

Introduction

La néphropathie aux acides aristolochiques (AA) se caractérise non seulement par une fibrose rénale interstitielle progressive mais également par une raréfaction capillaire conduisant à une hypoxie tissulaire responsable d'une progression rapide des lésions tubulo-interstitielles [1]. Vu la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) observée dans une lignée cellulaire (EAhy926) intoxiquée par les AA [2], le but de cette étude est l'investigation *in vitro* des changements métabolomiques induits par les AA et des effets du nébivolol (NEB), un β -bloquant possédant des propriétés anti-oxydantes [3].

Méthodes

- Evaluation des effets des AA (50 μ M) et/ou NEB (10 nM) en préincubation sur la viabilité des cellules EAhy926 par le test à la résazurine.
- Examens des cellules avec un microscope en contraste de phase
- Détection de la production d'H₂O₂ par le test au H₂DCF-DA (2',7'-dichlorofluoresceine diacetate) et cytomètre en flux.
- Profils métabolomiques des extraits intracellulaires et des surnageants: spectroscopie ¹H-NMR (Bioprofiling Platform / Bruker Avance 600MHz spectrometer) *
- Statistiques: moyenne \pm SEM. Test ANOVA; significativité statistique à $P < 0.05$.

Résultats

1. La diminution de la viabilité des cellules endothéliales EAhy926 par les AA est inhibée par le nébivolol

2. Le nébivolol réduit significativement le stress oxydatif induit par les AA

3. Le nébivolol restaure des métabolites impliqués dans le stress oxydatif induit par les AA

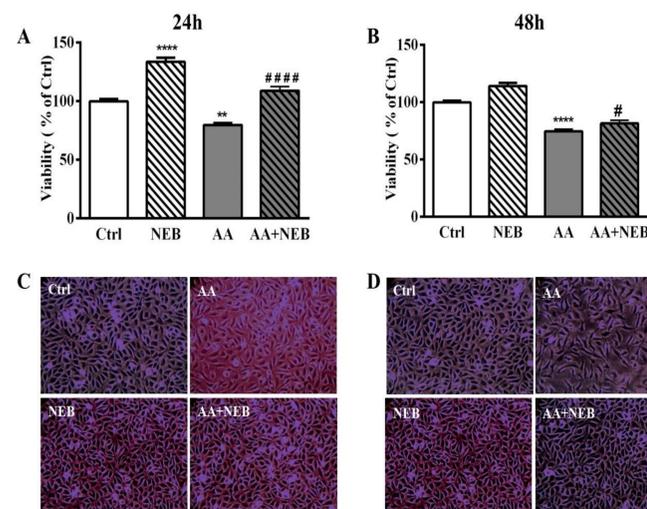


Fig. 1. Effets du NEB sur la toxicité endothéliale induite par les AA. La viabilité a été évaluée sur des cellules après 24h (A) et 48h (B) d'exposition. Images représentatives de la morphologie des cellules EAhy926 en condition de culture standard ou en présence d'AA ou/et de NEB pendant 24 h (C) et 48h (D) (400x). Moyenne \pm SEM (n=6). **p<0.01, ****p<0.0001 vs contrôle; # p<0.05, ##### p<0,0001 vs AA.

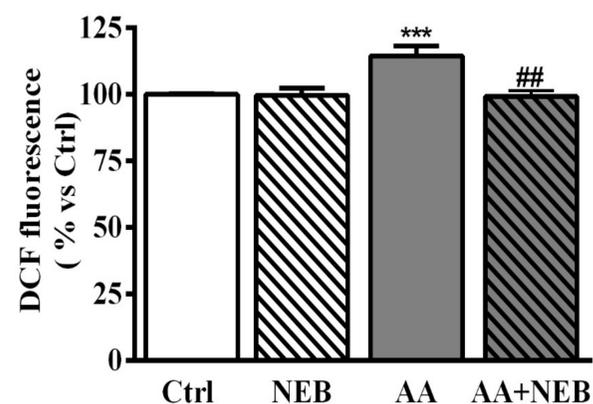


Fig. 2. Intensité de fluorescence des ERO intracellulaires dans les cellules EAhy926 contrôles et dans les cellules exposées aux AA (50 μ M) et/ou NEB (10 nM) pendant 24h. Moyenne \pm SEM (n=6). ***p<0.001, vs contrôle, ## p<0, 01 vs AA.

