



ARTICLE ORIGINAL

Néphrotoxicité du sirolimus : données cliniques et expérimentales

Sirolimus nephrotoxicity: experimental and clinical data

Nicolas Pallet ^{a,b}, Eric Thervet ^{a,b}, Christophe Legendre ^a,
Dany Anglicheau ^{a,b,*}

^a Service de transplantation rénale et de soins intensifs, hôpital Necker-Enfants-Malades, APHP et université Paris-V, René-Descartes, 149, rue de Sèvres, 75743 cedex 15 Paris, France

^b Inserm U775, bases moléculaires de la réponse aux xénobiotiques, centre universitaire des Saints-Pères, université Paris-V, René-Descartes, France

Reçu le 4 décembre 2005 ; accepté le 12 avril 2006

MOTS CLÉS

Sirolimus ;
mTOR ;
Néphrotoxicité

Résumé Le sirolimus inhibe mTOR, une protéine kinase qui joue un rôle central dans la régulation de la prolifération cellulaire chez les mammifères. L'activation de mTOR, en réponse à un certain nombre de stimuli mitogènes tels que les cytokines, les facteurs de croissance ou les nutriments, permet à la cellule d'entrer dans le cycle cellulaire en régulant la machinerie traductionnelle. Le sirolimus, en inhibant mTOR, exerce un effet antiprolifératif sur de nombreux types cellulaires. La notion de néphrotoxicité du sirolimus a émergé progressivement, essentiellement à la phase clinique de son développement. Sont actuellement bien caractérisés des phénomènes de microangiopathies thrombotiques, de prolongation du délai de reprise de fonction rénale après greffe, de potentialisation de la néphrotoxicité des anticalcineurines et de survenue de protéinurie. La physiopathologie de cette néphrotoxicité est cependant mal comprise : le rôle des effets antiprolifératifs de cette molécule sur les cellules tubulaires et endothéliales a été souligné ; une interaction pharmacocinétique avec la ciclosporine et le tacrolimus est probable. Les voies de régulation par le sirolimus d'un certain nombre de gènes podocytaires sont à explorer.

© 2006 Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Sirolimus;
mTOR;
Nephrotoxicity

Abstract Sirolimus (SRL, rapamycin) is a potent immunosuppressive drug that binds to and inhibits mammalian Target Of Rapamycin (mTOR) kinase activity, a central controller of cell growth. In response to amino acids, hormones and growth factors, mTOR activates the translational machinery. By inhibiting mTOR, SRL reduces the translational process and T-cell proliferation in the mid-to-late G1 phase of the cell cycle. The antiproliferative effects of SRL are not limited to activated T cells. SRL has also been shown to block the cell cycle in various cell

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : dany.anglicheau@nck.ap-hop-paris.fr (D. Anglicheau).

types such as epithelial renal cells, and many types of tumor cell lines. Since the approval by the US Food and Drug Administration and by the European agency, SRL has provoked great interest, as evidenced by the exponential increase in clinical studies. However, whereas preclinical studies failed to show any nephrotoxic effect on animal models, many clinical trials raised the possibility that SRL might be associated with renal adverse events. The evidence for SRL-associated early graft nephrotoxicity emerged from these results, and subsequent experimental data gave some explanations about the involved mechanisms. The aim of this review is to summarize the various renal adverse events reported in clinical studies and to present the experimental evidence for putative mechanisms of action for this SRL-induced nephrotoxicity.

© 2006 Elsevier SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

Introduction

Le sirolimus (Rapamune®) est un macrolide cyclique synthétisé par le champignon *Streptomyces hygroscopicus* qui a été découvert dans les années 1970 dans le sol de l'île de Pâques. En plus des propriétés antibiotiques et antifongiques rapidement reconnues, l'étude des mécanismes d'action du sirolimus (SRL) a permis de mettre en évidence une nouvelle voie de signalisation, commune à des signaux mitogènes variés, impliquée dans la régulation de la traduction de certains ARN messagers lors de la croissance et de la prolifération cellulaire. Le SRL inhibe mTOR (*mammalian target of rapamycin*) qui est un contrôleur central de la croissance et de la prolifération cellulaire. mTOR, en réponse à la stimulation par les acides aminés et les facteurs de croissance, contrôle l'appareil traductionnel en activant la protéine p70 S6 kinase (p70^{S6k}) et en inhibant l'activité de la molécule 4E-BP1 [1,2].

Les remarquables propriétés antiprolifératives du SRL sont actuellement mises à profit dans des domaines cliniques très variés tels que la transplantation rénale, cardiaque ou pulmonaire [3-6], la cardiologie interventionnelle avec les endoprothèses enrobées au sirolimus [7,8] ou encore l'oncologie où les propriétés antitumorales du SRL sont actuellement explorées [9-14]. Enfin, de nouveaux champs d'application de cette molécule se profilent : l'inhibition de mTOR au cours de pathologies telles que les phacomatoses [15] ou la polykystose rénale autosomique dominante [16] pourraient s'avérer bénéfiques.

Les premières années d'utilisation de cette nouvelle molécule en clinique ont permis de déterminer un spectre d'effets indésirables néphrologiques tels que la potentialisation de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine, la prolongation de la reprise retardée de fonction rénale après transplantation rénale, la survenue d'une protéinurie et des phénomènes de microangiopathies thrombotiques. L'objectif de cette revue est de faire le point sur les principaux effets néphrologiques indésirables et de rapporter les données expérimentales qui tentent, au moins partiellement, d'expliquer la néphrotoxicité du SRL.

Effets délétères de l'association avec les inhibiteurs de la calcineurine

Données cliniques

Les premiers essais de phase III au cours desquels le SRL a été évalué contre l'azathioprine (AZA), le mycophénolate mofétil (MMF) ou un placebo en association avec la ciclo-

sporine (CsA) ont montré une réduction significative de l'incidence des épisodes de rejets aigus chez les patients traités par SRL. Cependant, la fonction rénale des sujets recevant l'association CsA-SRL était significativement inférieure à celle des patients recevant les associations CsA-AZA ou CsA-Placebo ou CsA-MMF [4,17].

