

Université de Montréal

**IMPACT DE L'INSUFFISANCE RÉNALE SUR LE
SYSTÈME ENDOCRINIEN DE LA VITAMINE D₃ CHEZ LE RAT**

par

Nicolas Jaffry

Département de Nutrition

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès Science (M.Sc.)
en nutrition

Avril 2004

© Nicolas Jaffry, 2004



QU

145

U58

2004

V. 015

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Impact de l'insuffisance rénale sur le
système endocrinien de la vitamine D₃ chez le rat

Présenté par :
Nicolas Jaffry

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Émile Lévy : président-rapporteur

Marielle Gascon-Barré : directrice de recherche

Vincent Pichette : membre du jury



RÉSUMÉ

L'insuffisance rénale (IR) est associée, non seulement à une baisse progressive de la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (hormone de la vitamine D) mais également à une sous-régulation de plusieurs cytochromes P450 (CYP) hépatiques. De plus, le rein constitue le site principal d'expression du CYP27B1, l'enzyme responsable de la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Par ailleurs, de nombreux tissus, dont le foie, possèdent la capacité de synthétiser le CYP27B1 sous certaines conditions physiopathologiques alors que le foie est le site majeur d'expression du CYP3A4, un cytochrome P450 responsable du métabolisme de plusieurs xénobiotiques. Les objectifs de cette étude sont 1) d'évaluer les répercussions de l'IR dans le foie et le rein, sur l'expression génique du *CYP3A4* et des cytochromes P450 responsables de la bioactivation de la vitamine D soit le *CYP27A1* (vitamine D-25-hydroxylase) et *CYP27B1* (vitamine D 1α -hydroxylase) et 2) de déterminer s'il existe une production extra-rénale de l'hormone $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ via l'induction de l'enzyme CYP27B1 dans le foie. L'influence de l'IR a été évaluée chez le rat hypocalcémique carencé en vitamine D (Ca-D-). L'IR a été induite par l'ablation partielle (5/6) (chronique) ou totale des reins (aiguë). Des hépatectomies partielles ont également été pratiquées. D'autre part, nous avons évalué l'effet d'une dose aiguë de vitamine D_3 sur les concentrations sériques de 25OHD_3 et $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Les expressions géniques des cytochromes *CYP3A4*, *CYP27A1*, *CYP27B1* et du récepteur nucléaire de la vitamine D (*VDR*) ont été analysées par Northern et/ou par RT-PCR. Nos résultats montrent dans le foie que l'IR diminue significativement l'expression génique du *CYP3A4*, alors qu'elle augmente significativement celles du *CYP27A1*, *CYP27B1* et *VDR* chez les animaux Ca-D-. Par ailleurs, dans le rein, le *CYP27B1* n'est pas affecté par l'IRC. De plus, l'effet additionnel d'une hépatectomie partielle chez des animaux en IR aiguë suggère que le foie participe à l'homéostasie de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Les progrès accomplis permettent de mieux comprendre l'importance de la synthèse extra-rénale de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dans le maintien de l'homéostasie calcique en IR..

Mots clés : insuffisance rénale, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, cytochrome P450, récepteur à la vitamine D, métabolites de la vitamine D, ARN messenger

ABSTRACT

Renal failure (RF) is associated with a reduced production of the vitamin D hormone, 1,25-dihydroxyvitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) and with a down-regulation of several hepatic cytochromes P450 (CYP). Indeed, the kidney is the major site for the synthesis of the cytochrome CYP27B1, the vitamin D 1α -hydroxylase, which is responsible for production of the $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. In addition, renal failure has been shown to be associated with a decrease in several cytochromes P450 involved in drug metabolism such as CYP1A and 3A. The specific aims of our research were : 1) to evaluate the effect of renal failure effects on *CYP3A4* (an enzyme involved in drug metabolism), *CYP27A1* and *CYP27B1* (two enzymes responsible for the bioactivation of vitamin D) mRNA levels 2) to evaluate the extra-renal production of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. The influence of renal failure was evaluated in hypocalcemic and vitamin D depleted rats (Ca-D-). Renal failure was obtained by either bilateral nephrectomy (acute renal failure or ARF) or by removal of 5/6 of the renal mass (chronic renal failure or CRF). In a subset of animals, partial hepatectomies were also performed. *CYP3A4*, *CYP27A1*, *CYP27B1* and *VDR* (vitamin D receptor) mRNA levels were evaluated by Northern Blot analysis or RT-PCR. Serum 25OHD_3 and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ levels were also determined following an acute injection of vitamin D. Data indicate that chronic renal failure does not influence the mRNA levels of remaining kidney *CYP27B1*. In acute or chronic renal failure rats, our results revealed a marked downregulation in gene expression of hepatic *CYP3A4* while gene expression of *CYP27A1*, *CYP27B1* and *VDR* were considerably increased. Otherwise, in the kidney, the levels of *CYP27B1* were not modified in CRF rats compared with control rats. In addition, the combination of acute renal failure and partial hepatectomy revealed that the liver significantly influences the handling of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. These results suggest that in our model of renal failure, an extra-renal production of active hormone of the vitamin D was present and that this production could be important in the maintenance of the vitamin D endocrine system.

Key words : renal failure, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, cytochrome P450, vitamin D receptor, vitamin D metabolites, messenger RNA

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	xi
Liste des sigles.....	xv
Liste des abréviations.....	xvi
REMERCIEMENTS.....	xvii
CHAPITRE I INTRODUCTION.....	1
1. L'insuffisance rénale.....	2
1.1 Définition.....	2
1.2 Les causes de l'insuffisance rénale.....	2
1.2.1 Facteurs étiologiques de l'IRA.....	2
1.2.2 Facteurs étiologiques de l'IRC.....	4
1.3 Traitement de l'insuffisance rénale chronique.....	4
1.4 Les toxines urémiques.....	5
2. Le système endocrinien de la vitamine D.....	7
2.1 Introduction.....	7
2.2 Le métabolisme de la vitamine D ₃	7
2.2.1 Les sources de vitamine D ₃	7
2.2.2 La bio-activation de la vitamine D.....	7
A. La vitamine D ₃ -25-hydroxylase (CYP27A1).....	9
B. La 25OHD ₃ -1- α hydroxylase (CYP27B1).....	9
2.2.3 Catabolisme de la vitamine D.....	10
2.3 Le récepteur à la vitamine D.....	11
2.4 Actions biologiques de la vitamine D.....	13
3. L'insuffisance rénale et le système endocrinien de la vitamine D.....	14

3.1 Diminution de la capacité de synthèse de la 1,25(OH) ₂ D ₃ et de l'expression du VDR.....	14
3.2 Effet des faibles concentrations de 1,25(OH) ₂ D ₃ sur les tissus cibles de la vitamine D.....	15
3.3 Production extrarénale de 1,25(OH) ₂ D ₃ en insuffisance rénale.....	15
3.4 L'hyperparathyroïdie secondaire.....	16
3.5 Utilisation d'analogues de la vitamine D dans le traitement de l'insuffisance rénale.....	17
4. Métabolisme hépatique en condition d'insuffisance rénale.....	18
4.1 Les cytochromes P450.....	18
4.2 Importance du cytochrome P450 3A4 dans le métabolisme des xénobiotiques et des médicaments.....	20
4.2.1 Le CYP3A4.....	20
4.2.2 Le PXR, le récepteur nucléaire responsable de l'action médiée par le CYP3A4.....	21
4.2.3 Implication du VDR dans l'expression génique du <i>CYP3A4</i>	22
4.3 Principaux changements de la fonction hépatique dans l'insuffisance rénale chronique.....	22
4.4 Régulation des cytochromes P450 par l'inflammation.....	24
4.5 Effet de l'insuffisance rénale sur le métabolisme hépatique des cytochromes P450.....	25
5. Prémices et hypothèse.....	26
5.1 Prémices.....	26
5.2 Hypothèse.....	26
6. Objectifs.....	27
CHAPITRE II MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	28
7. Protocole expérimental.....	29
7.1 Induction de la carence en vitamine D.....	29
7-2 Traitement chirurgical.....	29

