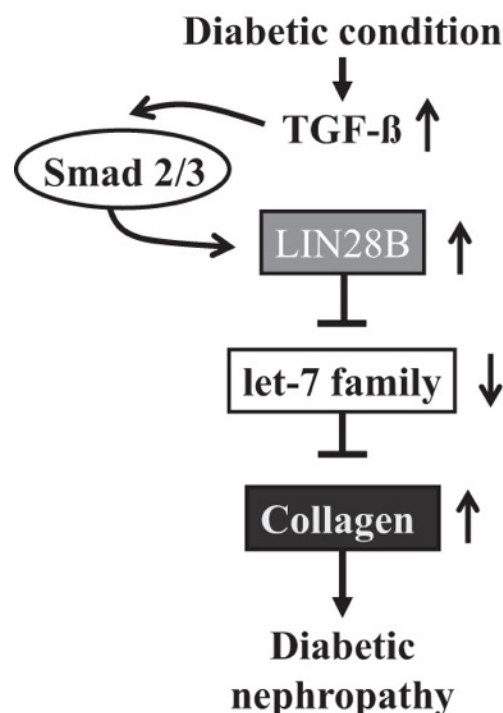


Figure 16 : Modèle schématique issue de la publication de Park et al. [150] décrivant les mécanismes de l'accumulation de collagène dans la pathogenèse de la néphropathie diabétique dépendant des familles Lin28b et Let-7.

La transition endothélio-mésenchymateuse (TEndM), citée précédemment, est une source importante de fibroblastes dans la fibrose rénale. Une étude de Chen et ses collaborateurs [155] ont rapporté que l'induction du miARN let-7 induite par le récepteur du facteur de croissance des fibroblastes (FGFR) agit comme un régulateur négatif du processus TEndM en inhibant la signalisation du TGF- β via la suppression de l'expression de TGF- β , de TGF- β R1 et du Smad2.

Le térapeptide endogène, la N-acétyl-séryl-aspartyl-lysyl-proline (AcSDKP), possède des actions antifibrotiques au niveau du cœur et des reins en raison de la prolifération cellulaire et de la signalisation du TGF- β . Nagai et al. [156] ont démontré que les effets antifibrotiques et anti-TEndM rénaux de AcSDKP chez des souris diabétiques de type 1 étaient associés à la restauration des niveaux du miR Let-7. L'AcSDKP est hydrolysé presque exclusivement par l'enzyme de conversion de l'angiotensine, et l'administration d'un IEC avec le térapeptide ralentit la progression de la fibrose et inhibe la transition endothélio-mésenchymateuse par rapport à un traitement par IEC en monothérapie. Des résultats similaires ont été observés dans un modèle de souris diabétique [157].

Les **lipoxines** sont des médiateurs lipidiques produits de manière endogène qui favorisent la résolution de l'inflammation et inhibent la fibrose, ce qui suggère un rôle dans l'insuffisance rénale. Les lipoxines atténuent la fibrose rénale dans un modèle d'OUU chez le rat, ce phénomène est associé à une expression à la hausse de miR **let-7c** [153]. Brennan et al. [153] ont démontré que les lipoxines suppriment la fibrose rénale induite par le TGF- β 1 par un mécanisme impliquant une régulation à la hausse de let-7c et une régulation à la baisse de son récepteur cible TGF- β R1.

2.2. La famille miARN-29

Les miR-29a, -29b et -29c ont une séquence germinale commune mais sont codés par des locus génomiques distincts. Dans l'ensemble, on a signalé que ces miARN antifibrotiques sont régulés à la baisse dans les maladies rénales chroniques [158][159]. De nombreux gènes de la MEC sont des cibles pour miR-29, notamment la fibrilline, les collagènes (I et III), l'élastine, les laminines et l'intégrine- β 1. En fait, la famille miARN-29 a le potentiel de réduire l'expression d'environ 20 gènes qui ont une action sur la formation de collagène.

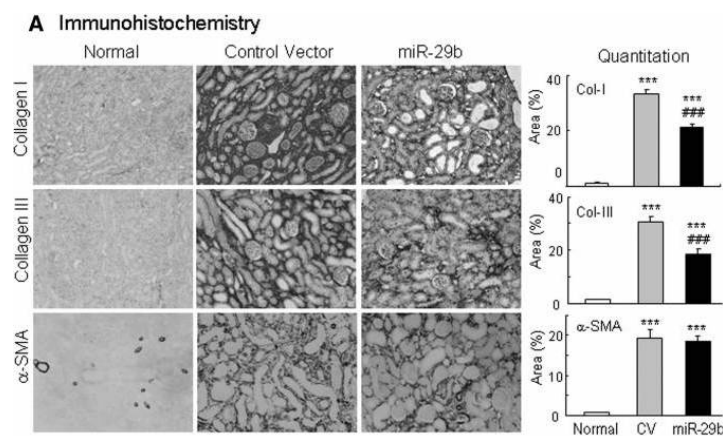


Figure 17 : Résultat d'expérience issue de la publication de Wei et al. [159] Un transfert de gène miR-29b évite la fibrose rénale chez un modèle murin de néphropathie (7^e jour).

D'après la figure 17, **miR-29b** aurait une action antiproliférative des **collagènes I et III** ainsi que sur l'actine alpha des muscles lisses (**α -SMA**) qui, comme les collagènes, participe au maintien structural de la MEC. Ces résultats précisent même une action plus importante sur les collagènes (notamment celui de type III) que sur l' α -SMA.

Dans le cas spécifique de la néphropathie diabétique, une étude de Du et al.[160] montre des taux de glucose élevés régulant négativement l'expression de **miR-29a** dans les cellules tubulaires rénales HK-2 (human kidney 2), régulant négativement l'expression du **collagène de type IV**. Dans un modèle diabétique, induit par streptozotocine, chez des souris transgéniques miR-29a, miR-29a a réduit la fibrose glomérulaire et l'inflammation. Ces résultats sont confirmés chez des souris avec expression de miR-29 nulle (=souris KO miR-29 pour Knock-Out) qui ont montré une hausse de l'activité histone désacétylase, induisant un dysfonctionnement rénal par apoptose des podocytes et protéinurie [161][162].

La régulation négative de **miR-29c** a été associée à des augmentations significatives de la fibrose interstitielle, des niveaux de protéines de collagène de type II $\alpha 1$ et de tropomyosine 1α dans le rein de rats soumis à une néphrectomie partielle au 5/6^e et dans les reins de patients présentant une néphropathie à IgA [163]. Cependant Guo et al. ont mis en évidence un **effet pro-inflammatoire de miR-29c** dans la néphropathie diabétique (ND), réalisée par la tristétraprolone (TTP), en ciblant les patients ND et les podocytes de souris immortalisées MPC5 (mouse podocyte cell line 5) [164].

Le TGF- β 1 neutralise le rôle bénéfique des membres de la famille miR-29 en régulant négativement leur expression dans les cellules épithéliales tubulaires proximales (pTEC), les cellules mésangiales et les podocytes [165]. La régulation négative induite par le TGF- β de l'expression de miR-29 est médiée par l'activation de la signalisation de Smad3. La liaison de ce Smad3 avec un élément de liaison (SBE= Smad-binding element) dans la région promotrice de miR-29 inhibe sa transcription dans les pTEC (cellules épithéliales tubulaires proximales) et les fibroblastes en culture, ainsi qu'*in vivo*, dans un modèle murin après obstruction urétérale unilatérale (OUU) [159]. En revanche, les souris KO Smad3 présentent une expression accrue de miR-29 avec une fibrose rénale réduite dans le modèle murin OUU[159].

Fang et al.[163] ont rapporté que le chlorure de cobalt, qui augmente les taux de facteurs induits par l'hypoxie (HIF – Hypoxia Inducible Factors), augmenterait aussi l'expression de miR-29c dans les cellules rénales HK-2 épithéliales. La régulation à la hausse de miR-29c était significativement atténué par l'inactivation de HIF-1 ou HIF-2 α [163]. Ces résultats suggèrent que HIF-1 et HIF-2 α contribuent également à la régulation de l'expression de miR-29c dans le rein.

Long J. et ses collaborateurs[166] ont rapporté que l'accumulation de MEC et l'apoptose des podocytes sont provoquées dans un modèle murin de diabète de type 2. L'inactivation de miR-29c a réduit l'albuminurie et l'accumulation de cellules mésangiales. Ils ont identifié l'homologue 1 de *Sprouty* (**Spry1**) comme **cible directe de miR-29c** et ont apporté la preuve que la régulation négative de Spry1 favorise l'activation de la **Rho kinase**, acteur important de la régulation du cytosquelette et de la migration cellulaire, entraînant une augmentation de l'apoptose cellulaire et de la synthèse de la fibronectine (figure 18).

Le traitement par inhibiteurs de Rho kinase atténue le développement de lésions rénales dans différents modèles animaux [167]. Bien que les données reliant l'activation de la voie Rho / Rho kinase et l'insuffisance rénale chez l'homme fassent défaut, ces études ont fournies des démonstrations des effets néphroprotecteurs des inhibiteurs de la Rho-kinase [167-169].

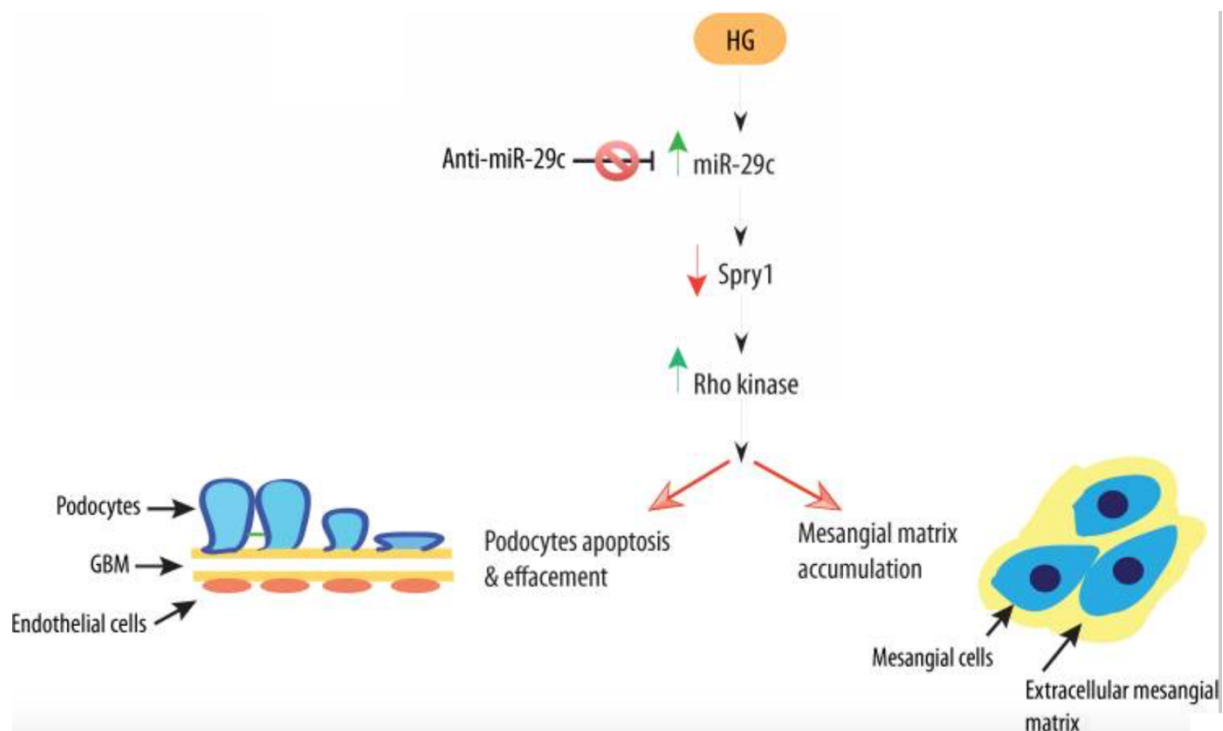


Figure 18 : Mécanisme proposé pour les effets supposés d'une glycémie élevée (HG = High Glycemia) sur la voie de signalisation médiée par miR-29c conduisant à la néphropathie diabétique. Illustration issue de la publication de Long et al.[166] GBM = membrane basale glomérulaire

2.3. MiR-126

L'intron 7 de la protéine 7 du domaine semblable au facteur de croissance épidermique (**EGFL7**= Epidermal Growth Factor-like domain-containing protein 7) héberge le gène microRNA miR-126. Celui-ci possède des propriétés proangiogéniques, se situe dans les cellules endothéliales[170] et fortement exprimé dans les vaisseaux sanguins[171]. Bijkerk et al. [172] ont signalé que des souris, surexprimant mir-126 dans le compartiment hématopoïétique, présentaient une diminution des marqueurs de fibrose après une lésion d'ischémie/reperfusion rénale. Les effets bénéfiques de miR-126 ont été attribués à la préservation de l'intégrité vasculaire en raison de leur mobilisation vers les reins.

Al-Kafaji et al. [173] ont découvert qu'une diminution de l'expression de miR-126 en circulation était associée au développement de la néphropathie diabétique (ND) chez des patients diabétiques de type 2 et ont suggéré que miR-126 serait un **potentiel biomarqueur de progression de la ND**.

MiR-126 régule la réactivité des cellules endothéliales au VEGF. L'une des cibles de miR-126 est EGFL7, qui est impliqué dans la migration cellulaire et la maturation des vaisseaux sanguins et qui fonctionne en interagissant avec le récepteur Notch et le ligand de Notch de type Delta4 [174]. En régulant négativement EGFL7, miR-126 peut coordonner l'angiogenèse et la maturation vasculaire. Toutefois, des recherches approfondies sont nécessaires car les conséquences de cette régulation négative ne sont pas entièrement comprises [175].

MiR-126 réduit également au silence de nombreux acteurs du maintien du phénotype cellulaire des vaisseaux :

- Les protéines Spread-1 (Sprouty-related, EVH1 domain-containing protein 1) codés par le **gène SPRED1**, ciblé par le miR-126, qui régulent négativement la signalisation du VEGF (Figure 19)
- La **DLK1** (delta like non-canonical Notch ligand 1)
- Des facteurs de transcriptions comme **IRS1** (insulin receptor substrate 1), **HOXA11** (homeobox protein)
- ainsi qu'un régulateur de la protéine G16 (**RGS16**), qui est un inhibiteur de la signalisation du récepteur couplé à la protéine G. [174][176]

Pendant la réparation tissulaire, la délivrance de miR-126 aux cellules vasculaires du récepteur supprime le régulateur RGS16 et permet à **CXCR4**, un récepteur membranaire de CXCL12 jouant un rôle important dans le développement de la vascularisation [177] et de la cicatrisation vasculaire [178], de soutenir une boucle de rétrocontrôle positif qui augmente la production de son ligand CXCL12. Cela favorise le recrutement de cellules progénitrices et la protection vasculaire. [179] (Figure 19)

MiR-126 peut également inhiber l'apoptose des cellules endothéliales vasculaires en renforçant la signalisation **PI3K / Akt** (Phosphoinositide 3-kinases / protéine kinase B). [180] (Figure 19) Ainsi, miR-126 pourrait protéger le rein en agissant sur plusieurs voies de signalisation. L'intérêt potentiel pour le traitement de la MRC requiert de futures recherches.

Fourdinier O. et ses collaborateurs [181] ont étudié miR-126 ainsi que le **miR-223** en tant que biomarqueurs potentiels de la MRC, sur une cohorte de patients atteints à différents stades de la maladie, comparativement à des cas-témoins. Ils ont constaté une corrélation de ces microARNs à un DFGe plus faible pour les patients atteints ainsi qu'une tendance d'expression à la baisse de miR-126 et de miR-223, respectivement à partir du stade G2 et G3B. (Figure 20, encadrés rouge).

En ce qui concerne la mortalité globale de cette cohorte, l'équipe a constaté un taux de survie plus bas pour les patients avec une expression de miR-126 ou 223 à la baisse. Le constat est similaire quant aux événements cardiovasculaires et rénaux, ceux-ci surviennent quand l'expression de ces miARNs est basse. Ces données permettent d'affirmer que la MRC est associée à une diminution des niveaux circulants de ces deux microARNs.

Cependant, d'après leurs résultats, miR-126 et miR-223 ne peuvent pas être utilisés comme marqueurs pronostiques en raison de leur variabilité liée au DFGe. En effet, les niveaux de miR-126 et miR-223 n'étaient pas associés de manière indépendante à une survie médiocre après ajustement pour le DFGe.

Les résultats étaient similaires pour la mortalité, les événements cardiovasculaires et les événements rénaux - **aucun d'entre eux n'étant prédictif** d'un déclin ultérieur du DFGe. Tous ces évènements semblent reposer sur le DFGe.

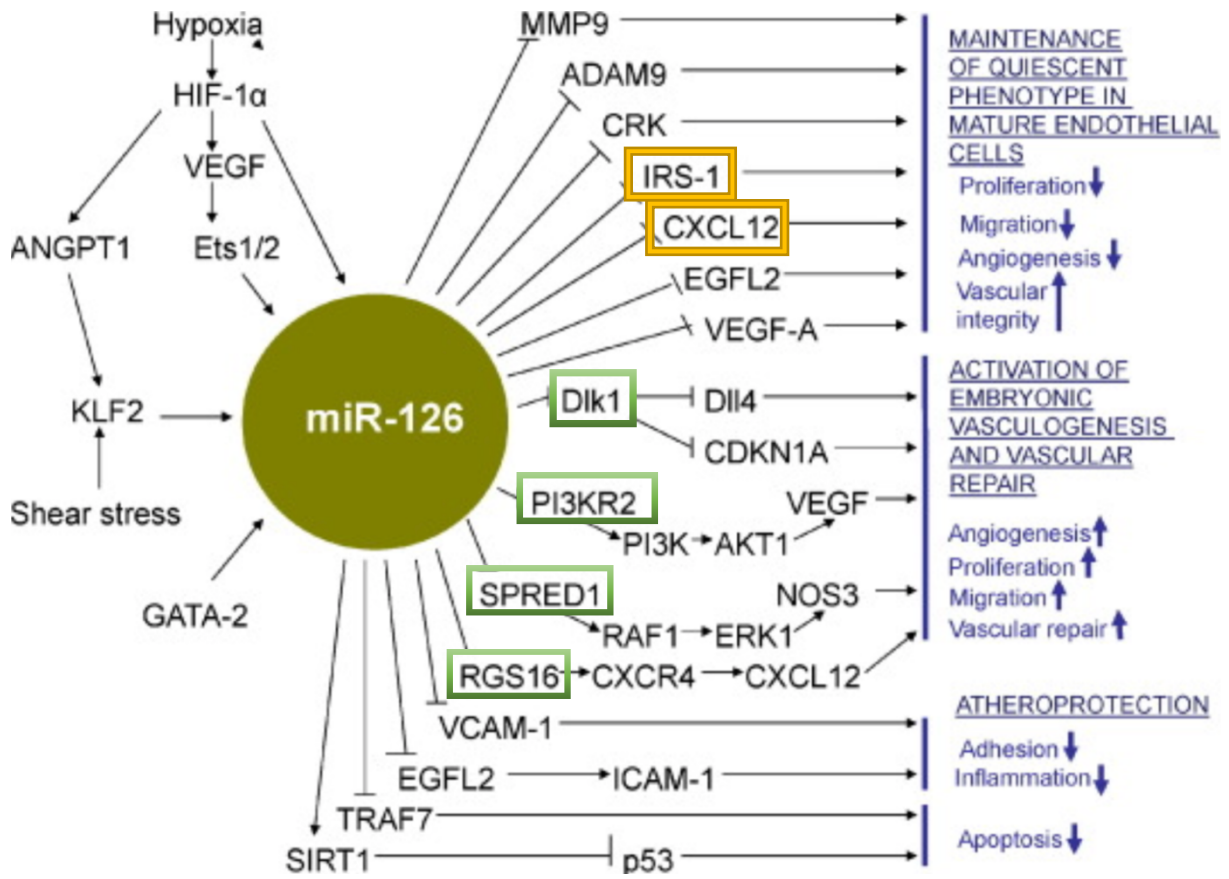


Figure 19 : Schéma non exhaustif des voies de signalisation et des fonctions cellulaires affectées par miR-126. Illustration issue de la publication de Chistiakov et al.[182]

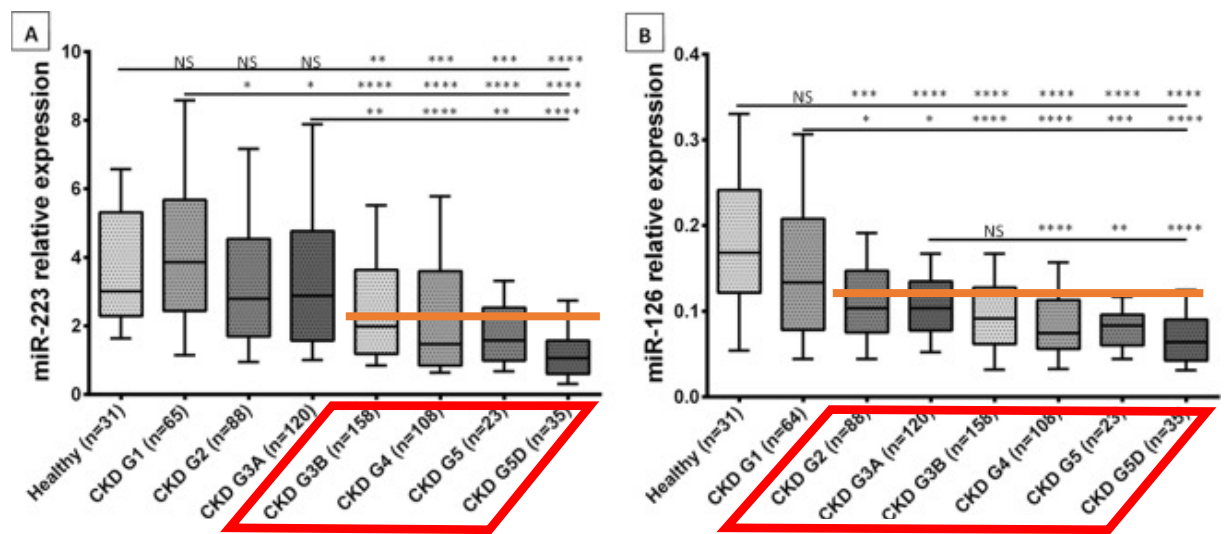


Figure 20 : Tableau représentatif des expressions au niveau sérique de miR-126 (A) et de miR-223 (B) de la cohorte de patients atteints de MRC selon les stades et de cas-témoins. Illustration issue de la publication de Fourdinier et al. [181]

2.4. La famille miR-30

Cette famille de microARN comprend cinq membres, **miR-30a** à **miR-30e** [183]. Les membres de cette famille partagent tous une séquence germinale commune et sont codés par six gènes situés sur les chromosomes humains 1, 6 et 8 [184]. Il a été démontré que la famille miR-30 était régulée négativement dans les podocytes de patients atteints de glomérulosclérose à segmentation focale (FSGS) [185][186]. Le traitement des podocytes humains en culture avec du TGF- β ou de l'aminonucléoside de la puromycine (ANP) conduit à des lésions du cytosquelette et à l'apoptose, qui sont améliorées par une régulation positive de l'expression de miR-30 et aggravées par l'inactivation de celui-ci. Le **rôle protecteur de miR-30** a été attribué à **l'inhibition des voies Notch1 et p53** [186].