À titre d'exemple, Kahan et al. ont montré dans une étude prospective randomisée que les patients traités par CsA et SRL avaient une fonction rénale moins bonne que celle des patients recevant l'association CsA-AZA. Alors que l'incidence des rejets aigus dans cette étude était inférieure dans les groupes recevant du SRL, la clairance de créatinine à trois mois était de 62 ml/min ($p < 0,01$ vs AZA), 59 ml/min ($p < 0,001$ vs AZA) et 69 ml/min dans les groupes recevant respectivement le SRL à 2 mg, à 5 mg ou l'AZA et à un an après la transplantation, la clairance de la créatinine était de 62 ml/min ($p < 0,05$ vs AZA), 55 ml/min ($p < 0,001$ vs AZA), et 68 ml/min à un an, respectivement [4]. Dans une étude similaire, Mac Donald et al. ont étudié l'efficacité de deux posologies du SRL sur la prévention des épisodes de rejets aigus en association avec de la CsA. Des différences significatives de clairance de créatinine ont également été observées à trois mois et à six mois. À trois mois, la clairance moyenne de la créatinine dans le groupe recevant 5 mg de SRL était plus basse (55 ml/min) que dans les groupes recevant 2 mg de SRL (59 ml/min, $p = 0,05$) ou le placebo (61 ml/min, $p < 0,01$). Une différence similaire a été observée entre le groupe recevant 5 mg de SRL et le groupe placebo (56 vs 63 ml/min, $p = 0,05$). Ces deux études prospectives incluant près de 1300 patients ont ainsi démontré l'efficacité du SRL en association avec la CsA mais ont également été les premières à mettre en lumière l'effet délétère de cette association sur la fonction rénale. Ces données ont été confirmées par la publication des résultats à deux ans de suivi : les patients recevant 5 mg de SRL avaient une fonction rénale significativement inférieure à celle des patients recevant 2 mg de SRL et à celle du groupe témoin. Ces résultats ont conduit la FDA à recommander d'interrompre la CsA trois mois après la transplantation en cas d'association initiale avec le SRL [17].

Une analyse rétrospective portant sur 23016 transplantés rénaux entre janvier 1988 et juillet 2003 a comparé l'efficacité et la tolérance de l'association CsA-MMF à l'association CsA-SRL. En analyse multivariée, l'association CsA-SRL était corrélée à une majoration du risque de perte de greffon et de dégradation de la fonction rénale [18].

La potentialisation de la néphrotoxicité de la CsA a été également observée lors de l'association de CsA avec l'évé-

rolimus (RAD-001), un dérivé estérifié du SRL, chez le greffé cardiaque. Une étude prospective randomisée a comparé l'efficacité et la tolérance de l'association CsA-RAD-001 à deux posologies (1,5 mg et 3 mg) avec l'association CsA-Azathioprine chez 634 patients receveurs d'une greffe cardiaque. Dès le premier mois de suivi il a été observé une altération significative de la fonction rénale chez les patients traités par CsA-RAD-001 en comparaison avec les patients traités par CsA-Azathioprine. Cela suggère que la potentialisation de la néphrotoxicité de la CsA est liée à un effet de classe des inhibiteurs de mTOR. Il est important de noter que dans les trois groupes de traitement de cette étude, les taux résiduels de CsA ne sont pas significativement différents [19].

Les résultats des études portant sur l'association tacrolimus (TRL) avec le SRL plaident également en faveur d'une potentialisation de la néphrotoxicité du TRL par le SRL tant en ce qui concerne la fonction rénale que la survie des greffons [20,21]. Dans une étude multicentrique randomisée, Mendez et al. ont comparé l'efficacité et la tolérance du MMF et du SRL en association avec le TRL et les stéroïdes chez 361 patients. Un an après la transplantation, la survie des patients (95,7 vs 97,2 %) et la survie des greffons (90,8 vs 94,3 %) étaient similaires dans les deux groupes. Cependant, la survie des greffons à un an dans le groupe recevant le SRL était inférieure à celle des patients traités par le MMF lorsqu'ils avaient eu une reprise retardée de fonction (93 vs 99 %, $p = 0,01$). De plus, la fonction des greffons à un an post-transplantation était significativement meilleure dans le groupe MMF que dans le groupe SRL (créatininémie 114 vs 132 $\mu\text{mol/l}$, $p = 0,03$) [20].

En étudiant les données du registre national américain, Meier-Kriesche et al. ont souligné le caractère délétère de l'association de SRL avec le TRL. Les 44915 patients du registre SRTR greffés entre 2000 à 2004 ont été étudiés. Trois mille cinq cent vingt-quatre patients ont reçu un traitement par TRL en association avec le SRL. En analyse multivariée, ce groupe de patients avait un risque de perte de greffon significativement plus élevé que les autres groupes (hazard ratio : 1,47, IC 95 % : 1,32-1,63). Cette observation a été validée dans tous les sous-groupes, y compris les patients à haut risque immunologique [22].

Données expérimentales

De nombreux modèles animaux ont confirmé la potentialisation de la néphrotoxicité chronique de la CsA par le SRL. Nielsen et plus tard Andoh ont été les premiers à mettre en évidence un effet synergique de l'association CsA-SRL, tant sur l'altération de la fonction rénale que sur la survenue de lésions de néphropathie chronique induite par la CsA [23, 24]. Dans le travail de Nielsen, des rats Sprague-Dawley ont été traités par de la CsA, du TRL et du SRL en différentes combinaisons pendant deux semaines. L'association de CsA et de SRL a été responsable de la plus grande détérioration de fonction rénale. L'étude histologique révélait des scores de néphropathie chronique significativement plus sévères dans les groupes recevant l'association CsA-SRL et dans une moindre mesure l'association TRL-SRL. Il est également important de noter que dans ce modèle, l'association de CsA-SRL n'augmentait pas les concentrations sangui-

nes de CsA. Ces résultats montraient un effet synergique marqué sur la filtration glomérulaire et l'évolution de la fibrose interstitielle lors de l'association CsA-SRL [23].