7.2.1	Modèle animal d'insuffisance rénale aiguë (IRA).....	31
7.2.2	Modèle animal d'insuffisance rénale chronique (IRC).....	31
7.2.3	Hépatectomie.....	32
7.3	Administration de vitamine D ₃	32
7.4	Analyse des paramètres du métabolisme phospho-calcique.....	34
7.5	Analyses des paramètres des métabolites de la vitamine D ₃ et de la parathormone.....	34
7.6	Analyses relatives à l'évaluation de l'expression génique.....	34
7.6.1	Extraction des ARN.....	34
7.6.2	Synthèse d'ADNc.....	35
7.6.3	Réaction de PCR.....	35
7.6.4	Électrophorèse et transfert de Northern.....	38
7.6.5	Hybridation avec la sonde CYP3A4.....	38
7.7	Analyses statistiques.....	40
CHAPITRE III RÉSULTATS		41
8.	RÉSULTATS.....	42
8.1	Caractérisation du modèle animal.....	42
8.1.1	Concentrations sériques du calcium.....	42
8.1.2	Concentrations sériques de créatinine.....	42
8.1.3	Concentrations sériques de la parathormone.....	45
8.1.4	Concentrations sériques du phosphore.....	45
8.2	Influence de l'insuffisance rénale sur le métabolisme des médicaments.....	48
8.2.1	Effet de divers inducteurs sur l'expression génique du <i>CYP3A4</i> hépatique.....	48
8.2.2	Expression génique du <i>CYP3A4</i> hépatique en IRA.....	49
8.2.3	Expression génique du <i>CYP3A4</i> hépatique en IRC.....	49
PARTIE A L'INSUFFISANCE RÉNALE AIGUË.....		52
8.3	Impact de l'IRA et réplétion avec la vitamine D ₃ sur le système endocrinien de la vitamine D.....	53

8.3.1 Expression génique du <i>CYP27A1</i> hépatique.....	53
8.3.2 Concentrations sériques de 25-hydroxyvitamine D ₃ (25OHD ₃).....	53
8.3.3 Expression génique du <i>CYP27B1</i> hépatique.....	58
8.3.4 Concentrations sériques de 1,25-dihydroxyvitamine D ₃	60
8.3.5 Expression génique du <i>VDR</i> hépatique.....	64
8.3.6 Tableau récapitulatif.....	64
PARTIE B L'INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE.....	67
8.4 Impact de l'IRC et réplétion avec la vitamine D ₃ sur le système endocrinien de la vitamine D.....	68
8.4.1 Expression génique du <i>CYP27A1</i> hépatique.....	68
8.4.2 Concentrations sériques de 25-hydroxyvitamine D ₃ (25OHD ₃).....	68
8.4.3 Expression génique du <i>CYP27B1</i> hépatique et rénal.....	72
8.4.4 Concentrations sériques de 1,25-dihydroxyvitamine D ₃	75
8.4.5 Expression génique du <i>VDR</i> hépatique.....	80
8.4.6 Tableau récapitulatif.....	80
CHAPITRE IV DISCUSSION ET CONCLUSION.....	83
9. Discussion.....	84
10. Conclusion.....	92
CHAPITRE V RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	94
11. Références.....	95

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	
Composés potentiellement toxiques qui s'accumulent en insuffisance rénale.....	6
Tableau 2	
Les dérivés de la vitamine D utilisés pour le traitement médical de l'hyperparathyroïdie secondaire dans l'insuffisance rénale chronique.....	19
Tableau 3	
Récapitulatif des différents groupes expérimentaux.....	33
Tableau 4	
Description des séquences d'amorces.....	36
Tableau 5	
Description des cycles de PCR des gènes amplifiés.....	37
Tableau 6	
Concentrations de calcium ionisé sérique chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC en comparaison avec des animaux témoins (<i>Sham</i>) et des animaux ayant reçu une diète normale (normaux).....	43
Tableau 7	
Concentrations de créatinine sérique chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC en comparaison avec des animaux témoins (<i>Sham</i>).....	44
Tableau 8	
Concentrations de parathormone sérique chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC en comparaison avec des animaux témoins (<i>Sham</i>).....	46

Tableau 9

Concentrations de phosphore sérique chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC en comparaison avec des animaux témoins (*Sham*) et des animaux ayant reçu une diète normale (normaux).....47

Tableau 10

Récapitulatif des pourcentages de variation de l'expression génique des gènes étudiés en IRA.....66

Tableau 11

Récapitulatif des pourcentages de variation de l'expression génique des gènes étudiés en IRC.....82

LISTE DES FIGURES

Figure 1	
Causes de mortalité en insuffisance rénale aiguë.....	3
Figure 2	
Fonctions métaboliques et homéostatiques du système endocrinien de la vitamine D.....	8
Figure 3	
Modèle schématique de l'action de la 1,25(OH) ₂ D ₃ contrôlée par son récepteur nucléaire, le VDR (récepteur à la vitamine D).....	12
Figure 4	
Rôle du PXR dans le métabolisme des xénobiotiques et des acides biliaires.....	23
Figure 5	
Description des modèles animaux d'insuffisance rénale aiguë (IRA) et chronique (IRC).....	30
Figure 6	
Représentation de l'analyse par Northern Blot de l'influence d'une administration en dexaméthasone (DEX), phénobarbital (PB), 3-méthylchloranthrène (3-MC), beta-naphtoflovavone (βNF) et acétone (AC) sur l'expression génique du <i>CYP3A4</i> chez des animaux normaux.....	48
Figure 7	
Effet de l'IRA sur l'expression génique du <i>CYP3A4</i> hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D ₃ (250µg.kg ⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....	50

Figure 8.

Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP3A4* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....51

Figure 9.

Effet de l'IRA sur l'expression génique du *CYP27A1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....54

Figure 10.

Effet de l'IRA sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....55

Figure 11.

Effet de l'IRA et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....56

Figure 12.

Effet de l'IRA sur l'expression génique du *CYP27B1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....59

Figure 13.

Effet de l'IRA sur les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....61

Figure 14.

Effet de l'IRA et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice.....62

Figure 15.

Effet de l'IRA sur l'expression génique du *VDR* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice.....65

Figure 16.

Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27A1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice.....69

Figure 17.

Effet de l'IRC sur les concentrations sériques de 25OHD_3 chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice.....70

Figure 18.

Effet de l'IRC et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de 25OHD_3 chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice.....71

Figure 19.

Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27B1* rénal chez des animaux Ca-D-.....73

Figure 20.

Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27B1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....74

Figure 21.

Effet de l'IRC sur les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....76

Figure 22.

Effet de l'IRC et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....78

Figure 23.

Effet de l'IRC sur l'expression génique du *VDR* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.....81

LISTE DES SIGLES

ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
cDNA	ADN complémentaire
CRP	Protéine C-Réactive
dCTP	Deoxycytidine-triphosphate
EPO	Érythropoïétine
E.T	Erreur-type
GAPDH	Glyceraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase
HIV	Virus d'immunodéficience humaine
IGF-1	Facteur de croissance à l'insuline 1
IL-6	Interleukine-6
IRA	Insuffisance rénale aiguë
IRC	Insuffisance rénale chronique
I.V	Intra-veineuse
Kb	Kilobase
N.S	Non-significatif
PCN	Pregnenolone 16 α -carbonitrile
PTH	Parathormone
PXR	Récepteur X aux pregnanes
RE	Réticulum Endoplasmique
RIA	Radio immuno assay
RXR	Récepteur X des rétinoïdes
SXR	Récepteur X aux stéroïdes
TBE	Tris/Borate/EDTA
UV	Ultraviolet
VDR	Récepteur à la vitamine D
VDRE	Élément de réponse du récepteur à la vitamine D

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-dihydroxyvitamine D ₃
25OHD ₃	25-hydroxyvitamine D ₃
Ca ²⁺	Calcium ionisé
Ca-D-	Animal hypocalcémique et carencé en vitamine D
CYP	Cytochrome P450
CYP27A1	Vitamine D ₃ -25-hydroxylase ou 25-hydroxylase
CYP27B1	25OHD ₃ -1 α -hydroxylase ou 1 α -hydroxylase
D ₃	Vitamine D ₃
Dex	Dexaméthasone
Nx5/6	Néphrectomie partielle au 5/6
NxBi	Néphrectomie bilatérale
P	Degré de probabilité d'erreur
P450	Pigment 450
PB	Phénobarbital
Sham	Chirurgie fantôme

REMERCIEMENTS

Je souhaite d'abord remercier le Docteur Marielle Gascon-Barré de m'avoir accueilli au sein de son équipe, et superviser tout au long de ma maîtrise.