La famille miR-30 inhibe également la production de MEC par les cellules épithéliales et les changements de phénotype en régulant négativement la protéine de découplage mitochondriale 2 (**Ucp2**) [187]. Il a été démontré que l'OUU sur des souris pouvait induire Ucp2 dans les cellules épithéliales tubulaires et que les souris auxquelles on a soustrait cette protéine résistaient à la fibrose rénale induite par une obstruction.

Dans les cellules épithéliales de rein en culture (modèle rat), l'expression de Ucp2 a été induite par le TGF- β 1. Le knockdown de UCP2 a largement annulé l'effet du TGF- β 1, alors que la surexpression de UCP2 a favorisé les changements de phénotype des cellules tubulaires notamment la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM). Il a été démontré que l'ARNm d'Ucp2 était une cible directe de **miR-30e**, qui était régulé négativement dans les cellules tubulaires des reins fibrotiques et dans les cellules épithéliales rénales traitées au TGF- β 1. De plus, la TEM des cellules tubulaires était inhibé par un précurseur de miR-30e, alors qu'un inhibiteur de miR-30e agissait comme le TGF- β 1.

D'autre part, le facteur de croissance du tissu conjonctif (**CTGF**), une molécule clé dans le processus de fibrose rénale, est régulé par le miR-30. Druisters et al. [188] ont démontré que l'expression du miARN-30 était inversement associée à la quantité de CTGF dans deux modèles d'animaux de maladie cardiaque, ainsi que chez deux patients présentant une hypertrophie du ventricule gauche. In vitro, l'inactivation de miR-30 a augmenté les taux de CTGF dans les cardiomyocytes et les fibroblastes. La surexpression de miR-30c a diminué les niveaux de CTGF et réduit la production de collagènes. Ces résultats suggèrent que la famille de miR-30 représente une cible thérapeutique attrayante pour les maladies fibrotiques, y compris la maladie rénale chronique, puisqu'elle influence le processus fibrotique en régulant la production d'ATP (adénosine triphosphate) et de CTGF mitochondrial.

3. Les microARNs profibrotiques dans la MRC

3.1. MiR-21

MiR-21 est l'un des miARN les plus abondants dans les tissus humains et est régulé positivement dans plusieurs modèles animaux de maladie rénale et dans le tissu rénal provenant de patients atteints de néphropathie. De plus, les reins des souris miR-21 KO ont montré une protection marquée contre le développement de la fibrose rénale [189]. Des études de puces à ADN sur les reins de souris miR-21 « wild-type » (WT) c'est-à-dire dont l'expression de miR-21 n'a pas été modifiée par l'homme, et de souris miR-21 KO indiquent que l'expression des gènes cibles prédits de miR-21 ne diffère pas de manière significative dans des conditions normales [190]. Cependant, après une augmentation de l'expression de miR-21 suite à une lésion d'OUU ou d'ischémie/reperfusion, des différences d'expression des gènes cibles de miR-21 ont été observées entre les souris WT et miR-21 KO, les souris miR-21 KO présentant beaucoup moins de problèmes rénaux, de fibrose interstitielle rénale après une lésion.

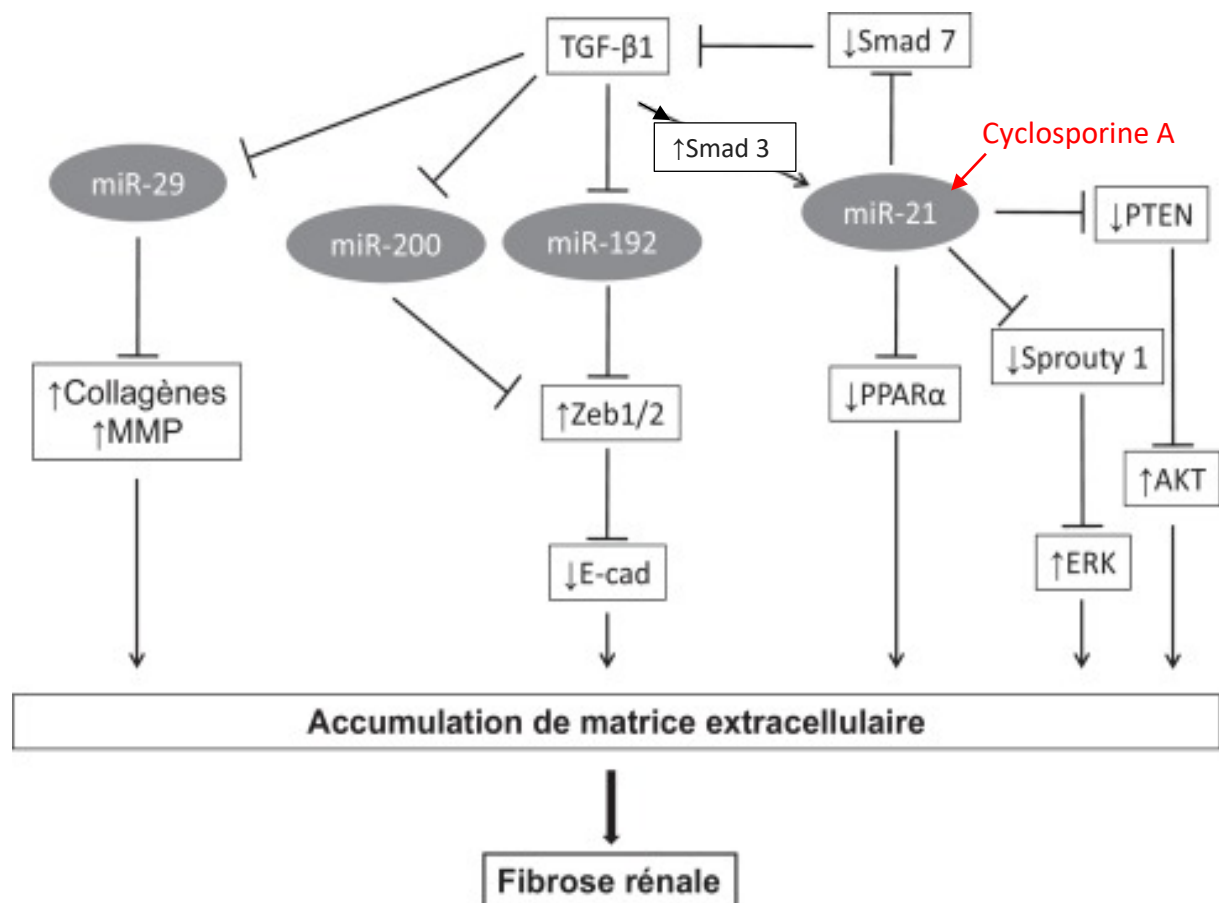


Figure 21 : Schéma modifié des voies de signalisation de TGF-β1 associé à certains microARNs profibrotiques menant la progression de la MRC. Illustration issue de la publication de Van der Hauwaert C. [191]

L'analyse des profils d'expression génique des souris WT et KO en réponse à une lésion a suggéré que miR-21 contribue au développement de la fibrose rénale via la régulation des voies métaboliques impliquées dans l'oxydation des acides gras et des lipides [190]. Le récepteur activé par les proliférateurs des peroxysomes α (**PPAR- α**) est l'un des facteurs de transcription les plus puissants qui régulent l'oxydation des acides gras et est une cible identifiée de miR-21. Dans les reins normaux, des taux d'expression élevés de PPAR- α peuvent être détectés dans les cellules interstitielles, mais après une lésion, l'expression de PPAR- α diminue fortement (Figure 21). La régulation à la hausse de l'expression de PPAR- α chez des souris transgéniques soumises à l'OUU a diminué l'accumulation de la MEC et réduit la fibrose interstitielle rénale. Ces observations confirment l'importance de l'oxydation des acides gras dans la prévention de la fibrose rénale et l'importance de la régulation à la baisse voire de la réduction au silence de miR-21 de l'axe PPAR- α .

La génération d'espèces réactives de l'oxygène (**ROS**) contribue à la fibrose rénale. La protéine de type **Mpv17** est une protéine de la membrane interne mitochondriale qui régule la production de ROS et protège du stress oxydatif mitochondrial et de l'apoptose. La protéine Mpv17 est régulée négativement par miR-21 lors d'une lésion rénale [190]. MiR-21 régule également positivement la signalisation des kinases extracellulaires régulées par le signal (ERK = Extracellular signal-regulated kinases) au niveau rénale [190]. Les voies de signalisation **ERK1/2** et **TGF- β /Smad** semblent jouer un rôle dans le développement de la fibrose rénale dans les modèles diabétiques [192]. (Figure 21)

Le rôle de miR-21 dans l'homéostasie de la MEC peut être influencé par la régulation des métalloprotéinases (**MMP**) et des inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (**TIMP**). Wang et al. [193] ont décrit l'association entre MMP-9/TIMP1 et miR-21 dans la néphropathie diabétique (ND) en utilisant des souris KK-Ay (KK-Ay étant une désignation pour un modèle murin obèse et atteint de diabète de type 2). Ils ont confirmé les prédictions informatiques selon lesquelles la MMP-9 serait une cible potentielle pour miR-21. Avec la progression de la ND, l'expression de miR-21 régule directement l'expression de la protéine MMP-9 et induit indirectement une hausse de l'expression de l'ARNm de TIMP1 et de la protéine [193]. Notamment, le traitement des souris KK-Ay atteints de ND avec un **antagomir-21** a amélioré la fonction rénale et diminué les taux de protéines rénales TIMP1, Col(IV) et la fibronectine. En outre, une analyse du transcriptome global a révélé que miR-21 affecte l'expression d'une autre cible impliquée dans la régulation de la MEC, à savoir la protéine **RECK** (protéine riche en cystéine induisant une réversion des motifs kazal), qui est une glycoprotéine inhibitrice ancrée dans la membrane basale de MMP-9 et de MMP-2 [194].

L'expression de plusieurs MMPs semble être régulée par la phosphatase et son homologue tensine (**PTEN**), un gène suppresseur de tumeur, comme décrit précédemment, et un régulateur négatif de la signalisation **Akt** qui s'avère être régulé négativement par miR-21 au cours de la TEM induite par le TGF- β 1 [195][196](Figure 21). La réduction au silence de miR-21 dans les reins entraîne également une diminution de **MMP-2** (en raison d'une signalisation Akt atténuée), ce qui suggère que PTEN est également ciblé par miR-21 dans les reins [190][197]. En effet, les gènes de PTEN humain et de souris sont des cibles connues pour miR-21 d'après la base de données en ligne miRTarBase 2016 [198]. La MMP-2 est impliquée dans la fibrose interstitielle rénale, éventuellement par induction du TEM [199].

De plus, Chen et al. [200] ont démontré que la néphrotoxicité induite par la **cyclosporine A** était associée à une augmentation de miR-21 et à une augmentation rapide de l'Akt phosphorylé ainsi qu'une régulation négative du PTEN (Figure 21). L'inhibition de miR-21 a empêché l'activation de l'Akt induite par la cyclosporine A et l'expression du gène TEM [200], ainsi que l'activation des gènes profibrotiques dans les podocytes et les cellules tubulaires humaines dans un modèle de néphropathie à IgA [201].

Il est bien établi que le TGF- β 1 est une cytokine essentielle dans la fibrose rénale. La signalisation du TGF- β est régulée par miR-21. Le TGF- β 1, à son tour, induit l'expression de miR-21 par le biais de la signalisation Smad [202]. Grâce à une étude sur divers modèles animaux, McClelland et al. [203] ont rapporté que l'étendue de la fibrose et le déclin de la fonction rénale chez les patients atteints de ND étaient corrélés à la régulation à la hausse de miR-21. À l'aide de cellules épithéliales tubulaires proximales de rat, ces chercheurs ont démontré que l'expression de miR-21, induite par TGF- β 1, augmentait l'expression génique de la fibrose, en renforçant la signalisation de **Smad3** et Akt induite par TGF- β 1 en raison de la régulation à la baisse de Smad7 et de PTEN. (Figure 21)

Des études démontrent que **Smad3** stimule la génération de miR-21. Davis et ses collaborateurs [204] ont rapporté que l'induction de miR-21 mature et de pré-miR-21 n'était pas précédée d'une augmentation de pri-miR-21 en réponse à la stimulation de TGF- β 1, indiquant une régulation à la hausse de miR-21 se produisant au niveau post-transcriptionnel. Cette même équipe de chercheurs a suggéré que Smad3 s'associe au complexe de microprocesseurs Drosha/DGCR8/p68 pour faciliter le clivage de l'ARN pri-miR en ARN pré-miR.

Dans une étude ultérieure, il a été constaté que la signalisation du TGF- β et de la protéine morphogénique osseuse (**BMP** = Bone morphogenetic protein) régulait un groupe de microARNs (incluant miR-21) après la transcription, par liaison directe de Smad3 aux régions de la tige des pri-miARNs ciblées, qui contiennent une séquence conservée semblable aux éléments de liaison aux Smad (**SBE**) présent dans les promoteurs des gènes cibles de Smad. [205]. Le recrutement de Smad3 a été postulé comme étant nécessaire pour un recrutement efficace du complexe de microprocesseurs. Smad3 peut également se lier à un SBE du promoteur du gène miR-21 pour moduler son expression en réponse à la stimulation par TGF- β 1.[151]

Liu XJ et al. [206] ont trouvé un nouvel objectif pour miR-21. Ils ont suggéré que miR-21 interagissait avec la région non traduite en 3' (UTR) de l'ARNm de la diméthylarginine diméthylaminohydrolase 1 (**DDAH1**) dans la voie de signalisation Wnt dans les cellules rénales humaines HK-2. Le DDAH1 décompose la diméthylarginine asymétrique (**ADMA**), un inhibiteur endogène de l'oxyde nitrique synthase (**NOS**). Ainsi, la régulation à la hausse de miR-21 contribue à la fibrose rénale en réduisant l'activité de DDAH1 et, par conséquent, augmenter les taux d'ADMA, réduisant ainsi la production de NO.

Des études utilisant des **oligonucléotides anti-miR-21** ont démontré leur capacité à réduire les lésions rénales et la fibrose dans divers modèles animaux d'insuffisances rénales aiguës, ainsi que dans le syndrome d'Alport [190]. La néphropathie secondaire est provoquée par une mutation d'une protéine de la membrane basale des capillaires (COL4A5) entraînant un stress cellulaire qui déclenche ensuite le recrutement de leucocytes et la fibrose. Dans les cultures de cellules primaires de reins obtenues à partir d'un modèle murin de néphropathie d'Alport, des oligonucléotides anti-miR-21 protègent les cellules contre les dysfonctionnements mitochondriaux dus au stress cellulaire et inactivent des fibroblastes par divers stimuli.

L'administration hebdomadaire d'oligonucléotides anti-miR-21 à des souris après l'apparition de la maladie a considérablement ralenti la progression de la maladie, amélioré la survie, rétabli la fonction tubulaire et réduit les paramètres histologiques de la MRC, notamment la fibrose interstitielle, la glomérulosclérose, les lésions tubulaires et l'inflammation [146]. La figure 22 renseigne sur une partie du contenu des expériences menées pendant les travaux d'Ivan G et al. [146]. En résumé, au-delà des modifications histologiques constatées, il y a eu des modifications comprenant les myofibroblastes, les marqueurs de lésions rénales, le taux de cellules apoptotiques observé. Ces observations ont été faites sur ces cellules épithéliales tubulaires. Les résultats décrits soutiennent le postulat sur l'efficacité des oligonucléotides anti-miR-21 dans le ralentissement de la progression de la fibrose rénale.

Les oligonucléotides anti-miR-21 peuvent être administrés à des animaux pendant plusieurs semaines sans effets délétères notables [146]. D'après la figure 22, issu de la même étude, les résultats font suite à 9 semaines d'administration.

Par conséquent, les oligonucléotides anti-miR-21 représentent une nouvelle classe potentielle de produits thérapeutiques destinés au traitement des maladies rénales fibreuses et sont à présent entrés dans les essais cliniques de phase II [190]. Une étude récente de Guo et al. [207] ont fait une comparaison des résultats des recherches d'Ivan G et al. avec des échantillons humains de reins provenant de patients atteints de néphropathie d'Alport, ce qui soutient la validation du modèle animal et la volonté de poursuivre ces recherches chez l'Homme.

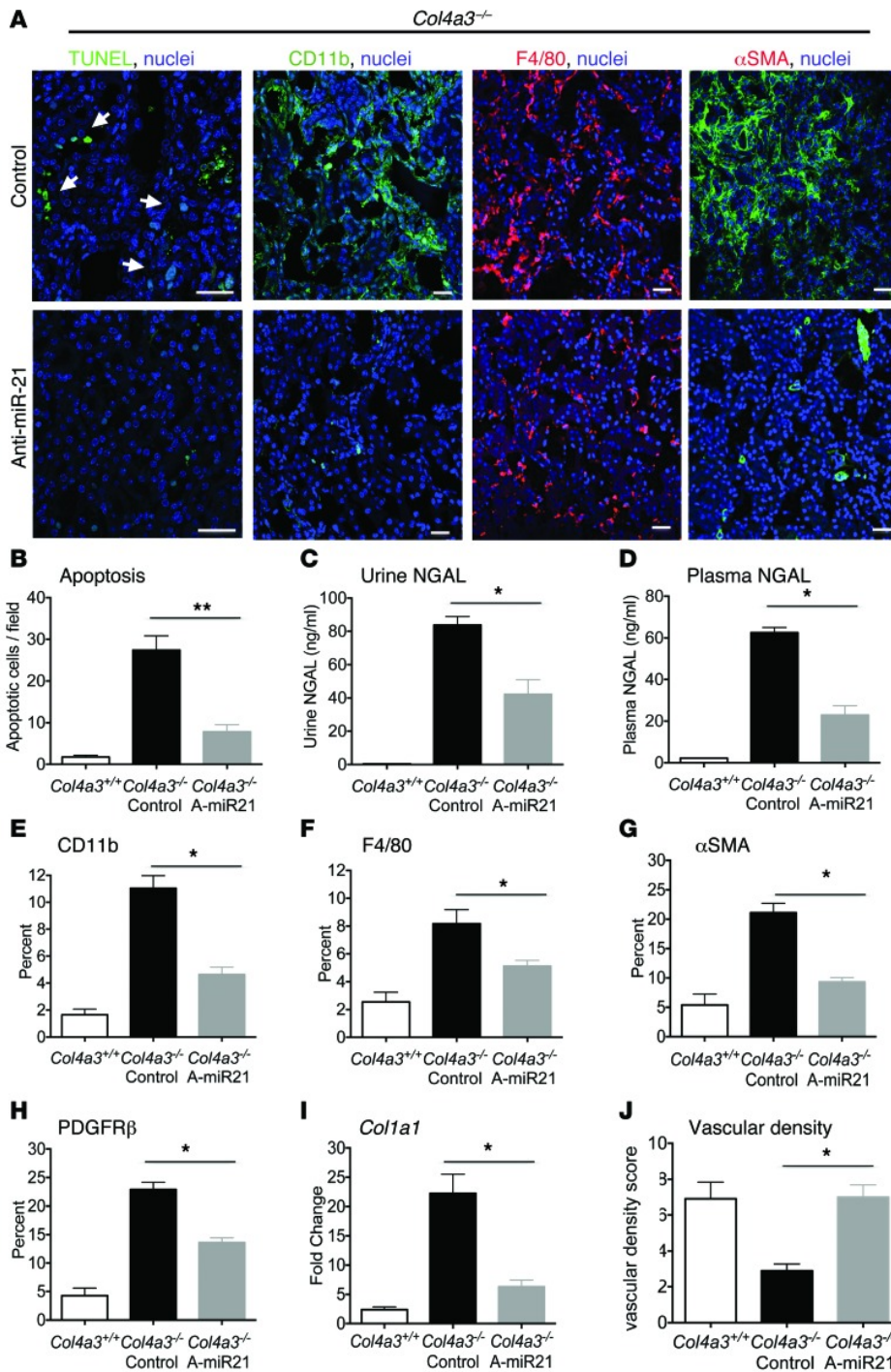


Figure 22 : Images microscopique et tableaux illustrant les résultats d'expériences d'injection d'anti-miR-21 sur des souris transgéniques *Col4a3^{-/-}*, menées par Ivan G et al. Issus de la publication de Ivan G et al.[146] «A-miR-21 » pour oligonucléotide anti-miR-21.