Ces résultats ont été confirmés par Andoh et al. dans un modèle murin similaire de néphrotoxicité chronique induite par la CsA. Dans cette étude, le SRL n'était pas néphrotoxique lorsqu'il était utilisé seul, mais associé à de faibles posologies de CsA, les lésions de néphrotoxicité étaient similaires à celles observées lorsque de pleines doses de CsA étaient utilisées seules [24].

Ces travaux effectués chez l'animal de même que des études cliniques ont montré que le mécanisme de cette potentialisation néphrotoxique était d'ordre pharmacocinétique, l'utilisation de SRL majorant l'exposition à la CsA. Cette hypothèse a été soulevée par le fait que des doses significativement plus faibles de CsA avaient été nécessaires pour obtenir les mêmes concentrations cibles en cas de traitement concomitant par du SRL dans l'étude de phase III américaine. Il est néanmoins intéressant de noter que dans les essais de phase III, les concentrations résiduelles de CsA étaient similaires dans tous les groupes et que l'aggravation de la néphrotoxicité ne pouvait donc pas être mise sur le compte d'une augmentation des concentrations de CsA sanguines [4,17].

Il existe également une interaction locale entre la CsA et le SRL au niveau intrarénal comme cela a été suggéré pour la première fois par Napoli et al. [25]. Ces auteurs ont montré dans un modèle de rat qu'une interaction pharmacocinétique entre le SRL et la CsA augmentait la concentration, non seulement dans le sang, mais aussi et particulièrement la concentration intrarénale de chaque produit. Plus récemment, une seconde étude menée par Podder et al. a confirmé ces résultats. Des rats ont été soumis à un régime pauvre en sel et traités par des concentrations croissantes de CsA, de SRL ou par une association de CsA et de SRL. Après 14 jours de traitement, la fonction rénale de ces rats était significativement plus altérée dans les groupes CsA-SRL que dans les autres groupes. De plus, l'absorption concomitante de SRL augmentait les concentrations intrarénales de CsA et dans une moindre mesure, dans le sang. Ces résultats confortent donc bien l'idée selon laquelle l'interaction pharmacocinétique entre ces deux molécules se situe essentiellement dans le parenchyme rénal [26].

Les cibles de cette interaction sont en partie inconnues. La CsA et le SRL suivent des voies métaboliques communes et notamment sont pris en charge par les cytochromes P450 3A (CYP3A) et la P-glycoprotéine (P-gp).

Les caractéristiques de la P-gp en font un bon candidat puisque la CsA et le SRL en sont deux substrats, que la P-gp est exprimée par les bordures en brosse des cellules tubulaires rénales et qu'elle joue un rôle de détoxification des cellules en expulsant les xénobiotiques potentiellement toxiques hors de la cellule. Nous avons émis l'hypothèse que la toxicité cellulaire rénale de la CsA était influencée par sa concentration intracellulaire, modulée par l'activité et l'expression de la P-gp. Une interaction avec le SRL au niveau de la P-gp pourrait alors être responsable de l'augmentation de toxicité de la CsA observée en clinique. Nous avons montré dans un modèle de culture primaire de cellules épithéliales rénales humaines exprimant la P-gp que la CsA et le SRL étaient des inhibiteurs de la P-gp et que l'in-

hibition de la P-gp était responsable d'une rétention intracellulaire et d'une augmentation de la concentration intracellulaire de CsA ainsi que d'une majoration de sa cytotoxicité. La P-gp a donc un rôle dans la protection des cellules rénales contre la toxicité de la CsA. La majoration de toxicité rénale de la CsA en association avec le SRL pourrait donc être liée à une interaction entre ces molécules au niveau de la P-gp [27].

Une autre hypothèse implique l'action profibrosante du TGF- β 1 qui est un acteur classique de la survenue de la néphrotoxicité de la CsA. Induit par la CsA, il permet une synthèse accrue de matrice extracellulaire et une réduction de la dégradation de celle-ci, en particulier par la synthèse de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 [28-30]. Il existe des arguments expérimentaux en faveur d'une synthèse accrue de TGF- β 1 par les cellules tubulaires rénales proximales lors de traitements par SRL. Dans un modèle murin, Shihab et al. ont utilisé deux doses de CsA dans le but de déterminer l'impact d'une coadministration de SRL sur la structure, la fonction rénale et la production de TGF- β 1, de PAI-1 et de matrice extracellulaire. Ils ont montré que le SRL seul augmentait significativement la production de TGF- β 1 et qu'en association avec de faibles doses de CsA, la production de TGF- β 1 était multipliée par trois [31]. Le SRL augmenterait donc l'expression de TGF- β 1, notamment de son ARNm et potentialiserait les lésions de néphrotoxicité induites par la CsA.

Sirolimus et retard de reprise de fonction rénale

Données cliniques

La reprise retardée de fonction rénale (RRF) est un des facteurs influençant la survie du greffon à court et à long terme. Afin de limiter le recours précoce aux inhibiteurs de la calcineurine et ainsi de réduire leurs effets délétères potentiels sur des reins à risque de RRF, des protocoles d'épargne en inhibiteurs de la calcineurine ont été développés, en utilisant notamment le SRL. Cependant, il a été rapidement mis en évidence par plusieurs études indépendantes que le SRL était responsable d'un allongement de la durée et de la fréquence des épisodes de reprise retardée de fonction rénale. Mc Taggart et al. ont montré qu'il existe une association statistiquement significative entre l'utilisation de SRL et l'allongement de la reprise de fonction. Ces mêmes auteurs ont suggéré que les patients recevant une pleine dose de SRL avaient deux fois plus de chances de rester en dialyse que les receveurs non traités par du SRL [32]. Il a également été rapporté que la durée du RRF de greffons suboptimaux est également prolongée lors de l'utilisation de SRL [33].