Je remercie particulièrement Christian Demers pour son soutien technique dans tous les aspects de mon projet.

Je remercie, également, Jean-Luc Petit pour son aide très précieuse notamment en ce qui concerne les chirurgies des animaux.

Je n'oublierais pas également l'aide des étudiants du laboratoire notamment de Catherine et surtout de Josée.

Cela a été un réel plaisir de travailler dans une des meilleures ambiances de labo de St-Luc.

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1. L'INSUFFISANCE RÉNALE

1.1 Définition

L'insuffisance rénale aiguë est un syndrome à étiologies diverses, potentiellement réversible, caractérisé par une détérioration soudaine de la fonction rénale (insuffisance rénale aiguë ou IRA) (1). Pour définir l'IRA, les études utilisent le critère biochimique correspondant à une élévation aiguë de la créatinine sérique. L'IRA affecte environ 5% des personnes hospitalisées et jusqu'à 15% des personnes aux soins intensifs. Pour les personnes hospitalisées sans dysfonctionnement systémique majeur, le taux de mortalité se situe entre 10 et 15% alors que chez les personnes aux soins intensifs avec une atteinte multi-systémique, les taux de mortalité varient de 50 à 90% (2). Les principales causes de mortalité en insuffisance rénale aiguë sont représentées à la figure 1. Par ailleurs, l'insuffisance rénale chronique (IRC) est caractérisée par une destruction progressive et irréversible des néphrons conduisant à une modification grave des fonctions rénales et de l'homéostasie causant la mort si aucune thérapie de remplacement n'est proposée (3).

1.2 Les causes de l'insuffisance rénale

1.2.1 Facteurs étiologiques de l'IRA

Les principales causes d'IRA sont regroupées en trois grandes catégories, soit les causes pré-rénales (liées à une baisse de perfusion rénale), les causes rénales (dûes à une atteinte du parenchyme rénal par une nécrose tubulaire aiguë) et les causes post-rénales (liées à une obstruction du débit urinaire) (2,4).

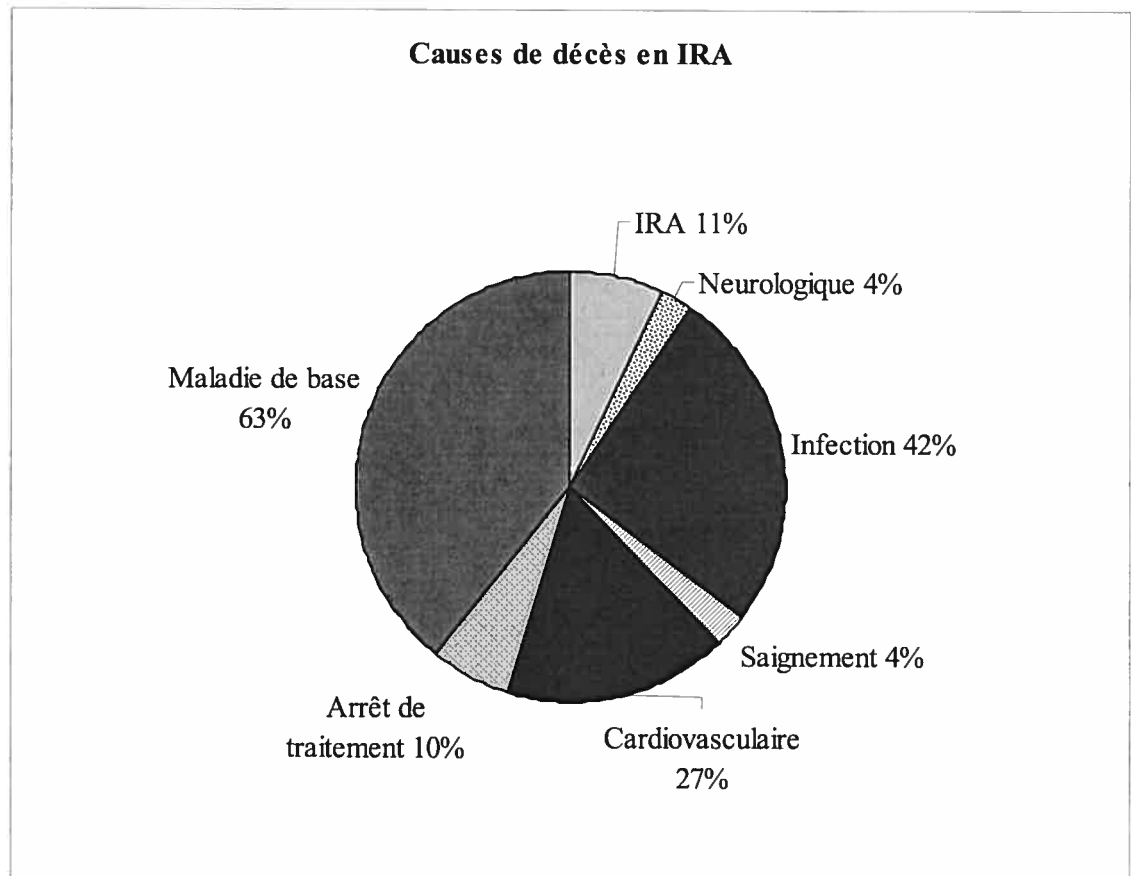


Figure 1. Causes de mortalité en insuffisance rénale aiguë. (Tiré de : Leblanc M. et Gagné E.R. Insuffisance rénale aiguë. Dans : Physiopathologie des maladies du rein et des voies urinaires par Serge Quérin et Luc Valiquette, édité par EDISEM Maloine, 2000. Chap 9, p101 à 112)

1.2.2 Facteurs étiologiques de l'IRC

Les facteurs de risques impliqués dans le développement de l'IRC sont notamment l'âge avancé, l'hypertension, le diabète, les maladies immunologiques telles que le lupus, les infections récurrentes du tractus urinaire, les néphrolithiases, le virus d'immunodéficience humaine (HIV), les maladies vasculaires rénales comme la néphropathie ischémique, les maladies rénales primaires telles que la glomérulonéphrite ou les néphropathies tubulo-interstitielles ou encore des causes post-rénales comme le cancer envahissant de la prostate. Le rapport annuel des données de l'Institut National du diabète, des maladies rénales et de l'appareil digestif de l'année 1999 aux Etats-Unis, a révélé que le diabète était la cause principale de l'IRC (40%), suivi par l'hypertension (27%) et la glomérulonéphrite (13%) (5). Une protéinurie persistante chez un patient diabétique particulièrement accompagnée d'une rétinopathie ou d'une hypertension, présagent du développement d'une insuffisance rénale progressive additionnée de complications cardiovasculaires (6).

1.3 Traitement de l'insuffisance rénale

L'IRA entraîne une hyperazotémie rapidement progressive, des perturbations de l'équilibre hydrique, électrolytique et acido-basique accompagnées d'une oligurie (<400 ml d'urine par jour). Une approche nutritionnelle intensive est nécessaire à la réduction de la mortalité et de la morbidité et ainsi qu'au rétablissement de la fonction rénale notamment en minimisant les désordres métaboliques et en réduisant le catabolisme azoté (restriction de l'apport protéique) (1).