(A) Images de cellules épithéliales tubulaire en apoptose (flèches), macrophages (**Cd11b**) et de myofibroblastes (**α SMA**).

(B-H) Quantification de plusieurs paramètres : apoptose tubulaire, marqueur de lésion tubulaire NGAL sérique et urinaire, macrophages rénaux Cd11b et F4/80, protéine du développement vasculaire (**PDGFR β** = platelet-derived growth factor receptor beta), et myofibroblastes (**α SMA**) à la 9^e semaine.

(J) Quantification de la densité capillaire péri tubulaire

3.2. MiR-214 et miR-199a

MiR-214 est exprimé à des niveaux élevés dans les modèles de la maladie rénale chez l'homme et chez l'animal [208]. MiR-214 est co-transcrit avec la famille miR-199a sur un seul long brin d'ARN non codant (ARNlnc) situé sur le brin complémentaire d'un intron du gène DNM-3. Ces microARNs ont fait l'objet d'études sur le cancer pancréatique, comme potentielles cibles thérapeutiques dans les cellules étoilées de tumeurs pancréatiques [209], et leur implication dans la tumorigénèse des cellules germinales testiculaires [210].

Les gènes *mir-214* et *mir-199a* sont régulés positivement par l'activation du facteur de transcription **TWIST** et par l'hypoxie via **HIF-1 α** . Dans des échantillons de reins provenant de patients atteints de diverses maladies rénales, le miR-214 a été détecté dans les tubules rénaux, les glomérules et les cellules immunitaires infiltrantes [211]. Denby et al. [211] ont récemment suggéré que miR-214 fonctionne en favorisant la fibrose rénale indépendamment de la signalisation de TGF- β . Dans un modèle d'OUU murin, une diminution de l'expression de miR-214 protège contre le développement de la fibrose et un traitement des souris WT avec un **anti-miR-214** avant que l'OUU n'entraîne des effets antifibrotiques similaires. Les mécanismes sous-jacents de l'action de miR-214 dans la fibrose rénale restent, pour le moment, inconnus. **L'antagonisme de miR-214** ne bloque pas l'activation de Smad2/3 et le blocage du TGF- β , associé à la suppression de miR-214, offre une **protection supplémentaire**, indiquant que miR-214 induit des effets fibrotiques indépendamment de Smad2/3. En outre, l'inhibition de la signalisation « classique » du TGF- β n'affectait pas la régulation de miR-214 endogène [211].

L'inhibiteur de la voie de signalisation endogène Akt, le **PTEN**, est également une cible reconnue du miR-214 [212]. L'équipe de Wang X. et al. [213] ont récemment rapporté que **l'inhibition de miR-214** réduisait significativement l'albuminurie et l'expansion mésangiale chez les souris db/db, ce qui était associé à une **réduction de l'expression de l'actine du muscle lisse α (α SMA), du collagène IV ainsi que des niveaux partiellement restaurés de PTEN**. (Figure 23)

Des études, in vitro, ont confirmé que PTEN est une cible de miR-214 et que l'inhibition de miR-214 réduit l'expression des gènes fibrotiques et réduit partiellement les taux de protéines PTEN dans les cellules mésangiales humaines exposées à une glycémie élevée (Figure 23B, 23C). La régulation à la hausse de miR-214 était spécifiquement liée à l'hypertrophie dans ce modèle, car la surexpression de PTEN atténue l'hypertrophie, médiée par miR-214, des cellules mésangiales en milieu fortement glucosé, tandis que la réduction au silence de PTEN permet l'hypertrophie de ces cellules.

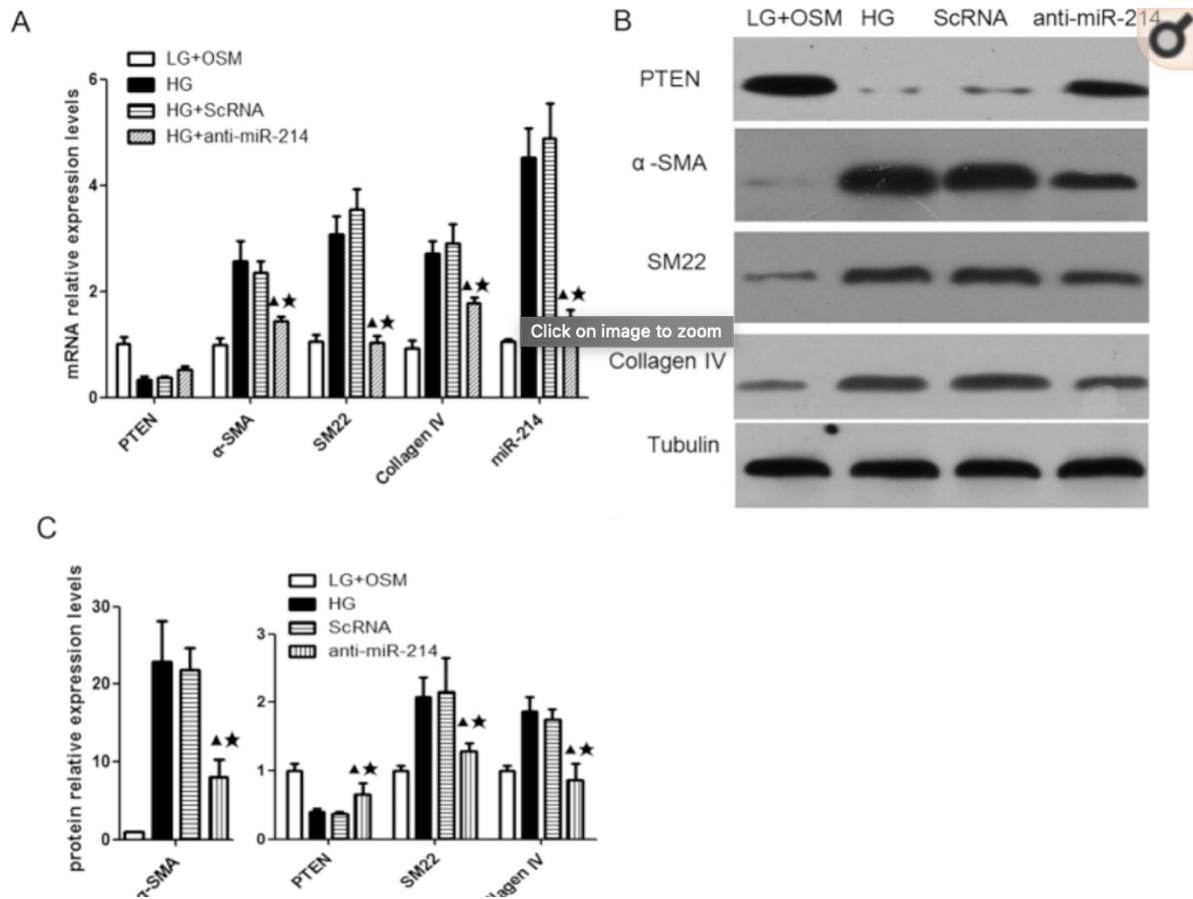


Figure 23 : Le miR-214 contribue à l'hypertrophie des cellules mésangiales glomérulaires en ciblant directement le PTEN. Illustrations issues de la publication de Wang X et al. [213]

LG+Osm : milieu faiblement glucosé (5 mmol/L) + du mannitol (20 mmol/L)

HG : milieu fortement glucosé (25 mmol/L)

ScRNA : milieu fortement glucosé associé à des petits ARN conditionnels (ScRNA = Small conditional RNA), stable sans interactions et pouvant générer une réaction (ici le développement fibrotique via l'activation de miR-214)

Anti-miR-214 : milieu fortement glucosé avec adjonction d'inhibiteur de miR-214

(A) Les niveaux d'ARNm de miR-214, PTEN, αSMA, SM22 et Collagène IV selon le milieu

(B) Les niveaux de protéine de PTEN, αSMA, SM22 et Collagène IV selon le milieu

(C) Analyse quantitative des niveaux de protéine de PTEN, αSMA, SM22 et Collagène IV selon le milieu

Comme mentionné précédemment, la famille miR-199a est co-décrite avec miR-214. **MiR-199a-5p** et **miR-199a-3p** sont produits à partir d'une seule molécule, le pré-miR-199a [210]. Plusieurs études sur des tissus non rénaux ont mis en évidence des rôles discrets pour ces miARN dans la modulation de la migration cellulaire et le dépôt matriciel [209][210]. Cependant l'importance de la famille miR-199a dans l'insuffisance rénale n'a pas été établie, pas plus que les actions différentielles potentielles de miR-199a-5p et miR-199a-3p [210].

Une augmentation de l'expression de miR-199a-5p a été rapportée dans le modèle murin de fibrose rénale OUU, et il a été démontré que **miR-199a-5p** était **plus efficace que miR-199a-3p** pour réduire les taux de cavéoline-1 dans les fibroblastes au niveau des poumons, un processus clé dans l'activation des fibroblastes par TGF- β [214].

D'autres ont rapporté que la protéine membranaire **Klotho** était une **cible de miR-199a-5p** dans les cellules mésangiales de rat exposé en milieu fortement glucosé [215]. L'absence d'expression de Klotho induite par miR-199a-5p était liée à une expression accrue de gènes inflammatoires et profibrotiques secondaires à une signalisation accrue du récepteur de type Toll 4 (**TLR4**)/NF- κ B p65 / NGAL. (Figure 24)

Compte tenu de son association positive avec l'inflammation et la fibrose, miR-199a-5p peut également représenter une autre cible thérapeutique pour le traitement de la fibrose rénale associée au diabète.

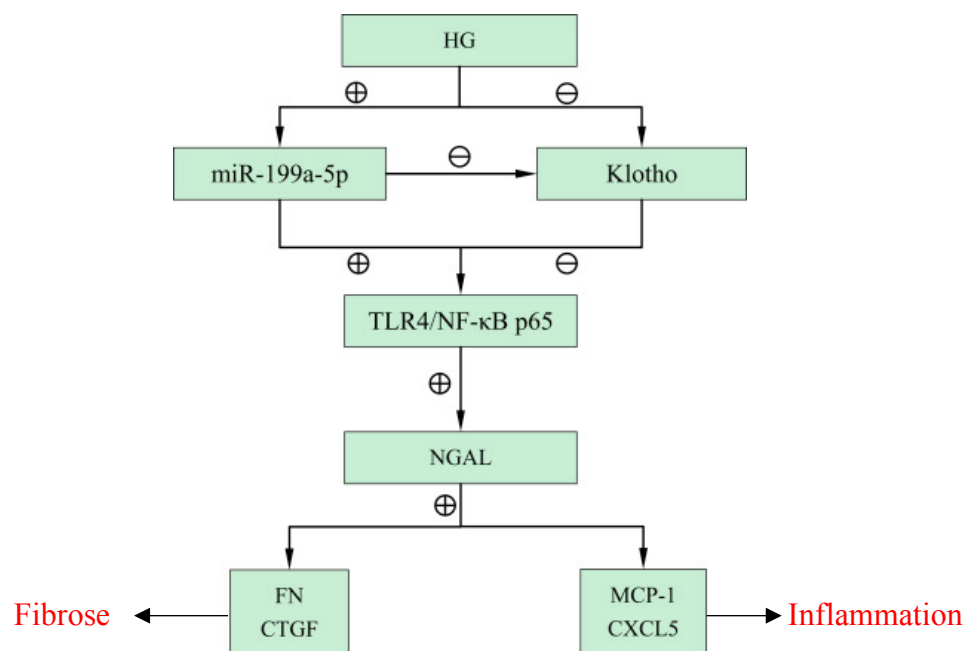


Figure 24 : Représentation schématique des voies de signalisation miR-199a-5p / Klotho impliquées dans la fibrose et l'inflammation induites par l'HG dans les CMR. Illustration issue de la publication de Wu C. et al. [215]

HG : milieu enrichi en glucose; TLR4 : toll-like receptor-4; NF- κ B p65 : nuclear factor- κ B p65; NGAL : neutrophil gelatinase associated lipocalin; FN : fibronectin; CTGF : connective tissue growth factor; MCP-1 : monocyte chemoattractant protein 1; CXCL5 : chemokine C-X-C motif ligand 5.

3.3. MiR-433

Les premières études sur miR-433 étaient axées sur son rôle dans le cancer [216]. Récemment, il a été signalé que miR-433 était régulé positivement dans la fibrose rénale et cardiaque [217][218]. Le miR-433 humain, situé dans la région chromosomique 14q32.2, appartient au groupe de miARN **DLK1-DIO3** (delta-like 1 / iodothyronine deiodinase 3) et fonctionne comme un suppresseur de tumeurs dans plusieurs cancers humains. La programmation épigénétique joue un rôle important dans la régulation de miR-433 [219]. Une étude très récente de Hindle et al. [220] ont identifié plusieurs microARNs (incluant miR-433) comme potentiels biomarqueurs du glaucome.

MiR-433 est régulé positivement dans le modèle de souris OUU, tandis que la suppression de miR-433 atténue l'induction et la progression de la fibrose rénale dans ce modèle [217]. Dans un modèle in vitro, la surexpression de miR-433, dans les cellules tubulaires épithéliales de rat, majore la fibrose induite par le TGF- β 1, tandis que sa suppression atténue la fibrose.

Smad3 lie le promoteur miR-433 pour induire son expression. Ainsi, **miR-433 est un composant important de la fibrose rénale induite par TGF- β /Smad3** (Figure 25). L'inhibiteur d'antizyme1 (**AZIN1**), un régulateur de la synthèse de polyamine, a été identifié comme un gène cible de miR-433 lié au signal de TGF- β dans la fibrose rénale [217]. La surexpression de miR-433 annule l'expression d'AZIN1, alors que la régulation à la hausse d'AZIN1 fait cesser la signalisation de TGF- β et la fibrose. En tant que composant de la fibrose rénale induite par TGF- β /Smad3, le miR-433 pourrait constituer une cible thérapeutique potentielle dans la fibrose rénale

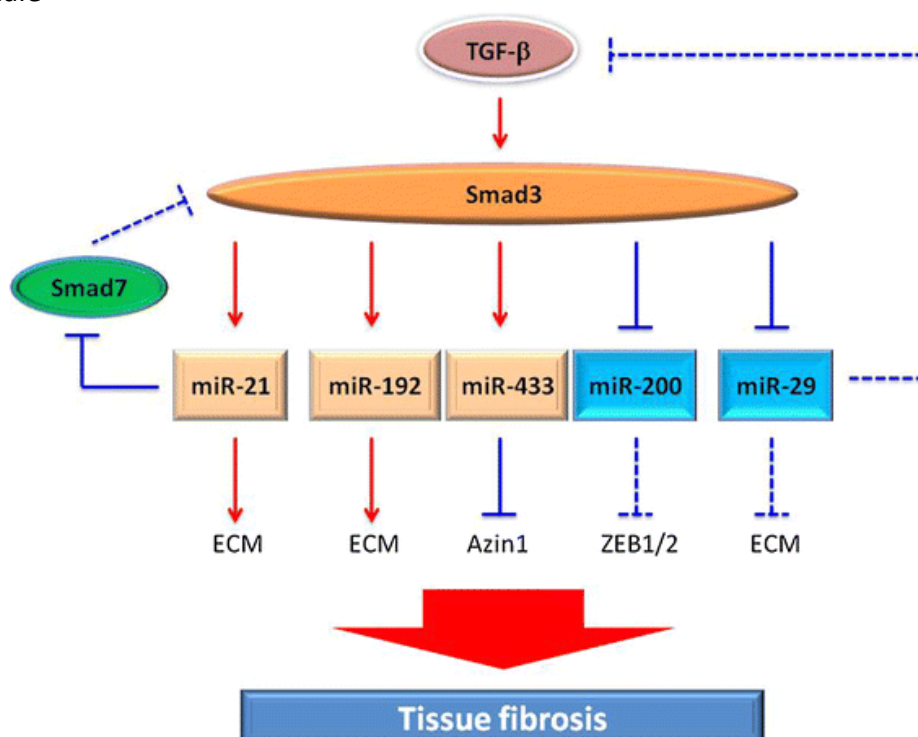


Figure 25 : Représentation schématique de microARNs (y compris miR-433) impliqués dans la signalisation TGF- β /Smad3 menant vers le processus fibrotique. Issue de la publication de Tang et al. [221]

3.4. Famille miR-132 et miR-212

Mir-132 et *mir-212* sont groupés dans le génome et sont transcrits ensemble sous la régulation par la protéine de liaison à l'élément de réponse à l'AMPc (**CREB** = C-AMP Response Element-binding protein), dont l'expression est régulée par l'angiotensine II (**AGII**) [222]. Le gène miR212/132 a une structure équivalente chez toutes les espèces. Les deux gènes miARN sont organisés en tandem sur le chromosome 10 chez le rat, 11 chez la souris et 17 chez l'humain [223]. Le groupe de gènes miR-212/132 produit quatre miARN matures : miR-132, miR-132*, miR-212 et miR-212*. Les séquences miARN et miARN* représentent les deux brins du duplex dérivé du précurseur miARN. Bien qu'ils soient produits en quantités égales par transcription, leur accumulation diffère et dépend des différences de stabilité thermodynamique de l'extrémité 5' de chaque brin [223].

Récemment, des rapports indiquent que miR-132 et miR-212 seraient augmentés dans le cœur, l'aorte et les reins de rats hypertendus, induit par l'AGII, et seraient diminués dans les artères humaines de patients ayant subi un pontage, en réponse au blocage du récepteur AT1 de l'AGII [222].

Dans la fibrose rénale, la plupart des myofibroblastes α SMA activés proviennent de cellules périvasculaires. Bijkerk et ses collègues [224] ont constaté que **le miR-132 était 21 fois plus important lors de la transformation du péricyte en myofibroblastes** chez des souris soumises à l'OUU et que le miR-132 inhibait la diminution de dépôt de collagène et de l'apoptose tubulaire. Une étude plus approfondie a identifié un **rôle limitant pour miR-132 dans la prolifération des myofibroblastes**. Ce rôle de miR-132 dans la régulation de la prolifération cellulaire est sélectif pour le compartiment interstitiel. On a découvert que miR-132 régula de manière coordonnée l'expression de plusieurs gènes impliqués dans les voies STAT3/ERK, la signalisation du TGF- β et la prolifération cellulaire (Foxo3/p300) [224].

Compte tenu de la preuve que MMP-9 est une cible de miR-132 [225], le rôle de celle-ci dans la médiation de l'effet de miR-132 sur la fibrose rénale mérite une attention supplémentaire. Dans l'ensemble, les données disponibles appuient miR-132 comme cible potentielle du traitement antifibrotique dans les cas d'IRC [224].

3.5. MiR-324-3p

Macconi et ses collaborateurs [226] ont analysé le profil d'expression de miARN des glomérules du rat MWF (Munich Wistar Frömter), qui développe spontanément une néphropathie progressive. Ils ont découvert que miR-324-3p était le miARN le plus régulé. Étant donné les effets antifibrotiques notables des IEC, les chercheurs se sont concentrés sur les cibles potentielles de miR-324-3p impliquées dans le métabolisme des peptides pro- ou antifibrogènes, y compris l'angiotensine II (AGII).

Une analyse bio-informatique a indiqué que la prolyl endopeptidase (Prep) était une cible de miR-324-3p impliquée dans la formation de l'AGII [224] [227], qui possède des propriétés néprotectrices, et du peptide antifibrotique AcSDKP. La transfection transitoire de cellules tubulaires en culture avec un mimique de miR-324-3p réduit le taux de protéine Prep ainsi que son activité. Une surexpression de miR-324-3p chez les souris MWF réduit l'expression

de la protéine Prep dans les tubules et les glomérules, il réduit également l'excrétion d'AcSDKP et provoque une augmentation du dépôt de collagène.