L'association de SRL avec le TRL majore également les lésions de nécrose tubulaire et peut être responsable d'une forme originale de néphropathie avec cylindres. Smith et al. ont montré dans une population de 144 patients, que la RRF était plus fréquente chez les sujets traités par SRL (25 vs 8,9 %, $p = 0,02$) et qu'elle était positivement corrélée avec la dose de SRL ($p = 0,008$). Parmi les patients ayant une tubulopathie, 12 d'entre eux ont développé une forme de néphropathie à cylindres très similaire

à la tubulopathie myélomateuse. Des analyses immunohistochimiques, histologiques et ultrastructurales ont montré que ces cylindres étaient composés essentiellement de débris cellulaires épithéliaux, conduisant à l'hypothèse que le SRL était responsable à la fois d'une inhibition de la cicatrisation de l'épithélium tubulaire, d'une toxicité cellulaire directe et d'une inhibition de la clairance macrophagique des débris cellulaires [34]. D'autres études rétrospectives ultérieures ont confirmé l'existence de cette interaction [35,36].

Données expérimentales

La période de reprise de fonction rénale est caractérisée sur le plan pathologique par une nécrose tubulaire dont la réversibilité et la cicatrisation sont conditionnées par le potentiel prolifératif des cellules tubulaires. Il n'est pas surprenant qu'une molécule aussi puissamment antiproliférative que le SRL puisse inhiber la régénération des cellules tubulaires rénales et ainsi allonger la durée de la reprise de fonction. Cet effet antiprolifératif a initialement été observé in vitro dans un modèle de culture de cellules tubulaires de souris [37] et in vivo chez le rat dans un modèle de greffe rénale à haut risque de RRF compte tenu d'une durée d'ischémie froide de 39 heures [38].

Nous avons montré récemment à partir d'un modèle de culture primaire de cellules tubulaires humaines que le SRL exerçait un effet antiprolifératif dépendant de sa concentration en inhibant la transition de la phase G1 à la phase S. Cet effet antiprolifératif est conditionné à la fois par l'inhibition de l'activité de la p70^{S6k} et par l'inhibition de la synthèse de cycline D3. Dans ce modèle, la diminution de production de cycline D3 était liée à un effet post-transcriptionnel d'altération de la stabilité et de la demi-vie de l'ARNm de la cycline D3 [39].

Sirolimus et protéinurie

Données cliniques

Un certain nombre d'études ont évalué la tolérance et l'efficacité de la conversion d'inhibiteurs de la calcineurine pour le SRL afin d'éviter ou de limiter la néphrotoxicité. Ces conversions ont été compliquées chez un certain nombre de patients de protéinuries de débit parfois néphrotique [40-42]. Dans une étude rétrospective récente, Letavernier et al. ont étudié la survenue d'une protéinurie après remplacement de la CsA pour le SRL chez 68 patients greffés rénaux. La protéinurie moyenne avant switch était de $0,39 \pm 0,69$ g/j et se majorait significativement après le switch à $1,44 \pm 1,9$ g/j à trois mois et à $1,41 \pm 1,39$ g/j à un an. Cette protéinurie était en partie réversible puisque chez les 19 patients chez lesquels la CsA a été réintroduite, la protéinurie moyenne est passée de $1,95 \pm 2,06$ g/j à $0,9 \pm 1,41$ g/j [42]. Dans une autre étude rétrospective, sur une population de 29 patients greffés rénaux ayant eu un switch de ciclosporine pour la rapamycine 14 ont développé une protéinurie de haut débit ($1,83 \pm 1,26$ g/24 heures) attribuée aux modifications hémodynamiques induites par l'arrêt des anticalcineurines [43].

La survenue de protéinuries survenant lors de l'utilisation de SRL chez des patients transplantés rénaux n'ayant jamais reçu d'inhibiteurs de la calcineurine a également été décrite. Une analyse des données de suivi des patients transplantés rénaux à l'hôpital Necker recevant un traitement immunosuppresseur fondé sur du SRL sans ciclosporine a souligné l'existence de protéinuries de haut débit spontanément résolutive chez un nombre important de patients. Parmi les 17 patients étudiés, Morelon et al. ont observé l'apparition d'une protéinurie moyenne de 2,73 g/j chez 14 d'entre une semaine après le début du traitement. Cette protéinurie a régressé spontanément à une valeur moyenne de 0,33 g/j à quatre mois. L'incidence des protéinuries sous SRL est probablement sous-estimée en raison de l'absence de surveillance systématique de la protéinurie aux États-Unis [44].

Une protéinurie peut également se développer chez des patients transplantés rénaux traités par l'évérolimus, ce qui constitue un argument en faveur d'un effet lié à l'inhibition de mTOR. Cinq cent quatre-vingt-trois patients receveurs d'une greffe rénale ont été inclus dans une étude randomisée et multicentrique au cours de laquelle ils ont été traités par 3 ou 1,5 mg d'évérolimus ou par 2 g/j de MMF en association avec de la CsA et des corticostéroïdes. Avec un suivi de 36 mois, l'incidence du critère composite d'efficacité qui incluait rejets aigus et les pertes de greffons était similaire dans les groupes évérolimus 1,5, 3 mg/j et MMF, 33,7, 34 et 31,1 %, respectivement. Cependant, les patients traités par évérolimus aux deux posologies avaient développé significativement plus de protéinurie que les patients traités par MMF : 11,6 % des patients recevant 3 mg/j d'évérolimus et 11,4 % des patients traités par 1,5 mg/j avaient une protéinurie de plus de 1 g/j contre 2,4 % des patients traités par MMF [45].