La maladie rénale chronique progresse due à des maladies persistantes comme l'hypertension, le diabète non contrôlé ou des complications de l'insuffisance rénale comme l'anémie ou l'athérosclérose. Le maintien d'une pression sanguine et d'une glycémie normale est essentiel pour retarder la progression de la maladie rénale. Bien que l'anémie associée à l'IRC soit multifactorielle, celle-ci résulte principalement d'une production réduite d'érythropoïétine (EPO), liée à la diminution de la masse

fonctionnelle rénale. Les patients atteints d'IRC peuvent être traités de façon hebdomadaire par des doses sous-cutanées d'EPO (6,7). D'autre part, l'IRC entraîne une modification souvent majeure de la composition des milieux extra- et intra-cellulaires liée aux anomalies métaboliques issues de la réduction importante de la masse des néphrons ainsi que des effets toxiques liés à une hyperazotémie. Comme dans le cas de l'IRA, un contrôle approprié de l'apport alimentaire permet de réduire ces anomalies métaboliques ; chez les personnes atteintes d'IRC, l'approche nutritionnelle augmente l'efficacité du traitement (3). Bien qu'il soit possible de ralentir la progression de l'IRC, il semble en général impossible de l'arrêter. Une IRC suffisamment évolutive ou prolongée cause tôt ou tard le décès du malade si aucune thérapie de remplacement n'est offerte. Parmi ces thérapies de remplacement, nous avons : l'hémodialyse chronique, la dialyse péritonéale ou la transplantation rénale (8).

1.4 Les toxines urémiques

Le terme "urémie" remonte au XIX^{ème} siècle et indique une condition causée par la contamination du sang par l'urine. Elle est définie comme une condition complexe avec des signes et des symptômes résultant de l'insuffisance rénale, laquelle cause l'accumulation de produits ou déchets non excrétés de l'organisme. Le syndrome urémique est l'ensemble des manifestations cliniques ou para-cliniques associées à l'IRC (8). Elles ont été énumérées dans la partie 1.3. Presque toutes les fonctions de l'organisme sont touchées par l'IRC dont les symptômes sont nombreux et variés. Le fait que de nombreux organes soient touchés suggère que l'implication de nombreux facteurs soit nécessaire pour produire l'urémie. On ne connaît pas vraiment la ou les toxines urémiques mais il s'agit probablement de molécules provenant pour la plupart du catabolisme protéique (Voir tableau 1). Il a été postulé que des molécules du milieu de masse moléculaire de 500 à 3000 Daltons inadéquatement éliminées par l'hémodialyse, mènent à une toxicité urémique. D'autre part, il existe aussi une contribution endocrine au syndrome urémique car de nombreux systèmes hormonaux sont affectés par l'IRC.

Tableau 1. Composés potentiellement toxiques qui s'accumulent en insuffisance rénale. (Tiré de : May RC and Mitch WE. "Pathophysiology of Uremia" in : Brenner and Rector : *The Kidney*, fifth edition. Edited by Barry M. Brenner, M.D, WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, chap 49, p2148-2169)

Urée	Dérivés Pyridine
Phénols	Composés guanidines
Indoles	β_2 -Microglobuline
Skatoles	Amines aliphatiques
Hormones	Esters hippurats
Polyamines	Molécules du milieu
Éléments de traces	Amines aromatiques
Protéinases sériques	Fragments carboxy-terminaux de PTH

Dans l'évaluation de cette endocrinopathie, il est important de réaliser que des prohormones (pro-insuline, pro-glucagon) ou des fragments d'hormones comme les fragments carboxy-terminaux de la parathormone (PTH) s'accumulent lors de l'IRC. À ce jour, peu d'études ont démontré l'implication des médiateurs ou toxines responsables des complications de l'IRC ainsi que leur mécanisme d'action (9,10).

2. LE SYSTÈME ENDOCRINIEN DE LA VITAMINE D

2.1 Introduction

La vitamine D₃ est un séco-stéroïde inerte provenant de l'alimentation ou synthétisé par activation du 7-déhydrocholestérol dans la peau, et doit être activé via des étapes métaboliques spécifiques catalysées par des enzymes de la famille des cytochromes P450 afin d'exercer son activité biologique (11).

2.2 Le métabolisme de la vitamine D₃

2.2.1 Les sources de vitamine D₃

La vitamine D₃ est originaire de deux sources. Elle peut être obtenue de la diète mais aussi par action des rayons ultra-violetts du soleil sur la peau. Seulement quelques sources alimentaires telles que les huiles de poissons, le jaune d'œuf, le foie ainsi que certains aliments végétaux contiennent des quantités significatives de vitamine D₂ (d'origine végétale) et de vitamine D₃ (d'origine animale). Cependant, beaucoup d'aliments sont maintenant supplémentés avec la vitamine D₃ et les besoins journaliers sont facilement rencontrés. La vitamine D₃ est produite dans la peau par une conversion photolytique induite par la lumière ultraviolette du 7-déhydrocholestérol à la pré-vitamine D₃ (12,13) suivie par une isomérisation thermique en vitamine D₃ (14).

2.2.2 La bioactivation de la vitamine D

La vitamine D₃ n'a aucune activité biologique et doit subir deux étapes métaboliques successives afin d'acquérir son potentiel hormonal. Les étapes impliquées sont illustrées dans la Figure 2 (15) et sont discutées plus bas.

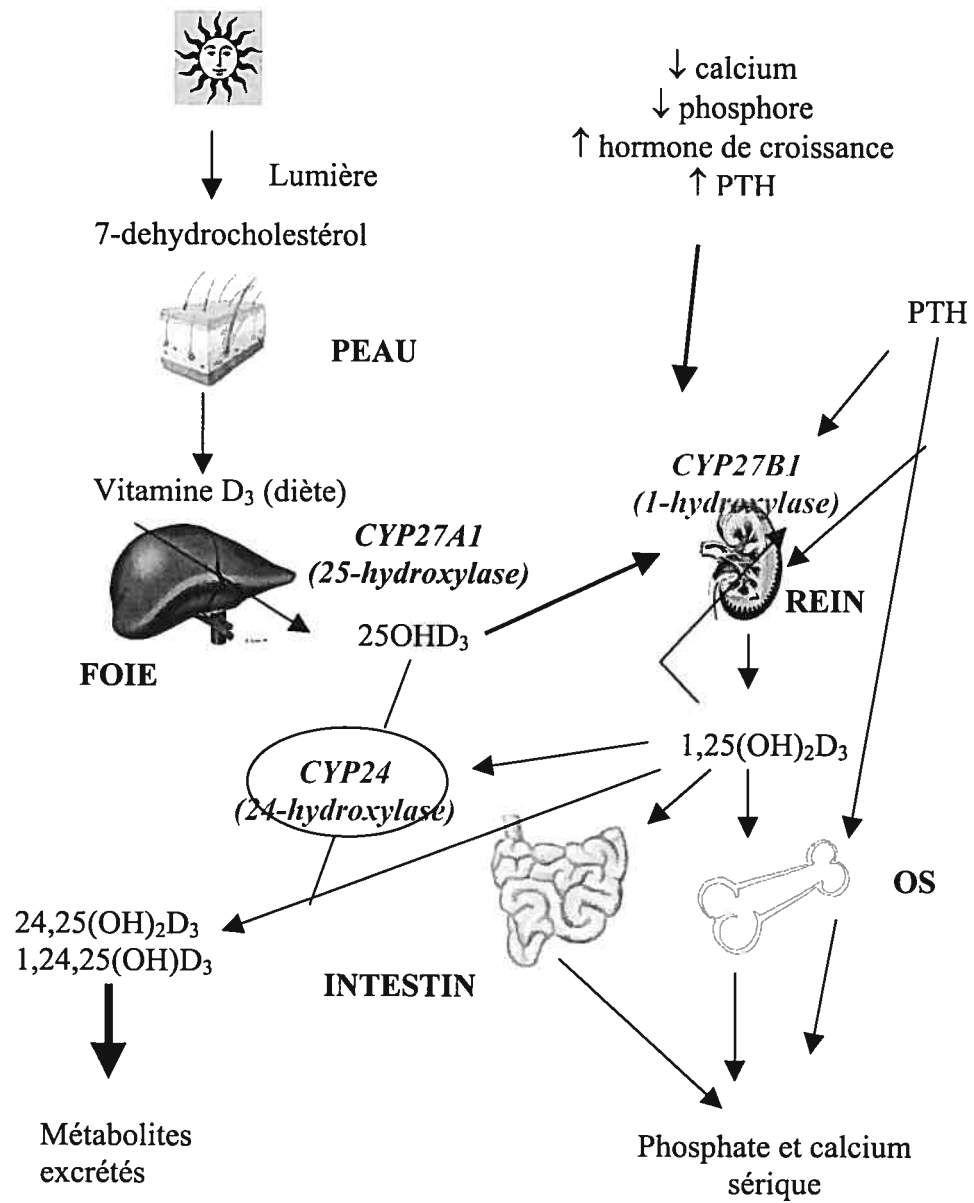


Figure 2. Fonctions métaboliques et homéostatiques du système endocrinien de la vitamine D. *Légende* : ↑ sur-régulation, ↓ sous-régulation. (Tiré de : Sutton A.L., MacDonald P.N. Vitamin D: More Than a "Bone-a-Fide" Hormone. *Mol. Endocrinol.* 17(5) : 777-91, 2003)