Inversement, le traitement avec un IEC régule à la baisse l'expression de miR-324-3p au niveau glomérulaire et tubulaire, augmente l'expression rénale de Prep ainsi que les taux sériques et urinaire d'AcSDKP et atténue la fibrose rénale. Ces **résultats suggèrent que les effets néphroprotecteurs des IEC résultent en partie grâce à la modulation de la voie de miR-324-3p**, ce qui amène à pouvoir considérer miR-324-3p comme cible thérapeutique potentielle de la fibrose rénale [226].

Xu et ses collègues [228] ont découvert que Smad7 est une cible directe de miR-324-3p. Compte tenu du rôle important que Smad7 possède en tant que régulateur négatif de la signalisation TGF- β /Smad3 dans la fibrose rénale (Figure 25), le rôle de miR-324-3p dans l'opposition à Smad7 devrait faire l'objet d'études supplémentaire [229].

4. Les microARNs avec des résultats contradictoires.

4.1. La famille miR-192

Le gène de miR-192, qui est fortement exprimé dans le rein normal, est situé sur le chromosome 11q13.11, plus exactement à 109 paires de bases (pb) en amont de la région codant pour miR-194-2 [230] [231]. Il est possible que miR-192 and miR-194-2 soient régulés comme une unité de transcription commune [231]. Plusieurs études de modèles rénaux de maladies rénales et de lignées cellulaires démontrent le **rôle profibrotique de miR-192 dans les cellules tubulaires et mésangiales du rein** [232 - 235]. De ce fait, Sun et al. [236] ont signalé que l'administration du médicament anticancéreux Taxol® entrave la prolifération cellulaire en modifiant le cytosquelette, ce qui améliore la fibrose dans le modèle de rein restant en abaissant les niveaux de miR-192.

Un lien fonctionnel entre l'augmentation des taux de miR-192 et la fibrose rénale induite par TGF- β 1 est déjà bien documentée [232] [234] [237]. À l'instar de miR-21, miR-192 favorise la fibrose rénale en amplifiant la signalisation du TGF- β (Figure 25). Les glomérules de souris diabétiques montrent une expression accrue de miR-192, soit induit par TGF- β (via Smad3), soit induite par le glucose dans les cellules épithéliales tubulaires [232] [234].

Dans les cellules mésangiales, miR-192 induit l'expression du collagène induite par le TGF- β en régulant négativement l'expression de **Zeb1/2** (Zinc finger E-box-binding homeobox 1 et 2) qui est un facteur de transcription pour la E-cadhérine, une protéine associée aux TEM [234]. Dans les cellules épithéliales tubulaires, l'expression de miR-192 s'intensifie et son inhibition s'oppose à l'expression du collagène [232].

Kato et al. [238] ont fourni la preuve qu'un circuit miARN impliquant miR-192 contrôlait la régulation des taux de TGF- β 1 dans les cellules mésangiales. Les taux de TGF- β 1 ont été augmentés par miR-192 ou miR-200 b/c. Les niveaux de miR-200 b/c ont également été régulés à la hausse par miR-192, ce qui suggère que miR-200 b/c est une cible en aval de miR-192. L'activité du promoteur TGF- β 1 est régulé positivement par TGF- β 1 ou miR-192, démontrant que la cascade miR-192/ miR-200 induit l'expression de TGF- β 1. (Figure 26)

Le TGF- β 1 augmente l'occupation des activateurs, des facteurs de stimulation en amont et de **Tfe3** (Transcription Factor Binding to UGHM Enhancer 3), et diminue l'expression du répresseur Zeb1 sur les sites de liaison du promoteur TGF- β 1. De plus, **les inhibiteurs de miR-192** ont diminué l'expression de miR-200 b/c, Col1a2, Col1a4 et TGF- β 1 dans les cellules mésangiales de souris, notamment grâce à une inhibition de l'expression de Zeb2 (Figure 26). Pour résumer, les circuits régulés par les miARN peuvent amplifier la signalisation du TGF- β 1, accélérant ainsi la progression de la MRC [238].

Il existe également une amplification de rétroaction induite par TGF- β du circuit entre p53 et miR-192 dans les cellules mésangiales de souris, via le miR-192 ciblant Zeb2, impliquée dans la pathogénèse de la néphropathie diabétique. La réduction médiée par miR-192 de Zeb2 a augmenté les niveaux de p53, ce qui a amené à l'expression de miR-192.

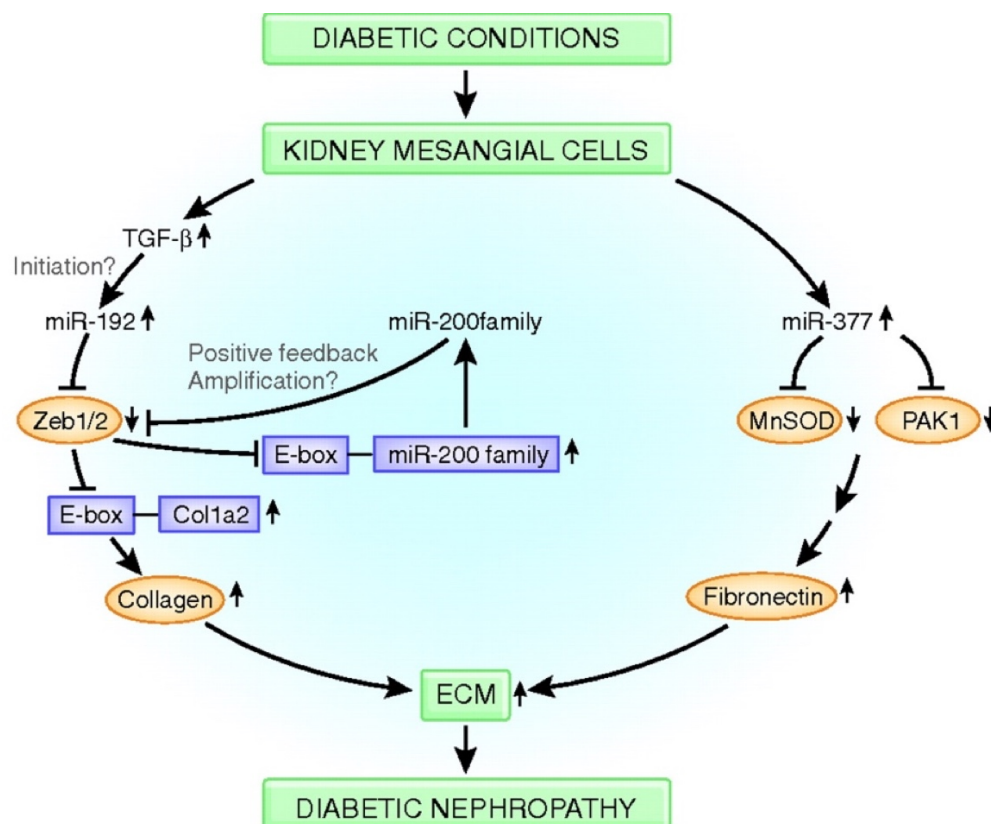


Figure 26 : Représentation schématisée des mécanismes miARN-dépendants pour l'expression de MEC induit par le TGF- β dans la pathogénèse de la néphropathie diabétique. Illustration issue de la publication de Kato et al. [239]

Contrairement à ces rapports, Krupa et al. [237] ont rapporté que la perte de miR-192 favorise la fibrogénèse dans la ND. Cependant, le stade de la maladie peut avoir un impact sur le rôle de miR-192. Pour citer un exemple, Kato et ses collègues [234] ont mis en évidence une régulation à la hausse de l'expression rénale de miR-192 et du Col1a2 chez les types 1 et 2 au stade précoce de modèles murins de diabète. Krupa et al. [237] ont découvert une diminution de l'expression de miR-192 dans des échantillons humains de biopsies rénales de néphropathie diabétique au stade avancé, accompagnée d'une fibrose tubulo-interstitielle.

Jenkins et al. [240] ont rapporté que le TGF- β 1 régule à la baisse les gènes miR-192 et miR-194, qui sont co-transcrits dans le précurseur commun pri-miR-192/194. Ils ont identifié des sites de liaison pour le facteur nucléaire hépatocytaire (**HNF**) et p53 dans la région du promoteur miR-194-2 / 192 requise pour l'activité constitutive, qui était diminuée par TGF- β 1 par le biais d'un mécanisme dépendant de **Alk5** (un récepteur membranaire pour TGF- β 1). Le traitement au TGF- β 1 a diminué la liaison du HNF au promoteur miR-194-2 / 192, alors que l'inactivation de HNF-1 a inhibé l'expression des microARNs matures miR-192 et miR-194 [240].

Dans des cellules tubulaires proximales humaines en culture, l'équipe de Krupa et al. [237] ont également signalé une régulation négative de l'expression de miR-192 et TGF- β 1, alors qu'une expression accrue de ce transcrit réprimait l'expression de Zeb1 et Zeb2, diminuant ainsi la répression de la E-cadhérine et exerçant un effet antifibrotique.

Les résultats contradictoires concernant le rôle de miR-194-2 / 192 dans la fibrose rénale peuvent être attribués à des différences intrinsèques dans les modèles animaux utilisés, les types de cellules, le stade de la maladie étudié et/ou les conditions expérimentales utilisées pour les cellules en culture. Une étude a décrit une induction en 2 phases de miR-192 par TGF- β 1 dans des cellules mésangiales de souris. Celle-ci implique initialement la voie de Smad, suivie d'un mécanisme qui soutient l'expression du miARN en relâchant structure de la chromatine du gène miR-192 par l'**acétylation d'Ets1 et l'histone H3 par Akt p300 activé** [241]. (Figure 27)

Ce mécanisme peut contribuer à la néphropathie diabétique car l'activation de Akt et de p300 (cercle de couleur bleue sur Figure 27) et l'acétylation d'Ets1 et d'histone H3 (cercle jaune) ont augmenté dans les glomérules de souris diabétiques db/db. Dans le rein, l'expression de HNF est limitée au compartiment tubulaire, alors qu'elle est absente dans les cellules mésangiales et les podocytes, ce qui explique en partie la régulation spécifique de miR-192 par les cellules [234]. Une étude plus approfondie du rôle potentiel de miR-192 et des mécanismes qui régulent l'expression de miR-192 au cours de la fibrose rénale chez différentes espèces est nécessaire [242] [243].

MiR-215, qui est situé sur le chromosome 1q41, a la même séquence seed que miR-192. Ils ne diffèrent que de deux nucléotides et mir-215 constitue donc un **autre membre de la famille miR-192** [231] [244] Une publication de Lan et al. [245] rapporte que le miR-215 joue un rôle dans l'inhibition de la prolifération des fibroblastes dans la conjonctive de la surface oculaire. Cela suggère que miR-215 pourrait également contribuer à réduire la fibrose rénale.

Une étude d'Elvira-Matelot et al. [246] suggère l'implication des miARN dans la régulation du transport tubulaire rénal des électrolytes : l'expression de **Wnk1** (with no lysine [K]), une protéine impliquée dans la **régulation du transport rénal d'électrolytes**, pourrait être **modulée par miR-192** dont l'expression est elle-même régulée par les apports de sodium/potassium et l'aldostérone, une hormone-clé du transport rénal de sodium et de potassium.

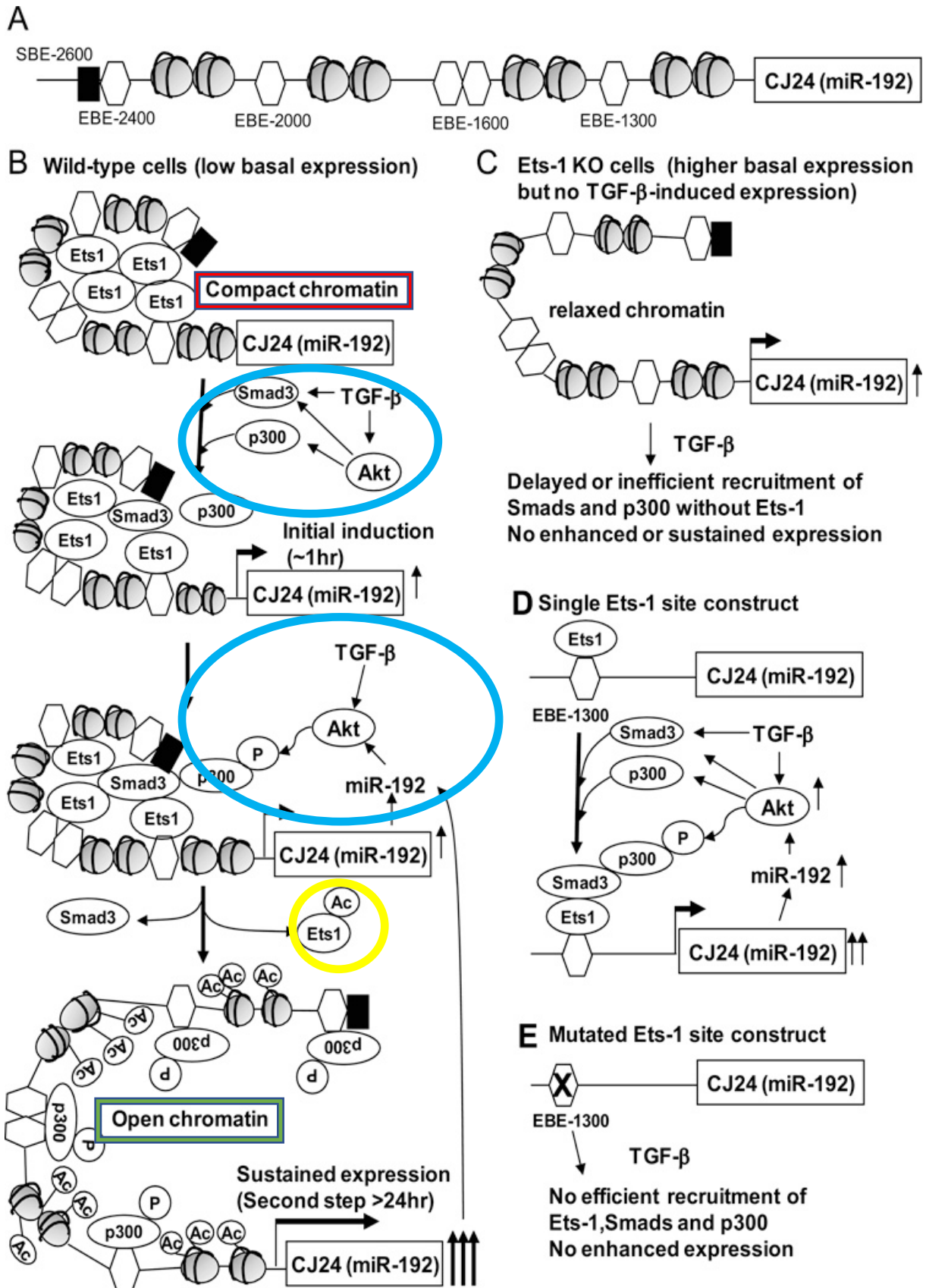


Figure 27 : Modèle proposé pour la régulation progressive de miR-192 dans les MC traitées au TGF- β . Issue de la publication de Kato et al. [241]

4.2. La famille miR-200

La famille miR-200 s'est vue attribuer un rôle dans le maintien de la différenciation des cellules épithéliales, suggérant qu'elle pourrait avoir des effets antifibrotiques dans la ND [247]. Cette famille est composée de cinq membres (**miR-200a**, **miR-200b**, **miR-200c**, **miR-141** et **miR-429**), codés par deux loci génomiques distincts sur le chromosome 1 (miR-200b~200a~429 and miR-200c~141) [248] Les membres de cette famille ont des séquences « graines » très similaires qui reconnaissent la séquence 3'-UTR dans le transcrit cible des gènes régulés. Sur la base de leur séquence graine, les membres de la famille peuvent être classés en deux groupes fonctionnels. Le groupe 1 comprend miR-200b, miR-200c et miR-429 et le groupe 2 comprend miR-200a et miR-141. En raison des différences dans la séquence graine, les deux groupes ont des cibles d'ARNm différentes. [249]

Dans l'étude de Wang et al. [247], ces chercheurs ont observé une régulation à la baisse du groupe 2 (miR-200a et miR-141) dans un échantillon rénal fibrotique de souris. (Figure 28)

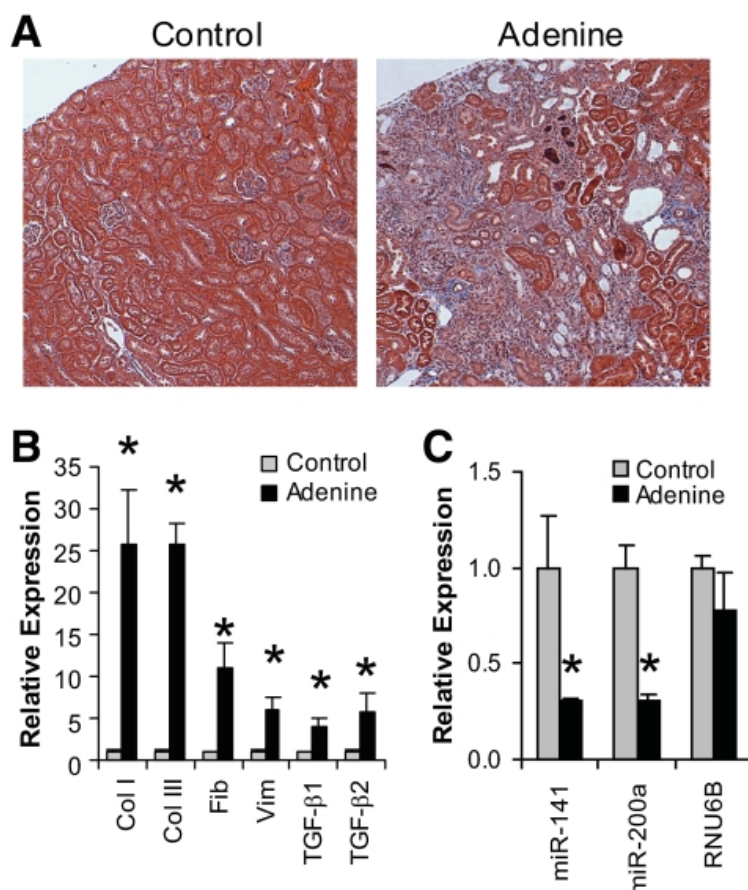


Figure 28 : Modifications de l'expression de miR-141 / 200a dans le rein dans le modèle de fibrose rénale induite par l'adénine. Issu de la publication de Wang et al. [247]

A – Coloration au trichrome de coupes de tissus de cortex rénal de souris témoins et nourries avec de l'adénine après 4 semaines de traitement. La coloration bleue indique des niveaux élevés de collagène dans le rein de souris nourri à l'adénine par rapport au témoin.

B – qPCR en temps réel, révélant une augmentation significative de l'expression du collagène I, du collagène III, de la fibronectine, de la vimentine, du TGF-β1 et du TGF-β2.

C – L'expression accrue de TGF-β1, TGF-β2 et de collagène était associée à une diminution de l'expression de miR-141 et miR-200a

Le mécanisme responsable des effets antifibrotiques de miR-200 peut impliquer la prévention de la TEM dans les pTEC, voie commune dans la fibrose rénale [249]. Tang et ses collaborateurs [250] ont démontré que **miR-200b supprime la TEM induite par le TGF-β1 dans les cellules rénales humaines HK-2** via une augmentation de l'E-cadhérine et une expression réduite de l'ARNm de la fibronectine et de la protéine. Le premier était dû à une diminution de l'expression de Zeb1/Zeb2, tandis que le dernier résultait du ciblage direct de l'ARNm de la fibronectine.

L'expression de Zeb1 et de Zeb2 a augmenté après l'OUU et l'administration du précurseur de miR-200b a bloqué cet effet. Malgré des taux élevés de miR-200b suite à l'OUU, l'apport d'un précurseur de miR-200b améliore la fibrose chez ces souris [251]. Les membres de **la famille miR-200** seraient également **capable de réprimer l'expression de TGF-β2**, ce qui peut inhiber la TEM et la fibrose [252]. Gregory et al. [253] ont également signalé que les membres de la famille miR-200 et miR-205 étaient régulés négativement pendant la TEM, médié par le TGF-β1, dans les cellules rénales MDCK (Madin-Darby Canine Kidney cells), et que l'expression forcée de la famille miR-200 était suffisante pour prévenir la TEM.

En revanche, Kato et al. [238] ont trouvé que la quantité de miR-200b/200c augmente dans les cellules mésangiales de souris traitées avec TGF-β1 in vitro et dans les glomérules obtenus à partir de souris diabétiques. L'augmentation de miR-200b/200c est liée à une expression accrue du collagène via une régulation à la baisse de Zeb1/Zeb2 (Figure 26). Une étude ultérieure a démontré que miR-200b/200c augmente les taux de TGF-β1, créant ainsi une **boucle autorégulatrice** permettant d'amplifier la signalisation du TGF-β1 dans les cas de fibrose rénale chronique [238].