Ont été également observées des protéinuries sous SRL chez des patients non greffés rénaux, notamment chez des patients ayant eu une greffe d'îlots pancréatiques. Trois cas de protéinurie allant de 1 à 7 g/j ont été rapportés chez ces patients recevant du SRL en association avec du TRL à petite dose. Ces protéinuries ont été réversibles à l'arrêt du traitement par SRL, remplacé par le MMF. Les biopsies rénales de ces patients présentaient des lésions de néphropathie diabétique. Dans cette série, cinq cas de microalbuminurie ont été également détectés et résolutifs à l'arrêt du SRL [46].

Des séries pédiatriques font également part de la survenue de protéinuries survenant lors de switchs d'anticalcineurines pour du SRL. Récemment, il a été montré que dans une population de 13 enfants recevant du SRL en thérapie de sauvetage, 12 ont développé une protéinurie néphrotique après un délai de $1 \pm 0,9$ mois [47]. Ces données n'ont pas été confirmées par une autre étude [48].

Données expérimentales

Le mécanisme exact de l'apparition de la protéinurie sous SRL est inconnu mais plusieurs hypothèses ont été proposées. Il a été suggéré que cette protéinurie constitue le reflet d'une moindre exposition aux effets vasoconstricteurs des anticalcineurines. La régression de la protéinurie après l'arrêt du SRL et la réintroduction de la CsA est un

argument fort en faveur du caractère hémodynamique de cette protéinurie. Des données récentes suggèrent que la pression de filtration glomérulaire augmente significativement après remplacement de la CsA par du SRL alors que la réserve fonctionnelle rénale diminue parallèlement, ces deux phénomènes caractérisant l'hyperfiltration glomérulaire [49].

Néanmoins, la survenue brutale d'une protéinurie de haut débit chez des patients n'ayant pas de protéinurie avant la conversion et l'existence de protéinuries survenant chez des patients n'ayant jamais reçu d'anticalcineurine ne vont pas dans le sens d'un effet hémodynamique isolé.

La raison pour laquelle le SRL augmente la perméabilité capillaire glomérulaire n'est pas connue et il n'existe pas à l'heure actuelle de modèle animal de toxicité glomérulaire du SRL. Il a été récemment montré à propos d'un cas de glomérulopathie collapsante que le SRL pouvait être associé à une surexpression de VEGF (*vascular endothelial growth factor*) par les capillaires glomérulaires [50].

D'autres mécanismes pourraient être impliqués. Le SRL pourrait être responsable d'une inhibition de la réabsorption tubulaire proximale d'albumine comme cela a été montré par immunohistochimie à propos d'un patient traité par SRL qui a développé une protéinurie massive régressive lors de l'introduction de tacrolimus [51].

Par ailleurs, l'utilisation de SRL pourrait aggraver des lésions glomérulaires protéinuriques préexistantes [52]. Frevenza et al. ont décrit une série de 11 patients porteurs d'une glomérulopathie chronique (hyalinose segmentaire et focale, maladie de Berger, glomérulonéphrite extramembraneuse et glomérulonéphrite membranoproliférative) traités par SRL. Parmi ces patients, six ont développé une insuffisance rénale aiguë, régressive dans quatre cas à l'arrêt du SRL. Les mécanismes de cette aggravation sont inconnus [53].

Des données récentes montrent que le SRL peut, à l'inverse améliorer les lésions de fibrose interstitielle induites par une protéinurie glomérulaire. Dans un modèle de rats recevant un anticorps anti-Fx1a et développant une glomérulonéphrite extramembraneuse, l'activité inflammatoire liée à la protéinurie était contrôlée par l'utilisation de SRL tant sur le plan de l'expression de gènes pro-inflammatoires (TGF- β , PDGF, MCP-1) que sur le plan de la fibrose interstitielle [54]. Ces données concernant la régulation de la synthèse de TGF- β par le SRL apparaissent contradictoires avec les résultats des travaux montrant une augmentation de la synthèse de TGF- β par le SRL [33,55]. Le modèle de glomérulonéphrite extramembraneuse par anticorps anti-Fx1a est caractérisé par une protéinurie de haut débit responsable d'une réaction inflammatoire parenchymateuse intense. Le SRL exerce un effet antiprolifératif sur ces cellules mononucléées, réduisant ainsi l'inflammation locale induite par la protéinurie et ainsi la production de TGF- β .

Microangiopathies thrombotiques et sirolimus

Un nombre croissant d'observations et de petites séries font part de l'existence de phénomènes de microangiopathies thrombotiques (MAT) sous SRL. Une étude rétrospective fondée sur le registre de l'USRDS des patients remboursés par Medicare ayant reçu un greffon rénal entre 1998 et

2000 a évalué l'incidence des MAT après transplantation rénale et les facteurs de risque associés. L'incidence des MAT de novo après transplantation rénale était de 5,6 épisodes pour 1000 patients-année, avec un risque maximal à trois mois de la greffe. Les facteurs de risque de développer cette pathologie étaient : un âge jeune du receveur, un donneur âgé, un receveur féminin et l'utilisation de SRL [56]. L'incidence des MAT sous SRL est mal connue et varie selon les études de 1,5 à 15 % en fonction des critères diagnostiques utilisés et des associations d'immunosuppresseurs [56-58].