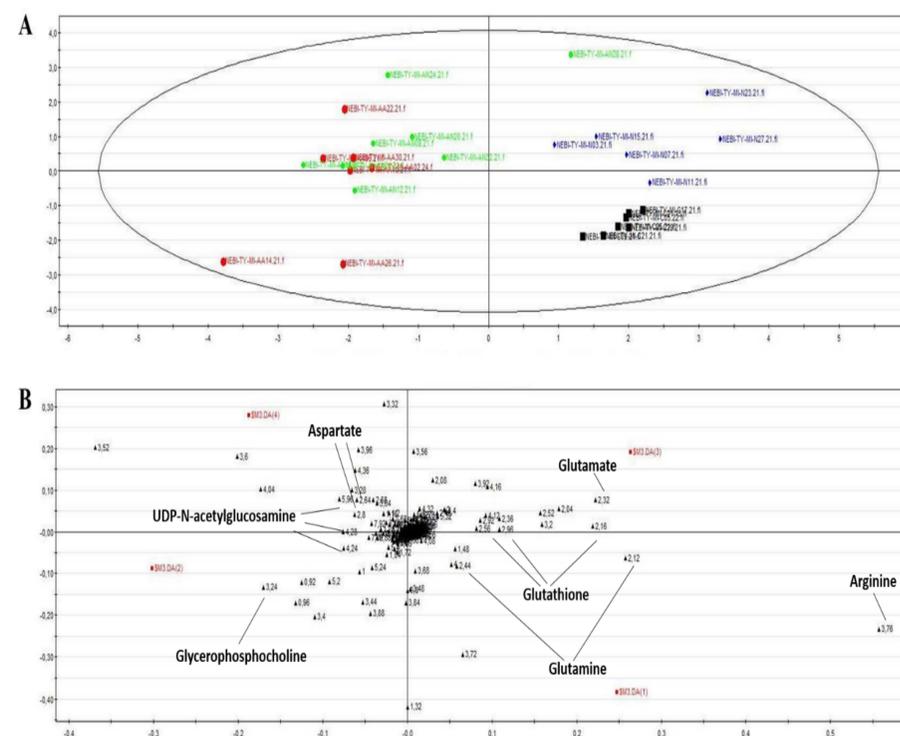


Fig. 3. A: scores plot (groupes contrôle (noir), AA (rouge), NEB (bleu), AA+NEB (vert)). B: loadings plot correspondant (n=6). C: Tableau des métabolites obtenus à partir des spectres ¹H-NMR (phases polaires) (AA vs Ctrl, AA+NEB vs AA). *p<0.1 **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001

Metabolites	Chemical shift (ppm)	AA vs Ctrl	AA+NEB vs AA
1. Intracellular extracts			
Arginine	3.76	↓****	-
Aspartate	2.82	↑*	-
Glutamate	2.32	↓*	-
Glutamine	2.44	↓*	-
Glutathion	2.54	↓****	↑*
Glycerophosphocholine	3.24	↑*	↓*
UDP-N-acetylglucosamine	5.96	↑**	-
2. Extracellular fluids			
Glucose	3.4	↑*	-
Glutamate	2.32	↓***	↑**
Lactate	1.32	↓***	-

Conclusions

Cette étude confirme la cytotoxicité des AA et la production d'ERO par la cellule endothéliale EAhy926 intoxiquée aux AA. L'analyse métabolomique corrobore l'implication du stress oxydatif dans les lésions endothéliales. Le NEB semble être une molécule intéressante dans la prévention des lésions endothéliales occasionnées par les AA.

Références

1. Pozdzik AA *et al.* PLoS One 2016 ;11:e0157288
2. Youl ENH *et al.* 2020 . Toxicol In Vitro 2020;65:104811
3. Coats A *et al.* J Hum Hypertens 2017; 31:376

Remerciements

- Association de Défense des Insuffisants Rénaux (ADIR, Bruxelles, Belgique)
- * La plateforme de bioprofiling a été soutenue par le Fonds Européen du développement régional et par la Région Wallonne, Belgique.