De plus, des rapports antérieurs indiquaient que **Smad3** se liait directement à un SBE (Smad-binding element) dans la région promotrice de miR-200a/200b et fonctionnait comme un activateur de la transcription d'une manière indépendante au TGF-β [227] [254]. Dans les cellules mésangiales traitées au TGF-β1 et dans les glomérules de souris diabétiques db/db, miR-200b et miR-200c ont réprimé l'inhibiteur de la PI3K, **FOG2**, améliorant ainsi la signalisation PI3K/Akt [255].

Ainsi, l'expression induite par le TGF-β1 de miR-192 active la famille miR-200 car, comme vu précédemment avec l'étude de Kato et al. [238], miR-200 b/c est une cible en aval de miR-92. Cela va mener à l'activation de l'Akt (Figure 27), à l'hypertrophie et à la fibrose rénale dans les cellules mésangiales.

5. Autres microARNs impliqués dans la fibrose rénale

5.1. MiR-146a et miR-146b-5p

Il a été signalé que **miR-146a inhibe l'inflammation en supprimant la signalisation de NF-κB** en ciblant des ARNm tels que le facteur 6 associé au récepteur du facteur de nécrose tumorale (**TRAF6**), la kinase 1 associée au récepteur de l'interleukine-1 (**IRAK1**) et le **TLR4** [256]. La surexpression de miR-146a inhibe la fibrose rénale, l'expression de l'α-SMA ainsi que l'infiltration de macrophages dans un modèle de souris OUU [257]. Le miR-146a aurait donc une action **antifibrotique**. En outre, miR-146a inhibe les voies de signalisation du TGF-

β 1/Smad et du TRAF6/ NF- κ B (comme vu juste avant), notamment dans un modèle de néphropathie lupique murin [258].

Ces résultats suggèrent que miR-146a atténue la fibrose en inhibant les voies de signalisation profibrotique et inflammatoire et pourrait donc constituer une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement de la fibrose rénale [257]. Cependant, une expression accrue de miR-146a a été observée dans des échantillons de rein prélevés chez des patients atteints de néphropathie diabétique [259]. De plus, la régulation à la hausse de miR-146a dans le rein de rats diabétiques induit par STZ ne s'est pas accompagnée d'une régulation à la baisse des médiateurs inflammatoires, suggérant un **éventuel défaut de la boucle inhibitrice à médiation par miR-146a dans le diabète** permettant une activation prolongée de NF- κ B [260].

Récemment, il a été signalé que miR146a est également lié au processus inflammatoire dans les lésions rénales aiguës. Il est régulé positivement dans les états inflammatoires par l'activation de NF- κ B par interleukine-1 (IL-1) in vitro sur des pTEC en culture [261]. Ces découvertes récentes indiquent que les mécanismes dépendant de ce microARN ne sont pas tous élucidés et que des recherches ultérieures sont à mener.

Sheng ZX et al. [262], dans une étude récente, ont montré que **miR-146b-5p** jouait un rôle protecteur dans la réduction des taux d'interleukines pro-inflammatoires 6 et 8 (**IL-6** et **IL-8**) dans les cellules mésangiales et glomérulaires de souris atteints de néphropathie lupique.

5.2. MiR-34

Morizane et ses collègues [254] ont démontré que la surexpression de **miR-34c** diminuait la fibrose rénale et l'expression de l' α -SMA, du CTGF, des collagènes I et III et de la fibronectine chez la souris ayant subi une OUU. De plus, ils ont découvert que la surexpression de miR-34c atténue la TEM, induite par le TGF- β , dans une lignée cellulaire tubulaire de souris. Ils ont émis l'hypothèse que la fibrose rénale améliorée par miR-34c par suppression de la voie **Notch/Jag1**, bien qu'une relation directe entre miR-34c et Jag1 n'ait pas été démontrée [254]. MiR-34c pourrait également être une nouvelle cible pour le traitement de la fibrose rénale.

Une étude réalisée sur un modèle expérimental de lésions rénales aiguës, induite par la cisplatine, chez la souris a montré que **miR-34** avait une **action profibrotique** car il est impliqué dans la **régulation positive du Foxo3** [263].

5.3. MiR-216a

Dans les cellules mésangiales de souris, TGF- β 1 régule à la hausse l'expression de Col1a2 associée à l'expression élevée de miR-216a [264]. Cet effet serait médié par la régulation à la hausse post-transcriptionnelle de **Tsc22** (TGF- β -stimulated clone-22), une protéine modulatrice d'apoptose, en raison de l'atténuation des actions inhibitrices de la protéine de liaison à l'ARN **Ybx1** dans les P-bodies. Ybx1 s'est avéré être une **cible spécifique de miR-216a**. (Figure 29)

Parallèlement, avec la suppression des actions inhibitrices de Zeb1 sur le promoteur Col1a2, l'interaction Tsc22 avec le facteur de transcription E3 (**Tfe3**) augmente l'expression de de

Col1a2 dans le diabète. Conformément à ce modèle, une augmentation de Tsc22 a été observée dans les os des souris diabétiques db/db [264]. (Figure 30)

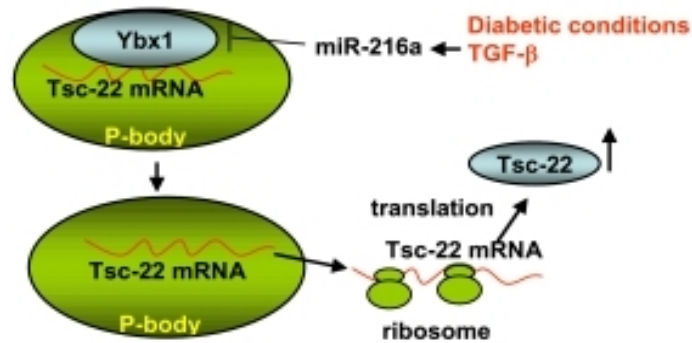


Figure 29 : Modèle schématique de la régulation à la hausse de la traduction de Tsc-22 par le TGF-β ou des conditions diabétiques. Illustration issue de l'étude de Kato et al. [264]

La diminution de Ybx1 par miR-216a libère l'ARNm de Tsc-22 à partir du « Process-body », conduisant à l'amélioration de la traduction de Tsc-22.

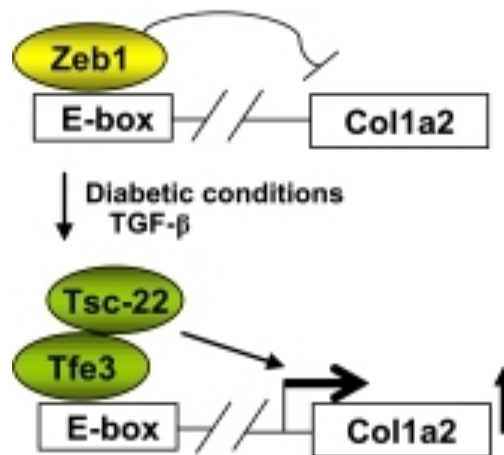


Figure 30 : modèle schématique d'activation du promoteur Col1a2 en réponse au TGF-β. Illustration issue de l'étude de Kato et al. [264]

En l'absence de TGF-β, Zeb1 occupe les boîtes E situées dans la région très en amont du gène Col1a2 et inhibe la transcription. Le traitement par TGF-β ou les conditions diabétiques inhibent Zeb1 mais augmentent Tfe3 et Tsc-22. Le complexe Tfe3-Tsc-22 se lie à son tour aux boîtes E du gène Col1a2 et améliore la transcription.

5.4. MiR-382

Il a été démontré que la fibrose interstitielle rénale induite par l'OUU chez la souris était associée à la régulation à la hausse de miR-382, qui cible la **kallikréine 5**, une enzyme impliquée dans la dégradation de plusieurs protéines de la MEC [265]. L'administration intraveineuse d'un **anti-miR-382** empêche la diminution de l'expression de la protéine

kallikréine 5 et réduit la fibrose de la médulla interne. De plus, les effets protecteurs du traitement anti-miR-382 ont été éliminés par neutralisation de la kallikréine 5 rénale.

Des travaux antérieurs avaient montré que miR-382 était régulé positivement par TGF-β1 dans les cellules épithéliales rénales humaines et contribuait à la TEM [266]. Cette action de miR-382 était liée à la diminution de la superoxyde dismutase 2 (SOD2). Ainsi, plus d'un processus sous-tend les actions profibrotiques de miR-382 dans les reins.

5.5. MiR-503

Une étude récente de Mann et al. [267] a mis en évidence le miR-503, un régulateur de l'expression de **KCNN4** (potassium calcium-activated channel subfamily member 4), un canal potassique calcium-dépendant dont l'expression est **régulée positivement dans les reins fibrotiques**. Pendant le processus de fibrose, on observe une régulation à la hausse de KCNN4 dans les fibroblastes stimulés. Un blocage génétique et pharmacologique de KCNN4, via le miR-503 pourrait inhiber la fibrose [267].

6. Les nouvelles stratégies antifibrotiques potentielles utilisant les microARNs

La connaissance croissante du rôle des miARN dans la régulation des voies profibrotiques dans diverses maladies rénales a suscité l'intérêt pour le développement d'agents bloquant les miARN pathogènes ou rétablissant les niveaux de miARN recombinés. La grande majorité des aspects de la signalisation du TGF-β qui sont impliqués dans la fibrose rénale sont régulés par les miARNs (Figure 31). De plus en plus de preuves indiquent que les miARNs sont à la fois des acteurs en aval du processus fibrotique dépendant de TGF-β et aussi des régulateurs en amont de ce même processus. [165] Les boucles de rétroaction entre le TGF-β et les miARN ont mis davantage l'accent sur l'utilisation de thérapies à base de miARN pour le traitement de l'insuffisance rénale.

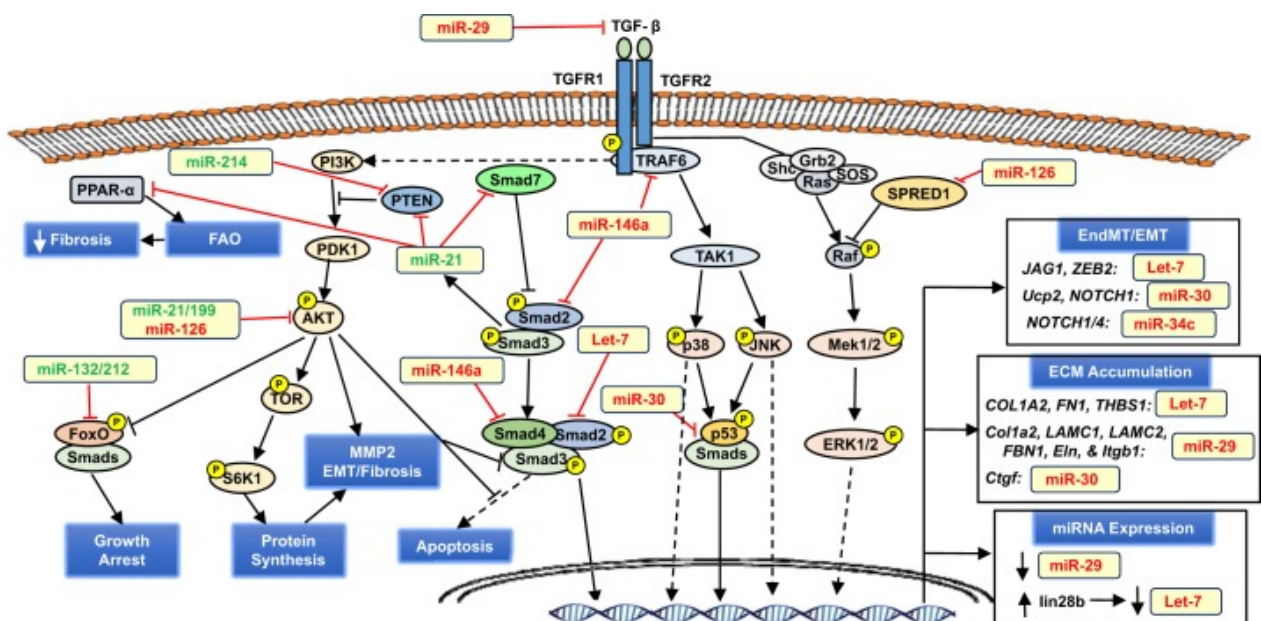


Figure 31 : Modèle schématique des mécanismes impliquant les microARNs et la signalisation du TGF- β dans la fibrose rénale dépendante de TGF- β . Illustration issue de la publication de Lv et al. [268]

Les miARN antifibrotiques sont colorés en rouge, les profibrotiques sont de couleur verte. Les miARN pro- et antifibrotiques majeurs impliqués dans la signalisation du TGF- β dans le rein. TGF- β est l'élément principal dans l'initiation et la progression de la fibrose rénale en menant la TEndM et la TEM, ainsi que le remodelage de la MEC et l'accumulation de protéines. Les voies de signalisation canoniques (dépendantes de Smad) et non canoniques (MAPK et AKT) sont impliquées et ciblées par divers microARNs qui favorisent ou s'opposent de manière générale à la fibrose.

Cependant, au vu du large éventail de cibles, il est peu probable qu'un miARN particulier soit strictement anti- ou profibrotique. De plus, le même gène cible peut avoir des actions contradictoires. Dans le cas de **Zeb2**, bien qu'il soit impliqué dans le processus de la TEM via en partie la répression de E-cadhérine, il est aussi impliqué dans la répression de l'expression du TGF- β . Des actions en conflit sont également signalées pour la cascade de signalisation ERK, impliquée dans la TEndM et TEM mais inhibant également les récepteurs Smad.

6.1. Les oligonucléotides anti-miARN

En raison de leurs caractéristiques distinctes, telles que la séquence courte et l'homologie inter-espèces, les microARNs matures sont des candidats intéressants comme agents thérapeutiques potentiels. La manipulation de l'activité de miARNs spécifiques dans le rein a été réalisée par l'administration d'inhibiteurs pour bloquer la fonction de miARN ou De mimer celui-ci pour restaurer les niveaux de miARNs. De nombreux miARN sont activés par le stress (lésion rénale aigue par exemple) et semblent être inactifs dans les cellules saines, ce qui constitue un avantage thérapeutique pour élaborer des traitements sûrs qui ciblent les miARN. Les oligonucléotides d'ARN se distribuent largement dans tout le corps et accèdent aux compartiments intracellulaires. Cependant, les **oligonucléotides anti-miARN** s'accumulent dans les reins et le foie après une administration systémique, ce qui les rend idéaux pour le traitement de la fibrose rénale.

Il est à noter que les glomérules sains ne prennent pas les oligonucléotides anti-miARN, mais les podocytes et autres cellules dans les glomérules endommagés, ce qui indique que le traitement par oligonucléotides anti-miARN peut être bénéfique pour les maladies rénales ainsi que tubulo-interstitielle [269].

Cependant, plusieurs limites, comme les problèmes de sécurité et les méthodes d'administration, doivent être surmontés avant que les traitements à base de miARN pour l'insuffisance rénale chronique puissent être traduits en pratique clinique. Idéalement, le miARN cible devrait être spécifique au rein pour éviter des effets indésirables sur d'autres tissus et organes. Pour minimiser les effets secondaires, le traitement ne devrait affecter qu'une cible cellulaire (ou des cibles agissant dans le même trajet).

Des études récentes ont identifié les cibles de miARN particuliers dans des cellules et des tissus par diverses techniques, telles que la précipitation de complexes de silençage induits par l'ARN (RISC), incorporant un miARN spécifique, ont montré qu'un miARN avait fréquemment plus de 100 cibles [208]. Le plus souvent, beaucoup de ces autres cibles sont modérément réduits au silence par le miARN, bien que de nombreux gènes cibles soient fonctionnellement liés.

6.2. Les mimiques de miARN

Parallèlement avec la découverte du silençage génique basé sur l'ARN, et le développement des oligonucléotides anti-miR capables de pénétrer dans les cellules après une administration systémique pour supprimer la traduction. Des efforts similaires ont été faits pour générer des **copies de miARN**. Bien que les microARNs soient généralement résistants avec une longue demi-vie, ils peuvent subir une détérioration rapide dans des contextes cellulaires spécifiques [145]. Plusieurs progrès ont été réalisés pour améliorer la stabilité de l'ARN in vivo par modification moléculaire du squelette [208].

Bien que ces mimiques aient été largement utilisées dans des cellules en culture in vitro, leur usage en tant que médicaments potentiels n'a pas abouti du fait de l'administration et de la sélectivité pour l'organe cible. Ces limitations ont été partiellement surmontées (Figure 32), par une administration ciblée ou en utilisant des vecteurs contenant des promoteurs spécifiques du rein [145].

L'administration de médicaments à base d'antisens pourrait également bénéficier des **systèmes d'administration à base de nano-particules**, car les agents hydrophiles ne peuvent pas traverser les membranes cellulaires. Le transfert de gènes à l'aide de **microbulles** et d'**ultrasons** a également été expérimenté pour délivrer des plasmides produisant divers miARN dans les reins de mammifères. Les ultrasons à haute intensité provoquent une oscillation des microbulles, amenant à la libération d'agents thérapeutiques attachés aux microbulles ou contenus dans celles-ci [270] [271].

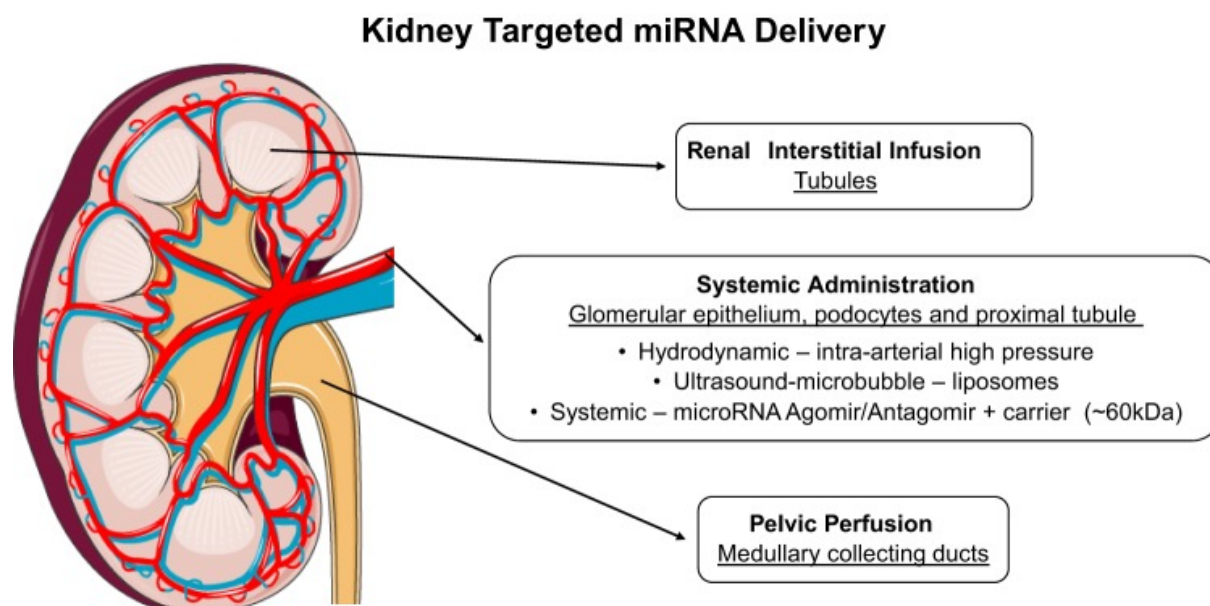


Figure 32 : Illustration de stratégies d'administration pour le ciblage intra rénal de miARN. Issue de la publication de Lv et al. [268]

6.3. Autres techniques

En plus des anti-miR et des mimiques, l'inhibition des miARN peut être obtenue en exprimant des **séquences miARN cibles** capables de capturer des microARNs pathogènes (**éponges miARN**) ou par des plasmides d'ARN en épingle à cheveux qui annulent l'expression des miARNs par interférence d'ARN [145]. Une suppression efficace peut également être obtenue en utilisant des **oligonucléotides complémentaires de l'extrémité 3'-UTR des ARNm cibles ou à la séquence des miARN eux-mêmes**. Plusieurs études sont menées à propos du potentiel des cibles de miARN sélectionnées sur la base de leur fonction connue dans la fibrose.

6.4. Conclusion

Le cumul de ces recherches démontre l'intérêt des miARNs dans le traitement de la maladie rénale chronique. Leur absence de toxicité chez les animaux en fait des candidats prometteurs mais il reste à confirmer la transposabilité de ces résultats chez l'être humain. Une avancée de phase II de l'essai clinique concernant l'hépatite C chronique traitée par un anti-miR-122 (Miravirsen©) représente une étape importante dans la mise au point des thérapies ciblant les miARN. [272 – 274]

Cependant, le potentiel de cibler des miARN en tant que traitement antifibrotique efficace n'a été démontré que dans des modèles expérimentaux de néphropathie chronique. Comme la plupart des miARN sont hautement pléiotropes et agissent différemment selon le type de cellules, un seul miARN ne peut pas être en mesure d'inverser le processus de fibrose rénale. Au contraire, un **complexe de miARN ou d'anti-miARN** ciblant différents points du processus fibrotique pourrait être plus efficace.