Il existe très certainement une susceptibilité individuelle au développement d'une MAT post-transplantation. De plus, la majorité des cas de MAT sous SRL ont été décrits en cas d'association à un inhibiteur de la calcineurine [57-60] ce qui suggère que la survenue d'une MAT sous SRL est favorisée par l'existence préalable de lésions endothéliales rénales induites par les inhibiteurs de la calcineurine. Le SRL, en inhibant mTOR est responsable à la fois d'un arrêt de la prolifération d'un très grand nombre de types cellulaires dont les cellules endothéliales et d'une diminution de la synthèse de VEGF (*vascular endothelial growth factor*) qui est un facteur essentiel impliqué dans la survie des cellules endothéliales. Il a été montré in vivo chez l'homme que le SRL était responsable d'une diminution de la synthèse de VEGF par les podocytes dans un contexte de MAT [61]. L'hyperplasie endothéliale, en recouvrant les thrombus plaquettaires est un élément de réparation des lésions de MAT. Le SRL inhibe la prolifération endothéliale et la cicatrisation de l'endothélium et ainsi pourrait favoriser et pérenniser l'aggrégation plaquettaire et la cascade de la coagulation [62,63].

Les descriptions de MAT développées chez des patients n'ayant jamais reçu d'inhibiteurs de la calcineurine sont beaucoup plus rares ce qui conforte l'hypothèse selon laquelle le SRL agit comme un facteur aggravant des lésions vasculaires préexistantes. Dans leur série, Sartelet et al. décrivent quatre cas de MAT de novo sur greffon rénal chez des patients ne recevant pas d'inhibiteur de la calcineurine dont trois présentent un rejet aigu cellulaire et une probable glomérulopathie d'allogreffe [64]. Récemment, Pelle et al. ont publié trois cas de MAT survenant chez des patients receveurs d'un greffon marginal, qui pour cette raison ont reçu un traitement immunosuppresseur sans inhibiteur de la calcineurine comportant l'association de corticostéroïdes, de SRL et de MMF [65]. Dans ces deux études, bien que les patients ne recevaient pas d'inhibiteur de la calcineurine, l'hypothèse de lésions endothéliales préalables par l'intermédiaire de lésions de rejet aigu dans un cas ou d'altérations structurelles vasculaires préexistantes dans l'autre cas peut être soulevée.

Conclusion

La découverte du SRL a permis de mettre en évidence le rôle fondamental de la protéine kinase mTOR et de ses effecteurs p70^{S6K} et 4E-BP1 dans la régulation de la croissance et de la prolifération cellulaire. L'inhibition de mTOR par le complexe SRL (ou analogues)-FKBP12 est responsable d'un effet antiprolifératif majeur sur un grand nombre de types cellulaires. Cette activité antiproliférative ubiqui-

taire peut probablement être à l'origine d'une partie des effets secondaires observés avec cette nouvelle classe thérapeutique.

Il est actuellement établi que le SRL est pourvu d'un réel potentiel néphrotoxique qui semble néanmoins induit par l'existence préalable de lésions parenchymateuses, tubulaires, endothéliales ou glomérulaires. Ces observations doivent donc être prises en compte dans la stratégie d'utilisation de cette famille de molécules qui, compte tenu de la place centrale de mTOR dans la biologie du cycle cellulaire, trouvera probablement d'autres applications cliniques reposant sur ses effets antiprolifératifs dans les années à venir.

Références

- [1] Thomas G, Hall MN. TOR signalling and control of cell growth. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9:782-7.
- [2] Jefferies HB, Fumagalli S, Dennis PB, Reinhardt C, Pearson RB, Thomas G. Rapamycin suppresses 5'TOP mRNA translation through inhibition of p70^{S6K}. *EMBO J* 1997;16:3693-704.
- [3] Burnett PE, Barrow RK, Cohen N, Snyder SH, Dababini DMRAFT. 1-phosphorylation of the translational regulators stability p70 S6 kinase and 4E-BP1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:1432-7.
- [4] Kahan BD for the rapamune US study group. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for the reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. *Lancet* 2000;356:194-202.
- [5] Keogh A, Richardson M, Ruygrok P, Spratt P, Galbraith A, O'Driscoll G, et al. Sirolimus in de novo heart transplant recipients reduces acute rejection and prevents coronary artery disease at two years: a randomized clinical trial. *Circulation* 2004;110:2694-700.
- [6] Snell GI, Valentine VG, Vitolo P, Glanville AR, McGiffin DC, Loyd JE, et al. RAD-B159 study group. Everolimus versus azathioprine in maintenance lung transplant recipients: an International, randomized, double-blind clinical trial. *Am J Transplant* 2006;6:169-77.
- [7] Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, et al. A comparison of balloon-expandable stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent study group. *N Engl J Med* 1994;331:489-95.
- [8] Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, et al. Ravel study group. Randomized study with the sirolimus-coated Bx velocity balloon-expandable stent in the treatment of patients with de novo native coronary artery lesions. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med* 2002;346:1773-80.
- [9] Sawyers ML. Will mTOR make it cancer drugs? *Cancer Cell* 2003;343-8.
- [10] Bjornsti MA, Houghton PJ. The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004;4:335-48.
- [11] Beuvink I, Boulay A, Fumagalli S, Zilbermann F, Ruetz S, O'Reilly T, et al. The mTOR inhibitor RAD-001 sensitizes tumor cells to DNA-damaged induced apoptosis through inhibition of p21 translation. *Cell* 2005;120:747-59.
- [12] Yu K, Toral-Barza L, Discafani C, Zhang WG, Skotnicki J, Frost P, et al. mTOR, a novel target in breast cancer: the effect of CCI-779, an mTOR inhibitor, in preclinical models of breast cancer. *Endocrine-Relat Cancer* 2001;8:249-58.
- [13] Mita MM, Mita A, Rowinsky EK. The molecular target of Rapamycin (mTor) as a therapeutic target against cancer. *Cancer Biol Ther* 2003;2(Suppl 1):S169-77.