2.2.2.1 La vitamine D₃-25-hydroxylase (CYP27A1)

La première étape de l'activation métabolique de la vitamine D₃ est une hydroxylation dans le foie. Elle demande la participation d'une enzyme, la vitamine D₃-25-hydroxylase (CYP27A1) appartenant à la superfamille des cytochromes P450 (16). Le CYP27A1 réside principalement dans la mitochondrie même si d'autres tissus incluant la peau, l'intestin, le poumon et le rein possèdent une certaine activité D₃-25-hydroxylase (17). Plusieurs hormones et produits endogènes sont des régulateurs de l'expression du gène *CYP27A1*. Cela inclut les acides biliaires, les glucocorticoïdes (18,19), l'hormone de croissance (20) et l'insuline (21). Cependant, la régulation du *CYP27A1* par le statut en vitamine D a été bien investiguée. Théodoropoulos et coll. ont montré que la 1,25(OH)₂D₃ sous-régulait le *CYP27A1* intestinal de rat alors qu'Axen et coll. ont observé le même phénomène dans le rein et le foie (19,22). De plus, Theodoropoulos et coll. ont démontré que l'ARNm du *CYP27A1* hépatique chez des rats n'était pas influencé par le statut nutritionnel en vitamine D₃ mais modulé par l'exposition à la 1,25(OH)₂D₃ (23). La vitamine D₃ hydroxylée dans le foie, soit la 25-hydroxyvitamine D₃ (25OHD₃), est la forme circulante la plus abondante de la vitamine D₃, laquelle, en condition normale, est présente à des concentrations sériques de 50 à 125 nmol.L⁻¹ (24). La production hépatique de 25-hydroxyvitamine D₃ est dépendante principalement de la concentration de substrat et la mesure de 25OHD₃ sérique reflète l'état nutritionnel en vitamine D (25). Selon Stravitz et coll., la demi-vie de l'ARN messager du *CYP27A1* est de 18 et 24h (26) alors que Théodoropoulos et coll. l'ont estimée à 12,7h dans le foie de rats carencés en vitamine D (23).

2.2.2.2 La 25OHD₃-1α-hydroxylase (CYP27B1)

L'enzyme 25OHD₃-1α-hydroxylase est une enzyme de la membrane interne de la mitochondrie rénale et est responsable de l'introduction d'un groupement 1α-hydroxyle à la 25OHD₃, créant ainsi la 1,25 dihydroxyvitamine D₃ (1,25(OH)₂D₃), l'hormone du système de la vitamine D (27). Nombreuses expérimentations impliquant

des animaux néphrectomisés ont confirmé que le rein est la source majeure de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ circulante. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ présente des concentrations sériques approximativement 1000 fois inférieures à la 25OHD_3 et est généralement présente de 48 à 156 pmol.L^{-1} dans le sérum humain normal (24). Le gène de la 1α -hydroxylase a été classé comme un membre de la famille des cytochromes P450 de la famille des CYP27 mitochondriaux (CYP27B1) et son étude a été grandement facilitée par son clonage chez l'humain, la souris et le rat (28-30). L'ablation du gène du récepteur à la vitamine D (VDR \neg) a montré une perte de la rétro-inhibition de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sur le gène *CYP27B1* et entraîne une sur-expression de la 1α -hydroxylase. La régulation de la synthèse de la 1α -hydroxylase rénale chez l'animal normal nécessite donc une co-expression VDR-CYP27B1 (29). L'activité enzymatique de la 1α -hydroxylase est donc régulée par le statut en vitamine D (31-33). Une parathyroïdectomie altère l'induction de la 1α -hydroxylase rénale par l'hypocalcémie (34) alors qu'une administration de la PTH à des animaux parathyroïdectomisés ou sains, augmente la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ suggérant ainsi que la PTH exerce une sur-régulation sur la 1α -hydroxylase (35). Des études ont également montré que la 1α -hydroxylase était sous-régulée par des concentrations élevées de calcium (36) et de phosphore (37,38) ainsi que par l'acidose (39) alors que l'IGF-1 augmente la synthèse rénale de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (40).

2.2.3 Catabolisme de la vitamine D

Le contrôle des concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ implique habituellement des changements réciproques des activités de synthèse et de catabolisme. L'enzyme catabolique majeure est la D_3 -24-hydroxylase, un autre cytochrome P450 mitochondrial (CYP24) de la famille des cytochromes P450 dont le rôle est d'oxyder en position C-24 ou C-23 suivant les espèces, la chaîne carbonée latérale de la 25OHD_3 et de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (41,42). Ces hydroxylations conduisent à une perte progressive de l'activité biologique de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou de la 25OHD_3 . En effet, le produit final clivé de la $1,25\text{OHD}_3$, appelé acide calcitroïque est biologiquement inerte (43,44). La D_3 -24-hydroxylase a été clonée par l'équipe de Ohyama et coll. (45,46). Contrairement à la

distribution tissulaire limitée des enzymes de synthèse, la D_3 -24-hydroxylase est présente dans tout les tissus cibles de la vitamine D (47). La D_3 -24-hydroxylase est hautement inductible par la $1,25(OH)_2D_3$ fournissant ainsi un mécanisme pour atténuer la réponse de l'hormone de la vitamine D et réduire les concentrations de $1,25(OH)_2D_3$ lorsqu'elles sont anormalement élevées (48).

2.3 Le récepteur à la vitamine D

Les actions de la $1,25(OH)_2D_3$ nécessitent l'interaction de celle-ci avec son récepteur intracellulaire, le récepteur à la vitamine D ou VDR. Ce récepteur a été découvert par les travaux de Haussler et coll. (49). Le VDR est un membre de la superfamille des récepteurs nucléaires (50). Ce récepteur nucléaire a été cloné chez le poulet (51), l'humain (52), la souris (53), et le rat (54). Le VDR est généralement exprimé à des concentrations relativement faibles in vivo et il est distribué principalement dans l'os, le rein et surtout l'intestin lequel possède des niveaux relativement élevés du récepteur (3000-6000 fmol/mg de protéine) ; dans d'autres tissus, les niveaux du VDR sont relativement plus faibles. Les étapes principales impliquées dans le contrôle de l'expression génique médiée par le VDR sont représentées à la figure 3 (55,56) et incluent les étapes suivantes 1) sa liaison à la $1,25(OH)_2D_3$ (57,58), 2) l'hétérodimérisation avec le récepteur aux rétinoïdes (RXR) (59), 3) la liaison de l'hétérodimère VDR-RXR aux éléments de réponse de la vitamine D (VDREs) des gènes ciblés par l'action biologique de la vitamine D (60,61), et 4) le recrutement d'autres protéines nucléaires à l'intérieur du complexe de pré-initiation transcriptionnelle (62). De nombreux facteurs peuvent influencer l'action de la vitamine D conjuguée au VDR notamment l'accessibilité du ligand au VDR (63), le contenu cellulaire et les modifications post-traductionnelles du VDR (64,65), ainsi que la disponibilité des co-activateurs nucléaires (55).