L'administration in vivo de mimiques ou d'inhibiteurs de miARN est devenue une stratégie thérapeutique prometteuse pour le traitement de la néphropathie congénitale. Une transfection rénale réussie a été réalisée chez l'animal par injection intra-péritonéale, intraveineuse ou sous-cutanée de mimiques ou d'inhibiteurs ou, le plus souvent, par injection intraveineuse de plasmides exprimant des miARNs ou des ARNs en tête d'épingle. [145]

On peut penser que plusieurs agents ciblant divers miARN entreront dans les phases d'essais cliniques dans les années à venir et que de nouvelles thérapies fondées sur cette approche entreront dans la pratique clinique à l'avenir.

Conclusion

Les microARNs se sont imposés comme acteurs incontournables dans la régulation génique. L'identification et l'étude de nouveaux microARNs affine la compréhension de la physiologie cellulaire notamment dans diverses pathologies.

Les voies physiopathologiques menant à la fibrose rénale ne dépendent pas toutes des Smad comme celle de miR-214, ce qui rend les mécanismes de progression de la fibrose plus complexes mais cela élargi le champ de recherche pour détecter et soigner les complications de la maladie rénale chronique. En ce qui concerne la nature du microARN, on peut évoquer sa capacité à pouvoir agir par plusieurs mécanismes, à se lier à plusieurs cibles et la nature de l'ARNm à pouvoir être cibler par plusieurs microARNs. L'ensemble de ces informations nous indiquent que la régulation génique devient plus ouverte et aussi plus précise.

La plupart des microARNs cités sont issus d'études sur la néphropathie diabétique facilement reproductible, cependant, hormis les expériences comprenant un milieu de culture glucosé, les résultats peuvent être appliqués de manière générale au procédé commun de toutes les étiologies de la maladie rénale chronique, la transition épithélio-mésenchymateuse.

Les études se concentrant sur l'implication des microARNs dans les pathologies rénales évoquent une dérégulation de ces miRs qui serait la cause de ces pathologies. On en déduit un usage diagnostique en tant que biomarqueur pour la détection et le suivi de la fibrose rénale en raison de leur présence dans les fluides corporels et de leur absence de toxicité. Il est à noter que d'après les résultats observés, le microARN n'est pas assez spécifique pour constituer à lui seul un biomarqueur viable mais peut compléter efficacement un ensemble de paramètres déjà bien documentés.

L'usage médical est également envisagé puisque l'avancée des recherches a permis d'élaborer des solutions thérapeutiques notamment les oligonucléotides anti-miR21, cependant les recherches dans ce domaine sont encore très récentes et restent au stade préclinique.

Références

1. Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. Elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75:843–854. doi: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y.
2. Wightman B., Ha I., Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. Elegans*. *Cell*. 1993;75:855–862. doi: 10.1016/0092-8674(93)90530-4.
3. Olsen PH, Ambros V. The *lin-4* regulatory RNA controls developmental timing in *Caenorhabditis elegans* by blocking LIN-14 protein synthesis after the initiation of translation. *Dev Biol*. 1999;216(2):671–80.
4. Moss EG, Lee RC, Ambros V. The cold shock domain protein LIN-28 controls developmental timing in *C. elegans* and is regulated by the *lin-4* RNA. *Cell*. 1997;88:637–646. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81906-6.
5. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000;403:901–906.
6. Lee R.C., Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 2001;294:862–864. doi: 10.1126/science.1065329.
7. Moran Y., Agron M., Praher D., Technau U. The evolutionary origin of plant and animal microRNAs. *Nat. Ecol. Evol*. 2017;1:27. doi: 10.1038/s41559-016-0027.
8. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, Hayward DC, Ball EE, Degan B, Müller P, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*. 2000;408:86–89. doi: 10.1038/35040556.
9. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. (2001) Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 294: 853–858. doi: 10.1126/science.1064921
10. Moore C. B., Guthrie E. H., Huang M. T., Taxman D. J. (2010). Short hairpin RNA (shRNA): design, delivery, and assessment of gene knockdown. *Methods Mol. Biol.* 629 141–158. doi: 10.1007/978-1-60761-657-3_10
11. Elbashir SM, Lendeckel W, Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs. *Genes Dev*. 2001;15:188–200.
12. Griffiths-Jones S. miRBase: the microRNA sequence database. *Methods Mol Biol*. 2006;342:129–138. doi: 10.1385/1-59745-123-1:129.
13. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, Aldler H, Rattan S, Keating M, Rai K, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes *miR15* and *miR16* at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:15524–15529.
14. Saini H.K., Griffiths-Jones S., Enright A.J. Genomic analysis of human microRNA transcripts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007;104:17719–17724. doi: 10.1073/pnas.0703890104.
15. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nature Rev Mol Cell Biol*. 2009;10:126–39.
16. Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annu Rev Plant Biol*. 2006;57:19–53. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105218.
17. Lorenzen JM, Haller H, Thum T. MicroRNAs as mediators and therapeutic targets in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2011;7:286–294.

18. Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell*. 2006;11:441–450.
19. Papadopoulos T, Belliere J, Bascands JL, et al. miRNAs in urine: a mirror image of kidney disease? *Expert Rev Mol Diagn*. 2015;15:361–374.
20. Zhou X, Ruan J, Wang G, Zhang W. Characterization and identification of microRNA core promoters in four model species. *PLoS Comput Biol*, 3 (2007), p. e37, doi: 10.1371/journal.pcbi.0030037
21. Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013;14:475–488. doi: 10.1038/nrm3611.
22. Zeng Y., Cullen B. R. (2005). Efficient processing of primary microRNA hairpins by Drosha requires flanking nonstructured RNA sequences. *J. Biol. Chem.* 280, 27595–27603. doi: 10.1074/jbc.M504714200
23. Yeom KH, Lee Y, Han JJ, Suh MR, Kim VN. Characterization of DGCR8/Pasha, the essential cofactor for Drosha in primary miRNA processing. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(16):4622–4629. doi: 10.1093/nar/gkl458.
24. Landthaler M, Yalcin A, Tuschl T. The human DiGeorge syndrome critical region gene 8 and its Drosophila homolog are required for miRNA biogenesis. *Curr Biol* 2004;14:2162–7.
25. Han J, et al. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev*. 2004;18:3016–3027. doi: 10.1101/gad.1262504.
26. Lee Y, Han J, Yeom KH, Jin H, Kim VN. Drosha in primary microRNA processing. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2006;71:51–57.
27. Maud Contrant. Etude de la régulation de l'expression des microARN de l'herpesvirus associé au sarcome de Kaposi. *Cancer*. Université de Strasbourg, 2014. Français. <NNT: 2014STRAJ046>. <tel-01240699>
28. Han J, Lee Y, Yeom KH, Nam JW, Heo I, Rhee JK, et al. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*. 2006;125(5):887–901. doi: 10.1016/j.cell.2006.03.043
29. Okamura K., Hagen J.W., Duan H., Tyler D.M., Lai E.C. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in Drosophila. *Cell*. 2007; 130:89–100.
30. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*. 2007;448:83–86.
31. Martin R., Smibert P., Yalcin A., Tyler D. M., Schaefer U., Tuschl T. and Lai E. C. (2009). A Drosophila pasha mutant distinguishes the canonical microRNA and mirtron pathways. *Mol. Cell. Biol.* 29, 861-870. doi: 10.1128/MCB.01524-08
32. Bitton DA, Rallis C, Jeffares DC, Smith GC, Chen YYC, Codlin S, Marguerat S and Bahler J (2014) LaSSO, a strategy for genome-wide mapping of intronic lariats and branch points using RNA-seq. *Genome Res*, 24, 1169–1179
33. Huang XA, Lin H.s The miRNA regulation of stem cells. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*. 2012;1(1):83–95.
34. Bohnsack M.T., Czaplinski K., Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA*. 2004;10:185–191. doi: 10.1261/rna.5167604.
35. Lund E., Guttinger S., Calado A., Dahlberg J. E., Kutay U. (2004). Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 303, 95–98. 10.1126/science.1090599

36. Yi R., Qin Y., Macara I. G., Cullen B. R. (2003). Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev.* 17, 3011–3016. doi: 10.1101/gad.1158803
37. Lund E., Dahlberg J.E. Substrate selectivity of exportin 5 and Dicer in the biogenesis of microRNAs. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2006;71:59–66.
38. Yang W.J., Yang D.D., Na S., Sandusky G.E., Zhang Q., Zhao G. Dicer is required for embryonic angiogenesis during mouse development. *J. Biol. Chem.* 2005;280:9330–9335.
39. Zeng Y., Cullen B. R. (2005). Efficient processing of primary microRNA hairpins by Drosha requires flanking nonstructured RNA sequences. *J. Biol. Chem.* 280, 27595–27603. doi: 10.1074/jbc.M504714200
40. Podolska K., Sedlak D., Bartunek P., Svoboda P. (2014). Fluorescence-based high-throughput screening of dicer cleavage activity. *J. Biomol. Screen.* 19, 417–426. doi: 10.1177/1087057113497400
41. Ro S., Park C., Young D., Sanders K.M., Yan W. Tissue-dependent paired expression of miRNAs. *Nucleic Acids Res.* 2007;35:5944–5953. doi: 10.1093/nar/gkm641.
42. Schwarz DS, et al. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell.* 2003;115:199–208. doi: 10.1016/S0092-8674(03)00759-1.
43. Miyoshi T, Takeuchi A, Siomi H, Siomi MC. 2010. A direct role for Hsp90 in pre-RISC formation in *Drosophila*. *Nat Struct Mol Biol* 17: 1024–1026. 10.1038/nsmb.1875
44. Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K, Shiekhattar R. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature* 2005; 436:740-4; PMID:15973356; <http://dx.doi.org/10.1038/nature03868>
45. Lingel A., Simon B., Izaurralde E., Sattler M. (2003). Structure and nucleic-acid binding of the *Drosophila* Argonaute 2 PAZ domain. *Nature* 426 465–469. 10.1038/nature02123
46. Parker JS, Roe SM, Barford D. 2004. Crystal structure of a PIWI protein suggests mechanisms for siRNA recognition and slicer activity. *EMBO J* 23:4727–4737. doi:10.1038/sj.emboj.7600488.
47. Willkomm S., Zander A., Gust A., Grohmann D. A prokaryotic twist on argonaute function. *Life (Basel)*. 2015; 5:538–553.
48. Kok KH, Ng M, Ching Y, Jin D. (2007). TRBP and PACT directly interact with each other and associate with Dicer to facilitate the production of small interfering RNA. *J Biol Chem* , 17649–17657.
49. Lee Y, Hur I, Park SY, Kim YK, Suh MR, Kim VN. The role of PACT in the RNA silencing pathway. *EMBO J.* 2006;25:522–32.
50. Wang HW, Noland C, Siridechadilok B, Taylor DW, Ma E, Felderer K, et al. Structural insights into RNA processing by the human RISC-loading complex. *Nat Struct Mol Biol.* 2009;16:1148–53.
51. Meister G, Landthaler M, Patkaniowska A, Dorsett Y, Teng G, et al. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs. *Mol Cell.* 2004;15:185–197. doi: 10.1016/j.molcel.2004.07.007.
52. Winter, J., Jung, S., Keller, S., Gregory, R.I., & Diederichs, S. 2009. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol*, 11, (3) 228-234.
53. Papageorgiou I, Court MH. Identification and validation of the microRNA response elements in the 3' -untranslated region of the UDP glucuronosyltransferase (*UGT*) 2B7

- and *2B15* gene by a functional genomics approach, *Biochem. Pharmacol.* (2017), doi: 10.1016/j.bcp.2017.09.013
54. Brennecke J, Stark A, Russell RB, Cohen SM. (2005) Principles of microRNA-target recognition. *PLoS Biol* 3: e85 10.1371/journal.pbio.0030085
 55. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell.* 2005;120(1):15–20.
 56. Mallory A. C., Reinhart B. J., Jones-Rhoades M. W., Tang G., Zamore P. D., Barton M. K., et al. (2004). MicroRNA control of *PHABULOSA* in leaf development: importance of pairing to the microRNA 5' region. *EMBO J.* 23 3356–3364. 10.1038/sj.emboj.7600340
 57. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: Are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* 2008;9:102–114. doi: 10.1038/nrg2290.
 58. Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: MicroRNAs can up-regulate translation. *Science.* 2007;318:1931–1934. doi: 10.1126/science.1149460.
 59. Ørom U.A., Nielsen F.C., Lund A.H. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation. *Mol. Cell.* 2008;30:460–471.
 60. Grimson A., Farh K.K., Johnston W.K., Garrett-Engele P., Lim L.P., Bartel D.P. MicroRNA targeting specificity in mammals: Determinants beyond seed pairing. *Mol. Cell.* 2007;27:91–105. doi: 10.1016/j.molcel.2007.06.017.
 61. Aleman L.M., Doench J., Sharp P.A. Comparison of siRNA-induced off-target RNA and protein effects. *RNA.* 2007;13:385–395. doi: 10.1261/rna.352507.
 62. Kertesz M, Iovino N, Unnerstall U, Gaul U, Segal E (2007) The role of site accessibility in microRNA target recognition. *Nat Genet* 39: 1278–1284. 10.1038/ng2135
 63. Kong YW, Cannell IG, de Moor CH, Hill K, Garside PG, Hamilton TL, Meijer HA, Dobbyn HC, Stoneley M, Spriggs KA, et al. The mechanism of micro-RNA-mediated translation repression is determined by the promoter of the target gene. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:8866–8871. doi: 10.1073/pnas.0800650105.
 64. Brodersen P, Voinnet O. Revisiting the principles of microRNA target recognition and mode of action. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10:141–148. doi: 10.1038/nrm2619
 65. Pasquinelli AE. MicroRNAs and their targets: Recognition, regulation and an emerging reciprocal relationship. *Nat Rev Genet.* 2012;13:271–282. doi: 10.1038/nrg3162.
 66. Humphreys DT, Westman BJ, Martin DIK, Preiss T. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly(A) tail function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005;102:16961–6. doi: 10.1073/pnas.0506482102.
 67. Pillai R.S., Bhattacharyya S.N., Artus C.G., Zoller T., Cougot N., Basyuk E., Bertrand E., Filipowicz W. Inhibition of translational initiation by Let-7 MicroRNA in human cells. *Science.* 2005;309:1573–1576.
 68. Kiriakidou M., Tan G.S., Lamprinaki S., De Planell-Saguer M., Nelson P.T., Mourelatos Z. An mRNA m7G cap binding-like motif within human Ago2 represses translation. *Cell.* 2007; 129:1141–1151.
 69. Mathonnet G., Fabian M.R., Svitkin Y.V., Parsyan A., Huck L., Murata T., Biffo S., Merrick W.C., Darzynkiewicz E., Pillai R.S. et al. MicroRNA inhibition of translation initiation in vitro by targeting the cap-binding complex eIF4F.
 70. Chendrimada TP, Finn KJ, Ji X, Baillat D, Gregory RI, Liebhaber SA, Pasquinelli AE, Shiekhattar R. MicroRNA silencing through RISC recruitment of EIF6. *Nature.* 2007;447:823–828.

71. Petersen C. P., Bordeleau M. E., Pelletier J., Sharp P. A. (2006). Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Mol. Cell.* 21 533–542.
72. Nottrott S., Simard M. J., Richter J. D. (2006). Human let-7a miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 13 1108–1114.
73. Guo H., Ingolia N. T., Weissman J. S., Bartel D. P. (2010). Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels.
74. Giraldez AJ, et al. Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs. *Science.* 2006;312:75–79. doi: 10.1126/science.1122689.
75. Parker R, Sheth UP. Bodies and the Control of mRNA Translation and Degradation. *Mol. Cell.* 2007;25:635–646. doi: 10.1016/j.molcel.2007.02.011.
76. Eulalio A., Behm-Ansmant I., Schweizer D., Izaurralde E. P-body formation is a consequence, not the cause, of RNA-mediated gene silencing. *Mol. Cell Biol.* 2007; 27:3970–3981.
77. Macfarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr. Genomics.* 2010;11:537–561.
78. Ryan B. M., Robles A. I., Harris C. C., Genetic variation in microRNA networks: The implications for cancer research. *Nat. Rev. Cancer* 10, 389–402 (2010).
79. Liu C, et al. MirSNP, a database of polymorphisms altering miRNA target sites, identifies miRNA-related SNPs in GWAS SNPs and eQTLs. *BMC genomics.* 2012;13(1):661.
80. Saunders M.A., Liang H., Li W.H. Human polymorphism at microRNAs and microRNA target sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007;104:3300–3305. doi: 10.1073/pnas.0611347104.
81. Quach H., Barreiro L. B., Laval G., Zidane N., Patin E., Kidd K. K., Quintana-Murci L. (2009). Signatures of purifying and local positive selection in human miRNAs. *Am. J. Hum. Genet.* 84, 316–327. 10.1016/j.ajhg.2009.01.022
82. Diederichs S, Haber DA. Sequence variations of microRNAs in human cancer: alterations in predicted secondary structure do not affect processing. *Cancer Res* 2006;66:6097–104.
83. Duan R, Pak C, Jin P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA. *Hum Mol Genet.* 2007;16:1124–31. doi: 10.1093/hmg/ddm062.
84. Hu Z, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, et al. . Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Investig.* (2008) 118:2600–8. 10.1172/JCI34934
85. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, Iorio MV, Visone R, Sever NI, Fabbri M, et al. A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2005;353:1793–1801. doi: 10.1056/NEJMoa050995.
86. Vanin EF. Processed pseudogenes: characteristics and evolution. *Annual review of genetics.* 1985;19:253–272.
87. Gao W.L., Liu M., Yang Y.Y., Yang H.X., Liao Q.P., Bai Y., Li Y.X., Li D., Peng C., Wang Y.L. The imprinted H19 gene regulates human placental trophoblast cell proliferation via encoding miR-675 that targets Nodal Modulator 1 (NOMO1) RNA Biol. 2012;9:1002–1010. doi: 10.4161/rna.20807.
88. Keniry A., Oxley D., Monnier P., Kyba M., Dandolo L., Smits G., Reik W. The H19 lincRNA is a developmental reservoir of miR-675 that suppresses growth and Igf1r. *Nat. Cell Biol.* 2012;14:659–665. doi: 10.1038/ncb2521.

89. Kallen A. N., Zhou X. B., Xu J., Qiao C., Ma J., Yan L., et al. (2013). The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs. *Mol. Cell* 52 101–112. doi:10.1016/j.molcel.2013.08.027
90. Cesana M, et al. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. *Cell*. 2011;147:358–369. doi: 10.1016/j.cell.2011.09.028.
91. Poliseno L., Salmena L., Zhang J., Carver B., Haveman W. J., Pandolfi P. P. (2010). A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature* 4651033–1038. doi:10.1038/nature09144
92. Xing M. Genetic alterations in the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway in thyroid cancer. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2010;20:697–706.
93. Johnsson P, Ackley A, Vidarsdottir L, et al. A pseudogene long-noncoding-RNA network regulates PTEN transcription and translation in human cells. *Nat Struct Mol Biol*. 2013;20(4):440–446. doi:10.1038/nsmb.2516
94. HAS [en ligne]. Guide du parcours de soins – Maladie Rénale Chronique de l’adulte. Février 2012 [consulté le 03 avril 2019]. Disponible sur : https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-04/guide_parcours_de_soins_mrc_web.pdf
95. Keane & Eknoyan (1999) Keane WF, Eknoyan G. Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): a position paper of the national kidney foundation. *American Journal of Kidney Diseases*. 1999;33(5):1004–1010. doi: 10.1016/s0272-6386(99)70442-7.
96. Chowta NK, Pant P, Chowta MN. Microalbuminuria in diabetes mellitus: Association with age, sex, weight, and creatinine clearance. *Indian J Nephrol*. 2009;19(2):53–56. doi:10.4103/0971-4065.53322
97. Hadj-Aissa A., Assaqua H., Fauvel J.-P. L’estimation de la fonction rénale par la formule de Cockcroft et Gault est-elle fiable ? *Médecine thérapeutique* 2005 ; 11 (5).
98. Naud J, Michaud J, Beauchemin S, Hebert MJ, Roger M, Lefrancois S, Leblond FA, Pichette V. Effects of chronic renal failure on kidney drug transporters and cytochrome P450 in rats. *Drug Metab Dispos*. 2011;39:1363–9. doi: 10.1124/dmd.111.039115.
99. Klahr S, Levey AS, Beck GJ, et al. For the Modification of Diet in Renal Disease Study Group: the effects of dietary protein restriction and blood pressure control on the progression of chronic renal disease. *N Engl J Med*. 1994;330:877–884.
100. Levey AS, Stevens LA. Estimating GFR using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) creatinine equation: more accurate GFR estimates, lower CKD prevalence estimates, and better risk predictions. *Am J Kidney Dis*. 2010;55(4):622–627. doi:10.1053/j.ajkd.2010.02.337
101. Brel O. Le rôle du pharmacien d’officine dans la prise en charge de l’insuffisance rénale chronique : ses nouvelles missions. 2015; Thèse d’exercice de pharmacie. (Université de Lorraine) [consulté le 05 avril 2019]. Disponible sur : http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA_T_2015_BREL_OULYANA.pdf
102. Inker LA, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD. *Am J Kidney Dis*. 2014;63:713–735. doi: 10.1053/j.ajkd.2014.01.416.
103. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, El Nahas M, Astor BC, Matsushita K, Gansevoort RT, Kasiske BL, Eckardt KU. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: A KDIGO controversies conference report. *Kidney Int*. 2011;80:17–28. doi: 10.1038/ki.2010.483.