- [14] Poh TW, Pervaiz S. LY294002 and LY303511 sensitize tumor cells to drug-induced apoptosis via intracellular hydrogen peroxide production independent of the phosphoinositide 3-kinase-Akt pathway. *Cancer Res* 2005;65:6264-74.
- [15] Inoki K, Corradetti MN, Guan KL. Dysregulation of the TSC mTOR pathway in human disease. *Nat Gen* 2005;37:19-24.
- [16] Tao Y, Kim J, Schrier RW, Edelstein CL. SRL markedly slows disease progression in a rat model of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:46-51.
- [17] MacDonald AS. A worldwide, phase III, randomized, controlled, safety and efficacy study of a sirolimus-cyclosporine regimen for prevention of acute rejection in recipients of primary mismatched renal allografts. *Transplantation* 2001;71:271-80.
- [18] Meier-Kriesche HU, Steffen BJ, Chu AH. Sirolimus with neoral versus mycophenolate mofetil with neoral is associated with decreased renal allograft survival. *Am J Transplant* 2004;4:2058-66.
- [19] Eisen HJ, Tuzcu EM, Dorent R, et al. RAD-B253 study group. Everolimus for the prevention of allograft rejection and vasculopathy in cardiac-transplant recipients. *N Engl J Med* 2003;349:847-58.
- [20] Mendez R, Gonwa T, Yang HC, Weinstein S, Jensik S, Steinberg S, Prograf study group. A prospective, randomized trial of tacrolimus in combination with sirolimus or mycophenolate mofetil in kidney transplantation: results at one year. *Transplantation* 2005;80:303-9.
- [21] Hamdy AF, El-Agroudy AE, Bakr MA, Mostafa A, El-Baz M, El-Shahawy E-M, et al. Comparison of sirolimus with low-dose tacrolimus versus sirolimus-based calcineurin inhibitor-free regimen in live donor renal transplantation. *Am J Transplant* 2005;10:2531-8.
- [22] Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Howard RJ, Fujita S, Kaplan B. Sirolimus in combination with tacrolimus is associated with worse allograft survival compared to mycophenolate mofetil combined with tacrolimus. *Am J Transplant* 2005;9:2273-80.
- [23] Nielsen FT, Ottosen P, Starklint H, Dieperink H. Kidney function and morphology after short-term combination therapy with cyclosporine A, tacrolimus and sirolimus in the rat. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:491-6.
- [24] Andoh TF, Lindsley J, Franceschini N, Bennett WM. Synergistic effects of cyclosporine and rapamycin in a chronic nephrotoxicity model. *Transplantation* 1996;62:311-6.
- [25] Napoli KL, Wang ME, Strepkowski SM, Kahan BD. Relative tissue distribution of cyclosporine and sirolimus after concomitant peroral administration to the rat: evidence for pharmacokinetic interactions. *Ther Drug Monit* 1998;20:123-33.
- [26] Podder H, Stepkowski SM, Napoli KL, Clark J, Verani RR, Chou TC, et al. Pharmacokinetic interactions augment toxicities of sirolimus-cyclosporine combination. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1059-71.
- [27] Anglicheau D, et al. *Néphrologie* 2003 (vol 5 ; abstract SFN N° 144).
- [28] Shihab FS, Andoh TF, Tanner AM, Noble NA, Border WA, Franceschini N, et al. Role of transforming growth factor β -1 in experimental chronic nephropathy. *Kidney Int* 1996;49:1141-51.
- [29] Shihab FS, Yi H, Bennett WM, Andoh TF. Effect of nitric oxide modulation on TGF- β 1 and matrix proteins in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2000;58(3):1174-85.
- [30] Shihab FS, Bennett WM, Tanner AM, Andoh TF. Angiotensin II blockade decreases TGF- β 1 and matrix proteins in chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 1997;52:660-73.
- [31] Shihab F, Bennett WM, Yi H, Choi SO, Andoh TF. Sirolimus increases transforming growth factor- β 1 expression and potentiates chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2004;65:1262-71.
- [32] McTaggart RA, Gottlieb D, Brooks J, Bacchetti P, Roberts JP, Tomlanovich S, Feng S. Sirolimus prolongs recovery from delayed graft function after cadaveric renal transplantation. *Am J Transplant* 2003;3:416-23.
- [33] Stallone G, Infante B, Schena A, Battaglia M, Ditunno P, Loverre A, et al. Addition of Sirolimus to cyclosporine delays the recovery from delayed graft function but does not affect 1-year graft. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:228-33.
- [34] Smith KD, Wrenshall LE, Nicosia RF, Pichler R, Marsh CL, Alpers CE, et al. Delayed graft function and cast nephropathy associated with tacrolimus plus rapamycin use. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1037-45.
- [35] Boratynska M, Banasik M, Patrzalek D, Szyber P, Klinger M. Sirolimus delays recovery from post transplant renal failure in kidney graft recipients. *Transplant Proc* 2005;37:839-42.
- [36] Simon JF, Swanson SJ, Agodoa LY, Cruess DF, Bohen EM, Abbott KC. Induction sirolimus and delayed graft function after deceased donor kidney transplantation in the United States. *Am J Nephrol* 2004;24:393-9.
- [37] Lieberthal W, Fuhro R, Andry CC, Rennke H, Abernathy VE, Koh JS, et al. Rapamycin impairs recovery from acute renal failure: role of cell-cycle arrest and apoptosis of tubular cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;281:F693-F706.
- [38] Fuller TF, Freise CE, Serkova N, Niemann CU, Olson JL, Feng S. Sirolimus delays recovery of rat kidney transplants after ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 2003;76:1594-9.
- [39] Pallet N, Thervet E, Le Corre D, Knebelmann B, Nusbaum P, Tomkiewicz C, et al. Rapamycin inhibits human epithelial cells proliferation: effect on cyclin D3 mRNA expression and stability. *Kidney Int* 2005;67:2422-33.
- [40] Diekmann F, Waiser J, Fritsche L, Dragun D, Neumayer HH, Budde K. Conversion to rapamycin in renal allograft recipients with biopsy-proven calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2001;33:3234-5.
- [41] Bumble V, Kamar N, Ribes D, Esposito L, Modesto A, Guitard J, et al. Long-term results in renal transplant patients with allograft dysfunction after switching from calcineurin inhibitors to sirolimus. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20(11):2517-23.
- [42] Letavernier E, Pe'raldi MN, Pariente A, Morelon E, Legendre C. Proteinuria following a switch from calcineurin inhibitors to sirolimus. *Transplantation* 2005;80:1198-203.
- [43] Dervaux T, Caillard S, Meyer C, Ellero B, Woehl-Jaegle ML, Hannedouche T, et al. Is sirolimus responsible for proteinuria? *Transplant Proc* 2005;37:2828-9.
- [44] Morelon E, Kreis H. Sirolimus therapy without calcineurine inhibitors: Necker hospital 8-years experience. *Transplant Proc* 2003;35:525-575.
- [45] Lorber MI, Mulgaonkar S, Butt KM, Elkhannas E, Mendez R, Rajagopalan PR, et al. B251 study group. Everolimus versus mycophenolate mofetil in the prevention of rejection in de novo renal transplant patients: a three years randomized, multicenter, phase III study. *Transplantation* 2005;80:244-52.
- [46] Senior PA, Paty BW, Cockfield SM, Ryan EA, Shapiro AM. Proteinuria developing after clinical islet transplantation resolves with sirolimus withdrawal and increased tacrolimus dosing. *Am J Transplant* 2005;9:2318-23.
- [47] Butani L. Investigation of pediatric renal transplant recipients with heavy proteinuria after sirolimus rescue. *Transplantation* 2004;78(9):1362-6.
- [48] Ibanez JP, Monteverde ML, Goldberg J. Sirolimus in pediatric renal transplantation. *Transplant Proc* 2005;37:682-6.
- [49] Aurina S, Campistol JM, Piera C, Diekmann F, Campos B, Campos N, et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in chronic allograft dysfunction: changes in glomerular haemodynamics and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:488-93.