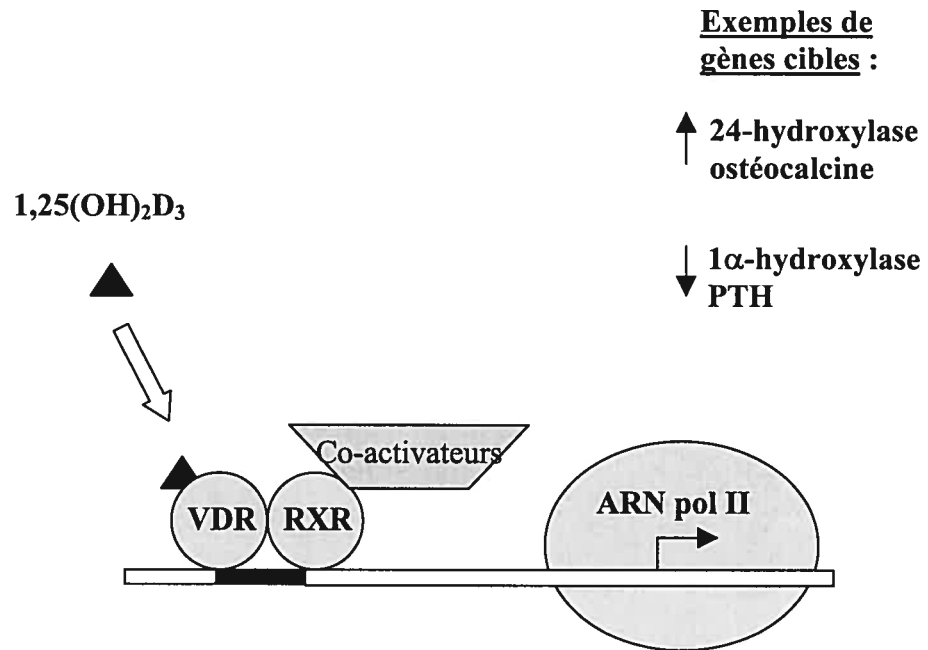


Figure 3. Modèle schématique de l'action de la 1,25(OH)₂D₃ contrôlée par son récepteur nucléaire, le VDR (récepteur à la vitamine D). Une liste de gènes connus cibles de la 1,25(OH)₂D₃ peuvent être sur-régulés (↑) ou sous-régulés (↓) au niveau transcriptionnel. (Tiré de : Brown AJ et coll. *Am. J. Physiol.* **277**(46) : F157-F175, 1999 ; Akutsu N. et coll. *Mol Endocrinol.* **15**(7): 1127-39, 2001).

2.4 Actions biologiques de la vitamine D.

Les actions génomiques et non-génomiques de la vitamine D se combinent pour produire une multitude de réponses vers des cellules cibles dont la liste ne cesse d'augmenter. Le rôle majeur de la vitamine D dans l'homéostasie phospho-calcique est d'augmenter l'efficacité de l'intestin grêle dans l'absorption du calcium et du phosphore alimentaire et ainsi permettre le transport transcellulaire du calcium et du phosphore (66-69). Aussi, la vitamine D est essentielle pour le développement et le maintien du squelette minéralisé. Elle facilite la formation osseuse en induisant la synthèse des protéines matricielles de l'os ainsi que l'apposition minérale. D'autre part, elle maintient les concentrations sériques de calcium et de phosphate en induisant la résorption osseuse (70,71). La vitamine D régule l'expression du gène de la PTH. En effet, la PTH et la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ affectent directement l'homéostasie du calcium et chacune exercent un important effet régulateur sur l'autre. Ainsi, la PTH stimule la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en activant le CYP27B1 rénal et la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, en retour, supprime la synthèse et la sécrétion de la PTH (72,73).

Dans le rein, l'effet le plus important de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ est la suppression de l'activité 1α -hydroxylase et la stimulation de l'activité D_3 -24-hydroxylase (55). En outre, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ est un important immuno-régulateur (74) et ses propriétés antiprolifératives et pro-différentielles sont exploitées à titre thérapeutique dans le traitement de leucémies, de tumeurs solides et de maladies de peau comme le psoriasis (75). Enfin, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ possède également une action non-génomique associée à des phénomènes membranaires (76) et à la création de seconds messagers (77).

3. L'INSUFFISANCE RÉNALE ET LE SYSTÈME ENDOCRINIEN DE LA VITAMINE D

3.1 Diminution de la capacité de synthèse de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ et de l'expression du VDR

Tel que mentionné ci-haut, le rein est le principal organe responsable de la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, et c'est pourquoi les patients avec une masse rénale réduite voient leur production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ diminuée. Plusieurs études ont montré une diminution progressive des concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ lorsque la fonction rénale se détériore. On a également constaté une diminution de l'expression du VDR dans les glandes parathyroïdes chez des malades atteints d'insuffisance rénale chronique (78). Cette baisse du VDR dans les glandes parathyroïdes a été confirmée par plusieurs études utilisant des modèles animaux. Cependant, les travaux de Szabo et coll. et de Shvill et coll. n'ont trouvé aucune différence quantitative de l'ARNm du VDR entre des rats normaux et des rats urémiques (79,80) alors que Denda et coll. ont observé que les niveaux de VDR chez des rats urémiques étaient reliés aux faibles concentrations de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (81). Cependant, les causes de la diminution du VDR restent obscures. Des études récentes ont montré que plusieurs mécanismes en aval de la formation du complexe $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR contribuent à la diminution de l'action de la vitamine D. Ils incluent, entre autres, la diminution des niveaux du RXR chez des rats atteints d'insuffisance rénale (82) avec comme conséquence la réduction de la formation de l'hétérodimère VDR-RXR, ainsi que l'augmentation des niveaux nucléaires de calréticuline, deux processus qui diminuent la liaison du complexe VDR-RXR aux éléments des gènes régulés par la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (83). Patel et coll. ont également postulé que les toxines urémiques exerçaient un effet inhibiteur sur l'interaction du VDR aux éléments de réponse de la vitamine D (VDREs) (84). Cependant, une étude récente n'a montré aucune diminution de production de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des rats néphrectomisés aux trois-quart, 8 semaines après la chirurgie ; ces auteurs ont cependant montré une nette augmentation de l'expression génique du *CYP27B1* et du *CYP24* dans

le rein restant suggérant un rôle capital de la masse rénale restante dans le maintien des concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (85).

3.2 Effet des faibles concentrations de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sur les tissus cibles de la vitamine D

Dans l'intestin, on a constaté une réduction de l'activité du transport du calcium ainsi qu'une diminution de l'absorption du phosphore chez des patients atteints d'insuffisance rénale chronique ainsi que chez des modèles animaux atteints d'urémie (78).

Dans les glandes parathyroïdes, la diminution du calcium ionisé ainsi que de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sont les causes majeures de la forte sécrétion de PTH dans l'insuffisance rénale chronique. (pour plus de détails, voir section 3.4) (86) .

Dans l'os, l'insuffisance rénale engendre des désordres osseux complexes qui conduisent à l'ostéodystrophie rénale. Ces anomalies sont divisées en plusieurs catégories qui incluent l'ostéite fibreuse, l'ostéomalacie et des anomalies squelettiques dues à des dépôts de β_2 -microglobuline. Les faibles concentrations de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ rencontrées contribuent à une minéralisation défectueuse et à une altération de la formation osseuse. De plus, dans le pancréas, la déficience en $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mène à une inadéquate sécrétion d'insuline par les cellules β (78).

3.3 Production extrarénale de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en insuffisance rénale

L'hypothèse de la présence de sites extra-rénaux de synthèse de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ provient d'études sur les maladies granulomateuses comme la sarcoïdose, lesquelles ont supporté le lien entre une synthèse extra-rénale de l'hormone et l'hypercalcémie, qui sont fréquemment associées à ces maladies (87-89). De nombreuses études, ont par la suite, montré que la 1α -hydroxylase extra-rénale peut agir par une action autocrine/paracrine en modulant la différenciation cellulaire et/ou en agissant au niveau local. Contrairement au rein qui supporte l'action endocrinienne de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, l'expression et la

régulation de la 1α -hydroxylase dans les tissus extra-rénaux sont différentes de celles observées avec l'enzyme rénale. La 1α -hydroxylase extra-rénale apparaît agir de manière autocrine ou paracrine en modulant la fonction et/ou la différenciation cellulaire à un niveau local (90). Outre dans les maladies granulomateuses, nous observons une synthèse extra-rénale de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dans plusieurs situations physiologiques et pathologiques telles la grossesse (91,92), l'arthrite (93), la tuberculose (94), la maladie de Hodgkin (95), les lymphomes (96) et les maladies rénales (97-99). On a montré que de nombreux types cellulaires synthétisent la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ comme les kératinocytes (100), les cellules prostatiques (101), les ostéoblastes (102), les lymphocytes T (103) et les monocytes/macrophages (104). Par ailleurs, on a rapporté une synthèse de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dans les microsomes hépatiques chez le rat (105). Toutefois, aucune étude, à ce jour, n'a clairement montré la participation d'un tissu spécifique autre que le rein dans la synthèse de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dans des conditions d'insuffisance rénale aiguë ou chronique. Cependant, Dusso et coll. ont observé, chez des patients anéphriques et des chiens partiellement néphrectomisés, une synthèse extra-rénale de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ après administration de 25-hydroxyvitamine D_3 (98) ; par ailleurs, ces mêmes auteurs ont également, constaté une synthèse extra-rénale de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ par les macrophages chez l'humain en IRC (97).