104. Perrone R.D., Madias N.E. and Levey A.S. (1992) Serum Creatinine as an Index of Renal Function: New Insights into Old Concepts. *Clinical Chemistry*, 38, 1933–1953.
105. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney international*. 1985;28(5):830–8. Epub 1985/11/01.
106. Agence de la biomedecine [en ligne]. Registre français des traitements de suppléance de l'insuffisance rénale chronique - rapport annuel 2016 [consulté le 15 avril 2019]. Disponible sur : <https://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/rapportrein2016.pdf>
107. Collège universitaire des enseignants en néphrologie CUEN. 2008. [en ligne] Item 245 : 11- néphropathies diabétiques [consulté le 23 avril 2019]. Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article12>
108. Collège universitaire des enseignants en néphrologie CUEN. 2008. [en ligne] Item 263 : 17- polykystose rénale [consulté le 26 avril 2019]. Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article18>
109. Collège universitaire des enseignants en néphrologie CUEN. 2008. [en ligne] Item 190 : 12- lupus érythémateux disséminé [consulté le 26 avril 2019]. Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article13>
110. Hudson BG, Tryggvason K, Sundaramoorthy M, Neilson EG. Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen. *N Engl J Med*. 2003;348:2543–56
111. Heidet L, Gubler MC. The renal lesions of Alport syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20:1210–1215. doi: 10.1681/ASN.2008090984.
112. Temme J, et al. Outcomes of male patients with Alport syndrome undergoing renal replacement therapy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(12):1969–1976. doi: 10.2215/CJN.02190312.
113. Wallace K., Burt A. D., Wright M. C. Liver fibrosis. *Biochemical Journal*. 2008;411(1):1–18. doi: 10.1042/BJ20071570.
114. Meltzer EB, Noble PW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2008;3:8. Published 2008 Mar 26. doi:10.1186/1750-1172-3-8
115. Hirschberg R. Wound healing in the kidney: complex interactions in renal interstitial fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 16, 9-11 (2005).
116. Klahr S., Schreiner G. & Ichikawa I. The progression of renal disease. *N Engl J Med* 318, 1657-66 (1988)
117. Klein J, Miravete M, Buffin-Meyer B, Schanstra JP, Bascands JL. La fibrose tubulo-interstitielle rénale – Menace fantôme ou dernière croisade ?. *Med Sci (Paris)*, 27 1 (2011)55-61. doi:<https://doi.org/10.1051/medsci/201127155>[consulté le 11 mai 2019]
118. Meguid El Nahas A, Bello AK. Chronic kidney disease: the global challenge. *Lancet*. 2005;365:331–340. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17789-7.
119. Eardley Sean K, Cockwell P. Macrophages and progressive tubulointerstitial disease. *Kidney Int*. 2005;68:437–455. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00422.x.
120. Eddy AA. Progression in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2005; 12: 353–365. 10.1053/j.ackd.2005.07.011
121. Ricardo SD, van Goor H, Eddy AA. Macrophage diversity in renal injury and repair. *J Clin Invest*. 2008;118(11):3522–3530. doi:10.1172/JCI36150
122. Wang Y., Wang Y. P., Zheng G., et al. Ex vivo programmed macrophages ameliorate experimental chronic inflammatory renal disease. *Kidney International*. 2007;72(3):290–299. doi: 10.1038/sj.ki.5002275.

123. Grande M. T., López-Novoa J. M. (2009). Fibroblast activation and myofibroblast generation in obstructive nephropathy. *Nat. Rev. Nephrol.* 5 319–328. doi:10.1038/nrneph.2009.74
124. Collège universitaire des enseignants en néphrologie CUEN. 2008. [en ligne] Item 261 : 15- insuffisance rénale chronique et maladies rénales chroniques [consulté le 03 mai 2019]. Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article16>
125. Collège universitaire des enseignants en néphrologie CUEN. 2008. [en ligne] Item 266 : 06- hypercalcémie – hypocalcémies [consulté le 05 mai 2019]. Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article7>
126. Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(10):1631–1634. doi:10.1681/ASN.2011111078
127. Collège universitaire des enseignants en néphrologie CUEN. 2008. [en ligne] Item 265 : 05- désordres de l'équilibre acide-base [consulté le 09 mai 2019]. Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article6>
128. Vargas-Santos AB, Neogi T. Management of Gout and Hyperuricemia in CKD. *Am J Kidney Dis.* 2017;70(3):422–439. doi:10.1053/j.ajkd.2017.01.055
129. Roughley MJ, Belcher J, Mallen CD, Roddy E. Gout and risk of chronic kidney disease and nephrolithiasis: meta-analysis of observational studies. *Arthritis Res Ther.* 2015;17(1):90. Published 2015 Apr 1. doi:10.1186/s13075-015-0610-9
130. Krishnan E. Reduced glomerular function and prevalence of gout: NHANES 2009-10. *PLoS One.* 2012;7(11):e50046. doi:10.1371/journal.pone.0050046
131. Collège universitaire des enseignants en néphrologie CUEN. 2008. [en ligne] Item 265 : anomalies du bilan de potassium [consulté le 09 mai 2019]. Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article3>
132. Schaeffner ES, Kurth T, Curhan GC, Glynn RJ, Rexrode KM, Baigent C, Buring JE, Gaziano JM. Cholesterol and the Risk of Renal Dysfunction in Apparently Healthy Men. *JASN.* 2003;14(8):2084-209.
133. Galeano NF, Al-Haideri M, Keyserman F, Rumsey SC, Deckelbaum RJ. Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: a potential mechanism for increased atherogenicity. *Journal of lipid research.* 1998;39(6):1263–1273.
134. Liu Y, Coresh J, Eustace JA, et al. Association Between Cholesterol Level and Mortality in Dialysis Patients: Role of Inflammation and Malnutrition. *JAMA.* 2004;291(4):451–459. doi:10.1001/jama.291.4.451
135. Vanholder R, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int.* 2003;63:1934–1943.
136. Zha Y, Qian Q. Protein Nutrition and Malnutrition in CKD and ESRD. *Nutrients.* 2017;9(3):208. Published 2017 Feb 27. doi:10.3390/nu9030208
137. Griffiths RD: Muscle mass, survival, and the elderly ICU patient. *Nutrition* 12: 456–458, 1996
138. Prem AR, Puneekar SV, Kalpana M, Kelkar AR, Acharya VN. Male reproductive function in uraemia: efficacy of haemodialysis and renal transplantation. *Br J Urol.* 1996;78:635–638.
139. Holdsworth S, Atkins RC, de Kretser DM. The pituitary-testicular axis in men with chronic renal failure. *N Engl J Med.* 1977;296:1245–1249.

140. Ibaaj F, Sivalingham M, Haynes P, McKinnon G, Foley RN, Waldek S, O'Donoghue DJ, Kalra PA. Prevalence of hypogonadism in male patients with renal failure. *Postgrad Med J*. 2006;82:693–696.
141. 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.
142. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA, Lewis JB, Ritz E, Atkins RC, Rohde R, Raz I, et al. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2001;345(12):851–860.
143. 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;85(2):541–549. doi:10.1172/JCI114470
144. Ben-Dov IZ, Tan YC, Morozov P, et al. Urine microRNA as potential biomarkers of autosomal dominant polycystic kidney disease progression: description of miRNA profiles at baseline. *PLoS One*. 2014;9(1):e86856. Published 2014 Jan 29. doi:10.1371/journal.pone.0086856
145. Trionfini P, Benigni A, Remuzzi G. MicroRNAs in kidney physiology and disease. *Nat Rev Nephrol* 11: 23–33, 2015. doi:10.1038/nrneph.2014.202.
146. Gomez IG, Nakagawa N, Duffield JS. MicroRNAs as novel therapeutic targets to treat kidney injury and fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2016;310(10):F931–F944. doi:10.1152/ajprenal.00523.2015
147. Frost RJ, Olson EN. Control of glucose homeostasis and insulin sensitivity by the Let-7 family of microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(52):21075–21080. doi:10.1073/pnas.1118922109
148. Tolonen AM, Magga J, Szabó Z, et al. Inhibition of Let-7 microRNA attenuates myocardial remodeling and improves cardiac function postinfarction in mice. *Pharmacol Res Perspect*. 2014;2(4):e00056. doi:10.1002/prp2.56
149. Nitta K, Shi S, Nagai T, et al. Oral Administration of N-Acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline Ameliorates Kidney Disease in Both Type 1 and Type 2 Diabetic Mice via a Therapeutic Regimen. *Biomed Res Int*. 2016;2016:9172157. doi:10.1155/2016/9172157
150. Park JT, Kato M, Lanting L, et al. Repression of let-7 by transforming growth factor- β 1-induced Lin28 upregulates collagen expression in glomerular mesangial cells under diabetic conditions. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014;307(12):F1390–F1403. doi:10.1152/ajprenal.00458.2014
151. Zhong X, Chung AC, Chen HY, Meng XM, Lan HY. Smad3-mediated upregulation of miR-21 promotes renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(9):1668–1681. doi:10.1681/ASN.2010111168
152. Sun X, Jiang S, Liu J, et al. MiR-208a stimulates the cocktail of SOX2 and β -catenin to inhibit the let-7 induction of self-renewal repression of breast cancer stem cells and formed miR208a/let-7 feedback loop via LIN28 and DICER1. *Oncotarget*. ;6(32):32944–32954. doi:10.18632/oncotarget.5079
153. Brennan EP, Nolan KA, Börgeson E, et al. Lipoxins attenuate renal fibrosis by inducing let-7c and suppressing TGF β R1. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(4):627–637. doi:10.1681/ASN.2012060550

154. Thornton JE, Chang HM, Piskounova E, Gregory RI. Lin28-mediated control of let-7 microRNA expression by alternative TUTases Zcchc11 (TUT4) and Zcchc6 (TUT7). *RNA*. 2012;18(10):1875–1885. doi:10.1261/rna.034538.112
155. Chen PY, Qin L, Barnes C, et al. FGF regulates TGF- β signaling and endothelial-to-mesenchymal transition via control of let-7 miRNA expression. *Cell Rep*. 2012;2(6):1684–1696. doi:10.1016/j.celrep.2012.10.021
156. Nagai T, Kanasaki M, Srivastava SP, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits diabetes-associated kidney fibrosis and endothelial-mesenchymal transition. *Biomed Res Int*. 2014;2014:696475. doi:10.1155/2014/696475
157. Nitta K, Shi S, Nagai T, et al. Oral Administration of N-Acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline Ameliorates Kidney Disease in Both Type 1 and Type 2 Diabetic Mice via a Therapeutic Regimen. *Biomed Res Int*. 2016;2016:9172157. doi:10.1155/2016/9172157
158. Lv LL, Cao YH, Ni HF, Xu M, Liu D, Liu H, Chen PS, Liu BC. MicroRNA-29c in urinary exosome/microvesicle as a biomarker of renal fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 305: F1220–F1227, 2013. doi:10.1152/ajprenal.00148.2013.
159. Qin W, Chung AC, Huang XR, et al. TGF- β /Smad3 signaling promotes renal fibrosis by inhibiting miR-29. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(8):1462–1474. doi:10.1681/ASN.2010121308
160. Du B., Ma L.M., Huang M.B., Zhou H., Huang H.L., Shao P., Chen Y.Q., Qu L.H. High glucose down-regulates miR-29a to increase collagen IV production in HK-2 cells. *FEBS Lett*. 2010;584:811–816. doi: 10.1016/j.febslet.2009.12.053.
161. Lin CL, Lee PH, Hsu YC, et al. MicroRNA-29a promotion of nephrin acetylation ameliorates hyperglycemia-induced podocyte dysfunction. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(8):1698–1709. doi:10.1681/ASN.2013050527
162. Liu Y, Taylor NE, Lu L, et al. Renal medullary microRNAs in Dahl salt-sensitive rats: miR-29b regulates several collagens and related genes. *Hypertension*. 2010;55(4):974–982. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.144428
163. Fang Y, Yu X, Liu Y, et al. miR-29c is downregulated in renal interstitial fibrosis in humans and rats and restored by HIF- α activation. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013;304(10):F1274–F1282. doi:10.1152/ajprenal.00287.2012
164. Guo J, Li J, Zhao J, et al. Author Correction: MiRNA-29c regulates the expression of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy by targeting tristetraproline. *Sci Rep*. 2018;8(1):7183. Published 2018 May 2. doi:10.1038/s41598-018-25612-4
165. Dey N, Ghosh-Choudhury N, Kasinath BS, Choudhury GG. TGF β -stimulated microRNA-21 utilizes PTEN to orchestrate AKT/mTORC1 signaling for mesangial cell hypertrophy and matrix expansion. *PLoS One*. ;7(8):e42316. doi:10.1371/journal.pone.0042316
166. Long J, Wang Y, Wang W, Chang BH, Danesh FR. MicroRNA-29c is a signature microRNA under high glucose conditions that targets Sprouty homolog 1, and its in vivo knockdown prevents progression of diabetic nephropathy. *J Biol Chem*. 2011;286(13):11837–11848. doi:10.1074/jbc.M110.194969
167. Wakino S, Kanda T, Hayashi K. Rho/Rho kinase as a potential target for the treatment of renal disease. *Drug News Perspect* 18: 639–643, 2005. doi:10.1358/dnp.2005.18.10.959578.
168. Feng Y, LoGrasso PV, Defert O, Li R. Rho Kinase (ROCK) Inhibitors and Their Therapeutic Potential. *J Med Chem* 59: 2269–2300, 2016. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00683.

169. Wang S, Li B, Li C, Cui W, Miao L. Potential Renoprotective Agents through Inhibiting CTGF/CCN2 in Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res.* 2015;2015:962383. doi:10.1155/2015/962383
170. Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell JT, Lowenstein CJ. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(5):1516–1521. doi:10.1073/pnas.0707493105
171. Wang S, Aurora AB, Johnson BA, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell.* 2008;15(2):261–271. doi:10.1016/j.devcel.2008.07.002
172. Bijkerk R, van Solingen C, de Boer HC, et al. Hematopoietic microRNA-126 protects against renal ischemia/reperfusion injury by promoting vascular integrity. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(8):1710–1722. doi:10.1681/ASN.2013060640
173. Al-Kafaji G, Al-Mahroos G, Al-Muhtareh HA, Skrypnik C, Sabry MA, Ramadan AR. Decreased expression of circulating microRNA-126 in patients with type 2 diabetic nephropathy: A potential blood-based biomarker. *Exp Ther Med.* 2016;12(2):815–822. doi:10.3892/etm.2016.3395
174. Schober A, Nazari-Jahantigh M, Wei Y, et al. MicroRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1. *Nat Med.* 2014;20(4):368–376. doi:10.1038/nm.3487
175. Nikolic I, Plate KH, Schmidt MHH. EGFL7 meets miRNA-126: an angiogenesis alliance. *J Angiogenes Res.* 2010;2(1):9. Published 2010 Jun 8. doi:10.1186/2040-2384-2-9
176. Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell.* 2008;15(2):272–284. doi:10.1016/j.devcel.2008.07.008
177. Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, et al. . The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature.* (1998) 393:591–4. 10.1038/31261
178. Zernecke A., Schober A., Bot I., von Hundelshausen P., Liehn E. A., Mopps B., et al. (2005). SDF-1alpha/CXCR4 axis is instrumental in neointimal hyperplasia and recruitment of smooth muscle progenitor cells. *Circ. Res.* 96 784–791. 10.1161/01.RES.0000162100.52009.38
179. Zernecke A, Bidzhekov K, Noels H, Shagdarsuren E, Gan L, Denecke B, Hristov M, Köppel T, Jahantigh MN, Lutgens E, Wang S, Olson EN, Schober A, Weber C. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. *Sci Signal* 2: ra81, 2009. doi:10.1126/scisignal.2000610.
180. Chen L, Wang J, Wang B, Yang J, Gong Z, Zhao X, Zhang C, Du K. MiR-126 inhibits vascular endothelial cell apoptosis through targeting PI3K/Akt signaling. *Ann Hematol* 95: 365–374, 2016. doi:10.1007/s00277-015-2567-9.
181. Fourdinier O, Schepers E, Metzinger-Le Meuth V, et al. Serum levels of miR-126 and miR-223 and outcomes in chronic kidney disease patients. *Sci Rep.* 2019;9(1):4477. Published 2019 Mar 14. doi:10.1038/s41598-019-41101-8
182. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. The role of miR-126 in embryonic angiogenesis, adult vascular homeostasis, and vascular repair and its alterations in atherosclerotic disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2016;97:47–55. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.05.007.
183. Shi S, Yu L, Zhang T, et al. Smad2-dependent downregulation of miR-30 is required for TGF- β -induced apoptosis in podocytes. *PLoS One.* 2013;8(9):e75572. Published 2013 Sep 26. doi:10.1371/journal.pone.0075572

184. Bridge G, Monteiro R, Henderson S, Emuss V, Lagos D, Georgopoulou D, Patient R, Boshoff C. The microRNA-30 family targets DLL4 to modulate endothelial cell behavior during angiogenesis. *Blood* 120: 5063–5072, 2012. doi:10.1182/blood-2012-04-423004.
185. Malaga-Dieguez L, Bouhassira D, Gipson D, Trachtman H. Novel therapies for FSGS: preclinical and clinical studies. *Adv Chronic Kidney Dis* 22: e1–e6, 2015. doi:10.1053/j.ackd.2014.10.001.
186. Wu J, Zheng C, Fan Y, et al. Downregulation of microRNA-30 facilitates podocyte injury and is prevented by glucocorticoids. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(1):92–104. doi:10.1681/ASN.2012111101
187. Jiang L, Qiu W, Zhou Y, et al. A microRNA-30e/mitochondrial uncoupling protein 2 axis mediates TGF- β 1-induced tubular epithelial cell extracellular matrix production and kidney fibrosis. *Kidney Int*. 2013;84(2):285–296. doi:10.1038/ki.2013.80
188. Duisters RF, Tijssen AJ, Schroen B, Leenders JJ, Lentink V, van der Made I, Herias V, van Leeuwen RE, Schellings MW, Barenbrug P, Maessen JG, Heymans S, Pinto YM, Creemers EE. miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling. *Circ Res* 104: 170–178, 2009. doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.182535.
189. Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res* 65: 6029–6033, 2005. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-0137.
190. Chau BN, Xin C, Hartner J, et al. MicroRNA-21 promotes fibrosis of the kidney by silencing metabolic pathways. *Sci Transl Med*. 2012;4(121):121ra18. doi:10.1126/scitranslmed.3003205
191. Van der Hauwaert C., Savary G., Hennino M.-F., Pottier N., Glowacki F., Cauffiez C. Implication des microARN dans la fibrose rénale. *Nephrol. Ther.* 2015;11:474–482. doi: 10.1016/j.nephro.2015.03.007.
192. Cheng X, Gao W, Dang Y, et al. Both ERK/MAPK and TGF-Beta/Smad signaling pathways play a role in the kidney fibrosis of diabetic mice accelerated by blood glucose fluctuation. *J Diabetes Res*. 2013;2013:463740. doi:10.1155/2013/463740
193. Wang J, Gao Y, Ma M, Li M, Zou D, Yang J, Zhu Z, Zhao X. Effect of miR-21 on renal fibrosis by regulating MMP-9 and TIMP1 in kk-ay diabetic nephropathy mice. *Cell Biochem Biophys* 67: 537–546, 2013. doi:10.1007/s12013-013-9539-2.
194. Oh J, Takahashi R, Kondo S, Mizoguchi A, Adachi E, Sasahara RM, Nishimura S, Imamura Y, Kitayama H, Alexander DB, Ide C, Horan TP, Arakawa T, Yoshida H, Nishikawa S, Itoh Y, Seiki M, Itoharu S, Takahashi C, Noda M. The membrane-anchored MMP inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis. *Cell* 107: 789–800, 2001. doi:10.1016/S0092-8674(01)00597-9.
195. Li C, Song L, Zhang Z, Bai XX, Cui MF, Ma LJ. MicroRNA-21 promotes TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer through up-regulating PTEN expression. *Oncotarget*. ;7(41):66989–67003. doi:10.18632/oncotarget.11888
196. Wang LP, Fan SJ, Li SM, Wang XJ, Gao JL, Yang XH. Protective role of ACE2-Ang-(1-7)-Mas in myocardial fibrosis by downregulating KCa3.1 channel via ERK1/2 pathway. *Pflugers Arch* 468: 2041–2051, 2016. doi:10.1007/s00424-016-1875-9.
197. Chen X, Song M, Chen W, et al. MicroRNA-21 Contributes to Liver Regeneration by Targeting PTEN. *Med Sci Monit*. 2016;22:83–91. Published 2016 Jan 8. doi:10.12659/MSM.896157