- [50] Izzedine H, Brocheriou I, Frances C. Post-transplant proteinuria and sirolimus. *N Engl J Med* 2005;359:2088-9.
- [51] Straathof-Galema L, Wetzels JF, Dijkman HB, Steenberg EJ, Hilbrands LB. Sirolimus-associated heavy proteinuria in a renal transplant recipient : evidence for a tubular mechanism. *Am J Transplant* 2006;6:429-33.
- [52] Daniel C, Ziswiler R, Frey B, Pfister M, Marti HP. Proinflammatory effects in experimental mesangial proliferative glomerulonephritis of the immunosuppressive agent SDZ RAD, a rapamycin derivate. *Exp Nephrol* 2000;8:52-62.
- [53] Fervenza FC, Fitzpatrick PM, Mertz J, Erickson SB, Liggett S, Popham S, et al. Mayo nephrology collaborative committee. Acute rapamycin nephrotoxicity in native kidneys of patients with chronic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transpl* 2004;19:1288-92.
- [54] Bonegio RG, Fuhro R, Wang Z, Valeri CR, Andry C, Salant DJ, et al. Rapamycin ameliorates proteinuria-associated tubulointerstitial inflammation and fibrosis in experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2063-72.
- [55] Ninova D, Covarrubias M, Rea DJ, Park WD, Grande JP, Stegall MD. Acute nephrotoxicity of tacrolimus and sirolimus in renal isografts: differential intragraft expression of transforming growth factor-beta1 and alpha-smooth muscle actin. *Transplantation* 2004;78:338-44.
- [56] Reynolds JC, Agodoa LY, Yuan CM, Abbott KC. Thrombotic microangiopathy after renal transplantation in the United States. *Am J Kidney Dis* 2003;42:1058-68.
- [57] Fortin MC, Raymond MA, Madore F, Fugere JA, Paquet M, St-Louis G, et al. Increased risk of thrombotic microangiopathy in patients receiving a cyclosporin-sirolimus combination. *Am J Transplant* 2004;4:946-52.
- [58] Langer RM, Van Buren CT, Katz SM, Kahan BD. De novo hemolytic uremic syndrome after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-sirolimus combination. *Transplantation* 2002;73:756-60.
- [59] Robson M, Cote I, Abbs I, Koffman G, Goldsmith D. Thrombotic microangiopathy with sirolimus-based immunosuppression: potentiation of calcineurin-inhibitor-induced endothelial damage? *Am J Transplant* 2003;3:324-7.
- [60] Saikali JA, Truong LD, Suki WN. Sirolimus may promote thrombotic microangiopathy. *Am J Transplant* 2003;3:229-30.
- [61] Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, Bruns, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002;8:128-35.
- [62] Bruns CJ, Koehl GE, Guba M, Yezhelyev M, Steinbauer M, Seeliger H, et al. Rapamycin-induced endothelial cell death and tumor vessel thrombosis potentiate cytotoxic therapy against pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:2109-19.
- [63] Babinska A, Markell MS, Salifu MO, Akoad M, Ehrlich YH, Kornecki E. Enhancement of human platelet aggregation and secretion induced by rapamycin. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:3153-9.
- [64] Sartelet H, Toupance O, Lorenzato M, Fadel F, Noel LH, Lagonotte E, et al. Sirolimus-induced thrombotic microangiopathy is associated with decreased expression of vascular endothelial growth factor in kidney. *Am J Transplant* 2005;5:2441-7.
- [65] Pelle G, Xu Y, Khoury N, Mougenot B, Rondeau E. Thrombotic microangiopathy in marginal kidneys after sirolimus use. *Am J Kidney Dis* 2005;46:1124-8.