3.4 L'hyperparathyroïdie secondaire

L'hyperparathyroïdie secondaire se développe de façon précoce au cours de l'insuffisance rénale chronique en raison d'un déficit relatif de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ et/ou de calcium mais aussi due à l'excrétion réduite de phosphore provenant de la diète. Tous ces facteurs contribuent à une élévation progressive de la sécrétion de PTH laquelle mène à long terme à l'ostéodystrophie rénale (106,107). Avec la progression de l'insuffisance rénale chronique, l'hyperparathyroïdie secondaire devient extrêmement sévère si aucune mesure n'est prise pour prévenir la production excessive de PTH. La prévention et le traitement de cette maladie devraient commencer aussi tôt que possible dès l'apparition de l'insuffisance rénale. L'hyperparathyroïdie peut être prévenue en réduisant

l'absorption intestinale du phosphore par prises de chélateurs de phosphate administrés avec les repas ou par une diète restreinte en phosphates. D'autre part, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ est administrée pour diminuer la synthèse de PTH (108). On a, de plus, observé le développement d'une résistance aux effets de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez les insuffisants rénaux, ce qui pourrait également être une des causes de l'hyperparathyroïdie en insuffisance rénale (109). Une intervention précoce avec la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pourrait retarder le début de la résistance à la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en prévenant la déficience en $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ et, par conséquence, la réduction des niveaux de VDR. Ces observations supportent l'utilisation thérapeutique de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ comme élément nécessaire au maintien du contenu en VDR dans les glandes parathyroïdes chez des malades atteints d'insuffisance rénale. En fait, comme l'ont montré Denda et coll., les niveaux du VDR dans les glandes parathyroïdiennes de rats urémiques pourraient être augmentés à ceux des animaux normaux par l'administration de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou de ses analogues, comme le 22-oxa-calcitriol qui possède des propriétés faiblement calcémiantes (81). De plus, la capacité des analogues de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pour recruter les molécules co-activatrices du complexe de pré-initiation transcriptionnelle pourrait compenser la réduction du complexe VDR- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en potentialisant la transactivation / transrépression de gènes clés pour la synthèse de PTH et la croissance cellulaire parathyroïdienne (110-113).

3.5 Utilisation d'analogues de la vitamine D dans le traitement de l'insuffisance rénale

Selon Slatoposky et coll., l'approche thérapeutique diffère pour les patients atteints d'hyperparathyroïdie qui sont ou non dans un programme de dialyse (78). En effet, il existe deux principales options de traitement à ce stade qui sont, l'administration de sels de calcium ou des dérivés de la vitamine D. Cependant, le risque d'hypercalcémie et de calcification de tissus sains augmentent lorsque les dérivés de la vitamine D sont donnés en association avec des suppléments oraux de calcium. De nombreuses études ont montré l'effet bénéfique de l'administration de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou d'alfacalcidol

(114,115). Les dérivés 1α -hydroxylés de vitamine D hautement actifs peuvent facilement induire l'hypercalcémie, c'est pourquoi d'intensives recherches se sont focalisées ces dernières années sur le développement de divers analogues non hypercalcémiant. Le tableau 2 montre les dérivés classiques de la vitamine D ainsi que les principaux nouveaux analogues qui sont utilisés cliniquement ou ceux qui ont été intensivement étudiés durant la dernière décennie (115). En dépit de nombreuses études chez des patients, aucun des nouveaux agents n'arrivent à supprimer totalement l'hypercalcémie ou l'hyperphosphatémie. De plus, aucun d'eux ne semble être supérieur à la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou à l'alfacalcidol chez des patients urémiques, et ce, sur une longue période de temps (116-118).

Cependant, l'émergence depuis une dizaine d'année de nouveaux médicaments appelés "calcimimétiques" présentent une nouvelle option thérapeutique pour les complications telles que l'hyperparathyroïdie secondaire reliée à l'IRC. En effet, ces agents ont la propriété d'augmenter la sensibilité des récepteurs au calcium appelés également CaR, et de ce fait diminuer de façon significative le niveau plasmatique de la parathormone (PTH). Le CaR est un récepteur à la surface des cellules parathyroïdiennes couplé à une protéine-G. Ce récepteur est sensible aux variations des concentrations de calcium sérique. L'activation de ce récepteur diminue la sécrétion de PTH. Les calcimimétiques tels que le R-568 ou encore celui de seconde génération le AMG 073 ont prouvé qu'ils pouvaient augmenter la sensibilité du CaR au calcium extracellulaire, et de ce fait, confirment à diminuer significativement les concentrations de PTH (119,120).

4. MÉTABOLISME HÉPATIQUE EN CONDITION D'INSUFFISANCE RÉNALE

4.1 Les cytochromes P450

C'est en 1958 que Klingenberg a signalé l'existence, chez le rat, d'un pigment dans le réticulum endoplasmique hépatique qui, complexé au monoxyde de carbone et à l'état réduit, absorbait fortement la lumière dans le bleu à 450 nm, d'où le nom de cytochrome

Tableau 2. Les dérivés de la vitamine D utilisés pour le traitement médical de l'hyperparathyroïdie secondaire dans l'insuffisance rénale chronique. (Tiré de : Tilman B. et coll. *Am. J. Kidney Dis.* 37(1) : S58-S61, 2001)

Dérivés de vitamine D

- Calcidiol (25OHD₃)
- Calcitriol (1,25(OH)₂D₃)
- Alfacalcidol

Analogues de la vitamine D "non-hypercalcémiques"

- 22-oxa-calcitriol
 - 19-nor-1,25(OH)₂ vitamine D₃
 - 1α-OH vitamine D₂ ou 1αOH-vitamine D₃
 - Hexafluorocalcitriol
-

P450 ("P" pour pigment) (121). Ces enzymes appelées cytochromes P450 (CYP) sont une famille de protéines contenant un groupement hème. Ils sont présents dans tous les tissus des mammifères et de hautes concentrations sont retrouvées dans le réticulum endoplasmique hépatique mais aussi dans la membrane interne de la mitochondrie (surtout chez les mammifères). Les organes particulièrement riches en P450 sont le foie et les glandes surrénales. Ils jouent un rôle central dans le métabolisme d'oxydation, de peroxydation et de réduction d'une grande gamme de composés endogènes qui incluent les acides gras, les stéroïdes, les leucotriènes, les prostaglandines, les acides biliaires, les amines biogènes, et les vitamines liposolubles. Chez l'humain, il existe 19 familles de cytochrome P450 connues, parmi lesquelles seulement les trois premières CYP1, CYP2, et CYP3 sont impliqués dans le métabolisme des médicaments et des xénobiotiques. Un grand nombre de ces enzymes sont responsables de la biotransformation de produits chimiques exogènes tels que les médicaments, les carcinogènes, et les contaminants environnementaux. Généralement, ces cytochromes P450 catalysent la première étape

(Phase I) de la biotransformation de substrats lipophiles vers des dérivés plus hydrophiles dans le but de favoriser leur excrétion. D'autres cytochromes P450 ont un rôle prédominant dans les voies biosynthétiques comme les cytochromes stéroïdogéniques qui ont un rôle très important dans la biosynthèse des hormones stéroïdiennes dans les glandes surrénales et les gonades. En outre, d'autres cytochromes P450 catalysent les réactions de nombreuses voies menant à la synthèse des acides biliaires, de la vitamine D (les P450 mitochondriaux CYP27A1, CYP27B1 et CYP24), du cholestérol et du métabolisme des rétinoïdes (122-124).