198. Chou CH, Chang NW, Shrestha S, et al. miRTarBase 2016: updates to the experimentally validated miRNA-target interactions database. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D239–D247. doi:10.1093/nar/gkv1258
199. Du X, Shimizu A, Masuda Y, Kuwahara N, Arai T, Kataoka M, Uchiyama M, Kaneko T, Akimoto T, Iino Y, Fukuda Y. Involvement of matrix metalloproteinase-2 in the development of renal interstitial fibrosis in mouse obstructive nephropathy. *Lab Invest* 92: 1149–1160, 2012. doi:10.1038/labinvest.2012.68.
200. Chen J, Zmijewska A, Zhi D, Mannon RB. Cyclosporine-mediated allograft fibrosis is associated with micro-RNA-21 through AKT signaling. *Transpl Int* 28: 232–245, 2015. doi:10.1111/tri.12471.
201. Bao H, Hu S, Zhang C, Shi S, Qin W, Zeng C, Zen K, Liu Z. Inhibition of miRNA-21 prevents fibrogenic activation in podocytes and tubular cells in IgA nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun* 444: 455–460, 2014. doi:10.1016/j.bbrc.2014.01.065.
202. Lai JY, Luo J, O'Connor C, et al. MicroRNA-21 in glomerular injury. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(4):805–816. doi:10.1681/ASN.2013121274
203. McClelland AD, Herman-Edelstein M, Komers R, Jha JC, Winbanks CE, Hagiwara S, Gregorevic P, Kantharidis P, Cooper ME. miR-21 promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by targeting PTEN and SMAD7. *Clin Sci (Lond)* 129: 1237–1249, 2015. doi:10.1042/CS20150427.
204. Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, Hata A. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. *Nature.* 2008;454(7200):56–61. doi:10.1038/nature07086
205. Davis BN, Hilyard AC, Nguyen PH, Lagna G, Hata A. Smad proteins bind a conserved RNA sequence to promote microRNA maturation by Drosha. *Mol Cell.* 2010;39(3):373–384. doi:10.1016/j.molcel.2010.07.011
206. Liu XJ, Hong Q, Wang Z, Yu YY, Zou X, Xu LH. MicroRNA21 promotes interstitial fibrosis via targeting DDAH1: a potential role in renal fibrosis. *Mol Cell Biochem* 411: 181–189, 2016. doi:10.1007/s11010-015-2580-2.
207. Guo J., Song W., Boulanger J., Xu E.Y., Wang F., Zhang Y., He Q., Wang S., Yang L., Pryce C., et al. Dysregulated expression of microRNA-21 and disease related genes in human patients and mouse model of alport syndrome. *Hum. Gene Ther.* 2019 doi: 10.1089/hum.2018.205.
208. Gomez IG, Nakagawa N, Duffield JS. MicroRNAs as novel therapeutic targets to treat kidney injury and fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2016;310(10):F931–F944. doi:10.1152/ajprenal.00523.2015
209. Kuninty PR, Bojmar L, Tjomsland V, et al. MicroRNA-199a and -214 as potential therapeutic targets in pancreatic stellate cells in pancreatic tumor. *Oncotarget.* ;7(13):16396–16408. doi:10.18632/oncotarget.7651
210. Chen BF, Suen YK, Gu S, Li L, Chan WY. A miR-199a/miR-214 self-regulatory network via PSMD10, TP53 and DNMT1 in testicular germ cell tumor. *Sci Rep.* 2014;4:6413. Published 2014 Sep 18. doi:10.1038/srep06413
211. Denby L, Ramdas V, Lu R, et al. MicroRNA-214 antagonism protects against renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(1):65–80. doi:10.1681/ASN.2013010072
212. Li LM, Hou DX, Guo YL, Yang JW, Liu Y, Zhang CY, Zen K. Role of microRNA-214-targeting phosphatase and tensin homolog in advanced glycation end product-induced apoptosis delay in monocytes. *J Immunol* 186: 2552–2560, 2011. doi:10.4049/jimmunol.1001633.

213. Wang X, Shen E, Wang Y, et al. Cross talk between miR-214 and PTEN attenuates glomerular hypertrophy under diabetic conditions. *Sci Rep.* 2016;6:31506. Published 2016 Aug 23. doi:10.1038/srep31506
214. Lino Cardenas CL, Henaoui IS, Courcot E et al. miR-199a-5p Is upregulated during fibrogenic response to tissue injury and mediates TGFbeta-induced lung fibroblast activation by targeting caveolin-1. *PLoS Genet.* 2013;9(2):e1003291. Published online 2013 Feb 14. doi:10.1371/journal.pgen.1003291
215. Wu C, Lv C, Chen F et al. The function of miR-199a-5p/Klotho regulating TLR4/NF-κB p65/NGAL pathways in rat mesangial cells cultured with high glucose and the mechanism. *Mol Cell Endocrinol.* 2015;417:84-93. Published online 2015 Sep 28. doi:10.1016/j.mce.2015.09.024
216. Chung AC, Lan HY. MicroRNAs in renal fibrosis. *Front Physiol.* 2015;6:50. Published 2015 Feb 20. doi:10.3389/fphys.2015.00050
217. Li R, Chung AC, Dong Y et al. The microRNA miR-433 promotes renal fibrosis by amplifying the TGF-β/Smad3-Azin1 pathway. *Kidney Int.* 2013;84(6):1129-44. Published online 2013 Jul 17. doi:10.1038/ki.2013.272
218. Tao L, Bei Y, Chen P, et al. Crucial Role of miR-433 in Regulating Cardiac Fibrosis. *Theranostics.* 2016;6(12):2068–2083. Published 2016 Sep 10. doi:10.7150/thno.15007
219. Xu X, Zhu Y, Liang Z, et al. c-Met and CREB1 are involved in miR-433-mediated inhibition of the epithelial-mesenchymal transition in bladder cancer by regulating Akt/GSK-3β/Snail signaling. *Cell Death Dis.* 2016;7(2):e2088. Published 2016 Feb 4. doi:10.1038/cddis.2015.274
220. Hindle AG, Thoonen R, Jasien JV, et al. Identification of Candidate miRNA Biomarkers for Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019;60(1):134–146. doi:10.1167/iovs.18-24878
221. Tang PMK, Lan HY. MicroRNAs in TGF-β/Smad-mediated Tissue Fibrosis. *Springer US.* 2014;2(4):235-243. Published 2014 Sep 14. doi:10.1007/s40139-014-0060-0
222. Eskildsen TV, Jeppesen PL, Schneider M, et al. Angiotensin II regulates microRNA-132/-212 in hypertensive rats and humans. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):11190–11207. Published 2013 May 27. doi:10.3390/ijms140611190
223. Remenyi J, Hunter CJ, Cole C et al. Regulation of the miR212/132 locus by MSK1 and CREB in response to neutrophins. *Biochem J.* 2010;428(2):281-91. Published 2010 May 13. doi:10.1042/BJ20100024
224. Bijkerk R, de Bruin RG, van Solingen C et al. Silencing of microRNA-132 reduces renal fibrosis by selectively inhibiting myofibroblast proliferation. *Kidney Int.* 2016;89(6):1268-80. Published 2016 Apr 8. doi: 10.1016/j.kint.2016.01.029
225. Ucar A, Vafaizadeh V, Jarry H et al. miR-212 and miR-132 are required for epithelial stromal interactions necessary for mouse mamary gland developpement. *Nat Genet.* 2010;42(12):1101-8. Published 2010 Nov 7. doi:10.1038/ng.709
226. Macconi D, Tomasoni S, Romagnani P, et al. MicroRNA-324-3p promotes renal fibrosis and is a target of ACE inhibition. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(9):1496–1505. doi:10.1681/ASN.2011121144
227. Ahn SM, Cha JY, Kim J et al. Smad3 regulates E-cadherin via miRNA-200 pathway. *Oncogene.* 2012;31(25):3051-9. doi:10.1038/onc.2011.484
228. Xu J, Ai Q, Cao H, Liu Q. MiR-185-3p and miR-324-3p Predict Radiosensitivity of Nasopharyngeal Carcinoma and Modulate Cancer Cell Growth and Apoptosis by

- Targeting SMAD7. *Med Sci Monit.* 2015;21:2828–2836. Published 2015 Sep 21. doi:10.12659/MSM.895660
229. Wang W, Huan XR, Li AG et al. Signaling mechanism of TGF-beta1 in prevention of renal inflammation : role of Smad7. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(5):1371-83. Published 2005 Mar 23. doi:10.1681/ASN.2004121070
230. Chiang Y, Zhou X, Wang Z et al. Expression levels of microRNA-192 and -215 in gastric carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2012;18(3):585-91. Published 2011 Dec 29. doi:10.1007/s12253-011-9480-x
231. Sun Y, Koo S, White N, et al. Development of a micro-array to detect human and mouse microRNAs and characterization of expression in human organs. *Nucleic Acids Res.* 2004;32(22):e188. Published 2004 Dec 22. doi:10.1093/nar/gnh186
232. Chung AC, Huang XR, Meng X, Lan HY. miR-192 mediates TGF-beta/Smad3-driven renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(8):1317–1325. doi:10.1681/ASN.2010020134
233. Deshpande SD, Putta S, Wang M, et al. Transforming growth factor- β -induced cross talk between p53 and a microRNA in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2013;62(9):3151–3162. doi:10.2337/db13-0305
234. Kato M, Zhang J, Wang M, et al. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF-beta-induced collagen expression via inhibition of E-box repressors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(9):3432–3437. doi:10.1073/pnas.0611192104
235. Putta S, Lanting L, Sun G, Lawson G, Kato M, Natarajan R. Inhibiting microRNA-192 ameliorates renal fibrosis in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(3):458–469. doi:10.1681/ASN.2011050485
236. Sun L, Zhang D, Liu F, et al. Low-dose paclitaxel ameliorates fibrosis in the remnant kidney model by down-regulating miR-192. *J Pathol.* 2011;225(3):364–377. doi:10.1002/path.2961
237. Krupa A, Jenkins R, Luo DD, Lewis A, Phillips A, Fraser D. Loss of MicroRNA-192 promotes fibrogenesis in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(3):438–447. doi:10.1681/ASN.2009050530
238. Kato M, Arce L, Wang M, Putta S, Lanting L, Natarajan R. A microRNA circuit mediates transforming growth factor- β 1 autoregulation in renal glomerular mesangial cells. *Kidney Int.* 2011;80(4):358–368. doi:10.1038/ki.2011.43
239. Kato M, Arce L, Natarajan R. MicroRNAs and their role in progressive kidney diseases. *CJASN.* 2009;4(7):1255-1266. doi:10.2215/CJN.00520109
240. Jenkins RH, Martin J, Phillips AO, Bowen T, Fraser DJ. Transforming growth factor β 1 represses proximal tubular cell microRNA-192 expression through decreased hepatocyte nuclear factor DNA binding. *Biochem J.* 2012;443(2):407-16. doi:10.1042/BJ20111861
241. Kato M, Dang V, Wang M, et al. TGF- β induces acetylation of chromatin and of Ets-1 to alleviate repression of miR-192 in diabetic nephropathy. *Sci Signal.* 2013;6(278):ra43. Published 2013 Jun 4. doi:10.1126/scisignal.2003389
242. Chung AC, Yu X, Lan HY. MicroRNA and nephropathy: emerging concepts. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2013;6:169–179. Published 2013 Sep 25. doi:10.2147/IJNRD.S37885
243. Jenkins RH, Martin J, Phillips AO, Bowen T, Fraser DJ. Pleiotropy of microRNA-192 in the kidney. *Biochem Soc Trans.* 2012;40(4):762-7. doi:10.1042/BST20120085
244. Jin Z, Selaru FM, Cheng Y, et al. MicroRNA-192 and -215 are upregulated in human gastric cancer in vivo and suppress ALCAM expression in vitro. *Oncogene.* 2011;30(13):1577–1585. doi:10.1038/onc.2010.534

245. Lan W, Chen S, Tong L. MicroRNA-215 Regulates Fibroblast Function: Insights from a Human Fibrotic Disease. *Cell Cycle*. ;14(12):1973–1984. doi:10.1080/15384101.2014.998077
246. Elvira-Matelot E, Zhou XO, Farman N et al. Regulation of WNK1 expression by miR-192 and aldosterone. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(10):1724-31. Published 2010 Sep 2. doi:10.1681/ASN.2009111186
247. Wang B, Koh P, Winbanks C, et al. miR-200a Prevents renal fibrogenesis through repression of TGF- β 2 expression. *Diabetes*. 2011;60(1):280–287. doi:10.2337/db10-0892
248. Bracken CP, Khew-Goodall Y, Goodall GJ. Network-Based Approaches to Understand The Roles of miR-200 and Others microRNAs in Cancer. *Cancer Res*. 2015;75(13):2594-9. Published 2015 Jun 11. doi:10.1158/0058-5472.CAN-15-0287
249. Patel V, Nouredine L. MicroRNAs and fibrosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2012;21(4):410–416. doi:10.1097/MNH.0b013e328354e559
250. Tang O, Chen XM, Shen S, Hahn M, Pollock CA. MiRNA-200b repress transforming growth factor- β 1-induced EMT and fibronectin expression in kidney proximal tubular cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013;304(10):F1266-73. Published 2013 Feb 13. doi:10.1152/ajprenal.00302.2012
251. Oba S, Kumano S, Suzuki E, et al. miR-200b precursor can ameliorate renal tubulointerstitial fibrosis. *PLoS One*. 2010;5(10):e13614. Published 2010 Oct 25. doi:10.1371/journal.pone.0013614
252. Benlhabib H, Guo W, Pierce BM, Mendelson CR. The miR-200 family and its targets regulate type II cell differentiation in human fetal lung. *J Biol Chem*. 2015;290(37):22409–22422. doi:10.1074/jbc.M114.636068
253. Gregory PA, Bert AG, Paterson EL et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nat Cell Biol*. 2008;10(5):593-601. Published 2008 Mar 30. doi:10.1038/ncb1722
254. Morizane R, Fujii S, Monkawa T, et al. miR-34c attenuates epithelial-mesenchymal transition and kidney fibrosis with ureteral obstruction. *Sci Rep*. 2014;4:4578. Published 2014 Apr 3. doi:10.1038/srep04578
255. Park JT, Kato M, Yuan H, et al. FOG2 protein down-regulation by transforming growth factor- β 1-induced microRNA-200b/c leads to Akt kinase activation and glomerular mesangial hypertrophy related to diabetic nephropathy. *J Biol Chem*. 2013;288(31):22469–22480. doi:10.1074/jbc.M113.453043
256. Li L, Chen XP, Li YJ. MicroRNA-146a and human disease. *Scand J Immunol*. 2010;71(4):227-31. doi:10.1111/j.1365-3083.2010.02383.x
257. Morishita Y, Imai T, Yoshizawa H, et al. Delivery of microRNA-146a with polyethylenimine nanoparticles inhibits renal fibrosis in vivo. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:3475–3488. Published 2015 May 11. doi:10.2147/IJN.S82587
258. Zheng CZ, Shu YB, Luo YL, Luo J. The role of miR-146a in modulating TRAF6-induced inflammation during lupus nephritis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(5):1041-1048.
259. Huang Y, Liu Y, Li L, et al. Involvement of inflammation-related miR-155 and miR-146a in diabetic nephropathy: implications for glomerular endothelial injury. *BMC Nephrol*. 2014;15:142. Published 2014 Sep 2. doi:10.1186/1471-2369-15-142
260. Alipour MR, Khamaneh AM, Yousefzadeh N, Mohammad-nejad D, Soufi FG. Upregulation of microRNA-146a was not accompanied by downregulation of pro-inflammatory markers in diabetic kidney. *Mol Biol Rep*. 2013;40(11):6477-83. Published 2013 Sep 21. doi:10.1007/s11033-013-2763-4

261. Amrouche L, Desbuissons G, Rabant M, et al. MicroRNA-146a in Human and Experimental Ischemic AKI: CXCL8-Dependent Mechanism of Action. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(2):479–493. doi:10.1681/ASN.2016010045
262. Sheng ZX, Yao H, Cai ZY. The role of miR-146b-5p in TLR4 pathway of glomerular mesangial cells with lupus nephritis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(6):1737-1743. doi:10.26355/eurrev_201803_14589
263. Lee CG, Kim JG, Kim HJ et al. Discovery of an integrative network of microRNAs and transcriptomics changes for acute kidney injury. *Kidney Int*. 2014;86(5):943-53. Published 2014 Apr 23. doi:10.1038/ki.2014.117
264. Kato M, Wang L, Putta S, et al. Post-transcriptional up-regulation of Tsc-22 by Ybx1, a target of miR-216a, mediates TGF- β -induced collagen expression in kidney cells. *J Biol Chem*. 2010;285(44):34004–34015. doi:10.1074/jbc.M110.165027
265. Kriegel AJ, Liu Y, Cohen B, Usa K, Liu Y, Liang M. MiR-382 targeting of kallikrein 5 contributes to renal inner medullary interstitial fibrosis. *Physiol Genomics*. 2012;44(4):259–267. doi:10.1152/physiolgenomics.00173.2011
266. Kriegel AJ, Fang Y, Liu Y, et al. MicroRNA-target pairs in human renal epithelial cells treated with transforming growth factor beta 1: a novel role of miR-382. *Nucleic Acids Res*. 2010;38(22):8338–8347. doi:10.1093/nar/gkq718
267. Mann C, Kaistha BP, Kacik M, Stiewe T, Hoyer J. Downregulation of miR-503 in Activated Kidney Fibroblasts Disinhibits KCNN4 In an in Vitro Model of Kidney Fibrosis. *Kidney Blood Press Res*. 2019;44(1):113-122. Published 2019 Feb 22. doi:10.1159/000498875
268. Lv W, Fan F, Wang Y, et al. Therapeutic potential of microRNAs for the treatment of renal fibrosis and CKD. *Physiol Genomics*. 2018;50(1):20–34. doi:10.1152/physiolgenomics.00039.2017
269. Lv G, Shao S, Dong H et al. MicroRNA-214 protects cardiac myocytes against H₂O₂-induced injury. *J Cell Biochem*. 2014;115(1):93-101. doi:10.1002/jcb.24636
270. Falke LL, Gholizadeh S, Goldschmeding R, Kok RJ, Nguyen TQ. Diverse origins of the myofibroblast – implications for kidney fibrosis. *Nat Rev Nephrol*. 2015;11(4):233-44. Published 2015 Jan 13. doi:10.1038/nrneph.2014.246
271. Sirsi S, Borden M. Microbubble Compositions, Properties and Biomedical Applications. *Bubble Sci Eng Technol*. 2009;1(1-2):3–17. doi:10.1179/175889709X446507
272. Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med*. 2013;368(18):1685-94. Published 2013 Mar 27. doi:10.1056/NEJMoa1209026
273. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science*. 2010;327(5962):198–201. doi:10.1126/science.1178178
274. Titze-de-Almeida R, David C, Titze-de-Almeida SS. The race of 10 synthetic RNAi-based drugs to the pharmaceutical market. *Pharm Res*. 2017;34(7):1339-1363. Published 2017 Apr 7. doi:10.1007/s11095-017-2134-2

FAVROULT Lucien
Les microARNs : molécules innovantes dans la prise en charge de la maladie rénale chronique
Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie
Université de Picardie Jules Verne
2019

Mots clés : microARN, maladie rénale chronique

Key words : microRNA, chronic kidney disease

Résumé

La maladie rénale chronique, définie par un débit de filtration glomérulaire réduit, devient un problème de santé publique majeur. Au niveau histologique, la fibrose rénale est la dernière voie commune menant à l'insuffisance rénale au stade terminal, quelle que soit la lésion initiale. Les microARNs sont de petits ARNs non codants, longues de 18 à 25 nucléotides, qui contrôlent de nombreux processus cellulaires et de développement en tant que régulateurs post-transcriptionnel de l'expression génique. Leurs présences et leurs stabilités dans les fluides corporels (sang, urine) et l'absence de toxicité en font d'éventuels biomarqueurs ou cibles thérapeutiques. De nouvelles preuves suggèrent que les microARNs ciblés sur des gènes impliqués dans la fibrose rénale pourraient être des candidats potentiels pour le développement de traitements antifibrotiques pour les néphropathies.

Summary

Chronic kidney disease, defined as reduced glomerular filtration rate, is becoming a major public health issue. At the histological level, renal fibrosis is the final common pathway leading to end-stage renal disease, whatever of the initial injury. MicroRNAs (miRNAs) are small noncoding RNA molecules, 18-25 nucleotides in length, that control many developmental and cellular processes as posttranscriptional regulators of gene expression. Their presence and stability in body fluids (blood, urine) and the absence of toxicity make them potential biomarkers or therapeutic targets. Emerging evidence suggests that microRNAs targeted against genes involved in renal fibrosis might be potential candidates for the development of antifibrotic therapies for chronic kidney diseases.

JURY

Président et directeur de thèse : Monsieur le Professeur Laurent METZINGER, Professeur des Universités de l'Université de Picardie Jules Verne

Membres : Madame Valérie METZINGER – LE MEUTH, Maitre de conférences des Universités de Paris

Monsieur Julien TILLOLOY, Docteur en Pharmacie