4.2 Importance du cytochrome P450 3A4 dans le métabolisme des xénobiotiques et des médicaments

4.2.1 Présentation du CYP3A4

Chez l'humain, le cytochrome P450 prédominant dans le foie et l'intestin est le CYP3A4. Il est estimé que le CYP3A4 est impliqué dans le métabolisme d'approximativement 60% de tous les médicaments. Il est, de plus, au centre d'une multitude d'interactions médicamenteuses. Les principaux substrats endogènes du CYP3A4 sont les stéroïdes. Chez l'adulte, la voie principale pour l'inactivation de la testostérone, la progestérone, l'androstenedione et le cortisol, apparaît être la 6 β -hydroxylation catalysée par le CYP3A4 (125). De plus, le CYP3A4 est actif dans la 6-hydroxylation des acides biliaires, de l'acide lithocholique (TCA) et de l'acide taurochenodeoxycholique (126,127). Les membres de la sous-famille des CYP3A catalysent aussi la 6-hydroxylation du LCA chez les rongeurs (162). L'expression du CYP3A4 est induite par une grande variété de substances exogènes comme le phénobarbital, la dexaméthasone, le RU486, spironolactone, l'agent antifongique clotrimazole, l'agent anticancer paclitaxel, etc. (128).

Chez le rat, le CYP3A23 est comme le CYP3A4 aussi inductible par une grande variété de composés incluant les stéroïdes tels que l'antigluco corticoïde pregnenolone 16 α -carbonitrile (PCN), la dexaméthasone, l'hydrocortisone, le mifepristone (RU486), des

médicaments antifongiques, des pesticides, etc. (125). La régulation des gènes *CYP3A23* et *CYP3A2* a été étudiée de façon intensive. Contrairement au *CYP3A23*, le *CYP3A2* est la forme la plus exprimée chez des animaux non induits par des agents chimiques. Debrì et coll. ont étudié la distribution du *CYP3A2* et du *CYP3A1* dans l'hépatocyte de rat. Ils ont montré que le *CYP3A1* était le cytochrome P450 le plus exprimé chez les animaux non traités avec le PCN alors que le *CYP3A2* était distribué plus largement chez les animaux traités avec le PCN. De plus, l'induction des membres de la sous-famille *CYP3A* montre une pharmacologie distincte et spécifique à l'espèce (129). Enfin, Mahnke et coll. ont observé que l'expression des gènes *CYP3A* chez le rat varie suivant l'âge, le sexe, et le type d'inducteur (130).

4.2.2 Le PXR, le récepteur nucléaire responsable de l'action médiée par le CYP3A4

L'identification d'un élément de réponse Dex/PCN chez les gènes *CYP3A* a fourni l'évidence de l'implication d'un récepteur nucléaire dans l'induction des cytochromes 3A. Kliewer et coll. ont cloné un récepteur nucléaire activé par le PCN dans le foie de souris, appelé récepteur aux pregnanes (PXR) (131). Le groupe de Kliewer ainsi que d'autres chercheurs ont démontré que le PXR est fortement activé par les composés pregnanes et est le médiateur de l'induction des *CYP3A* chez la souris, le rat (132), le lapin (133) et l'humain (134). Chez l'humain, le PXR est également un récepteur sensible aux stéroïdes et aux xénobiotiques (SXR) (135) et un récepteur activé par les pregnanes (PAR) (136). Le PXR est principalement exprimé dans le foie et l'intestin et, plus faiblement, dans le poumon et le rein (137). Le PXR lie les éléments de réponse aux xénobiotiques dans les régions promotrices des gènes des cytochromes *CYP3A* identifiés chez le rat et l'humain et en active l'expression. Spécifiquement, le PXR, induit soit par des substances exogènes ou endogènes, forme un hétérodimère avec le RXR et lie les éléments de réponse DR3 ou ER6/IR6 dans les régions promotrices des gènes *CYP3A*. Plus précisément, le PXR forme un hétérodimère avec le

RXR de l'élément de réponse des gènes *CYP3A23* et *CYP3A2* chez le rat et de l'élément de réponse ER-6 du gène *CYP3A4* chez l'humain (Voir figure 4) (125,131,134-136).

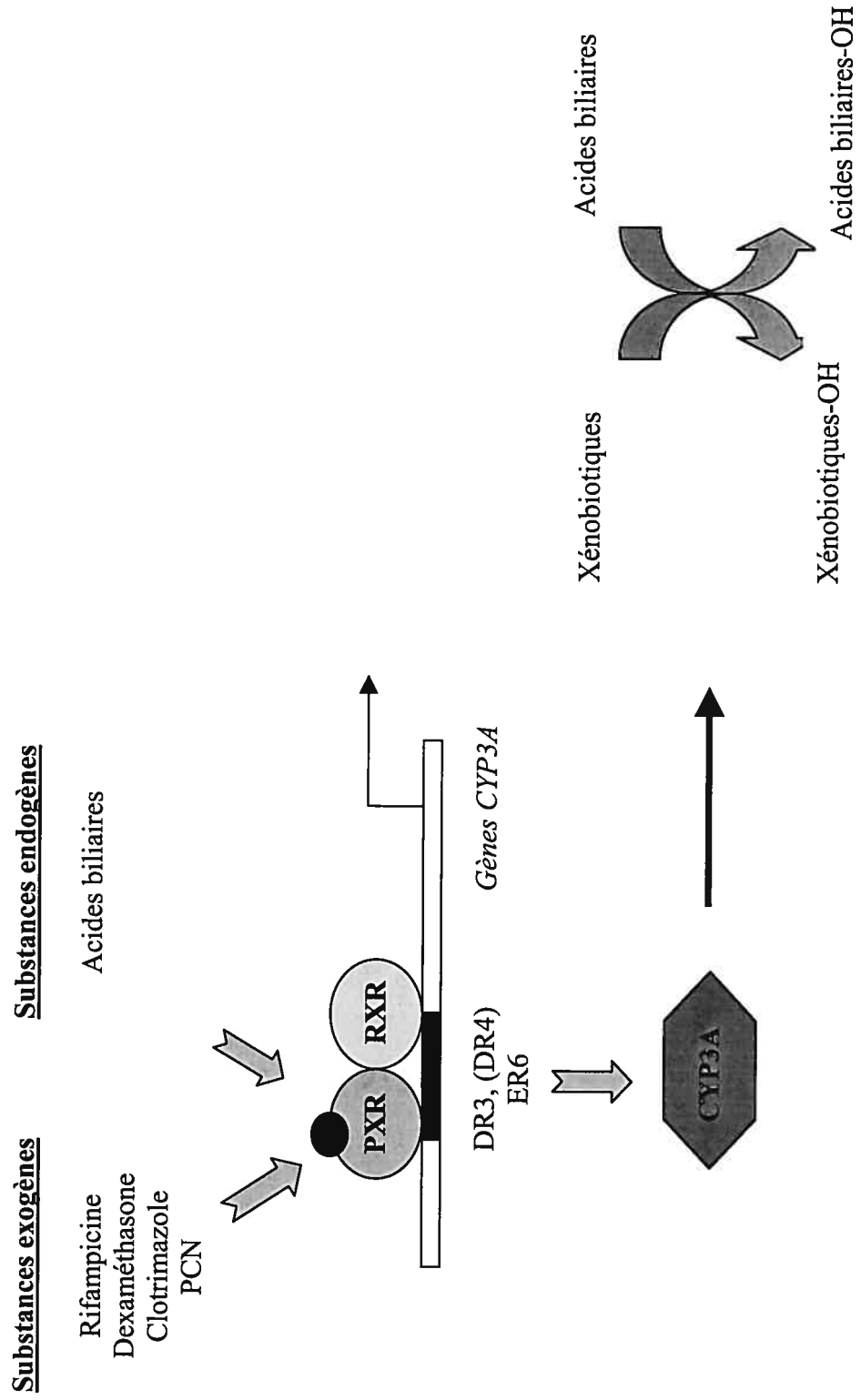
4.2.3 Implication du VDR dans l'expression génique du *CYP3A4*

Le groupe de Schmiedlin-Ren et coll. ont montré que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ agit comme un inducteur transcriptionnel du *CYP3A4* dans la lignée cellulaire de carcinome colonique Caco-2 (138). De plus, le VDR activé par son ligand induit l'expression de *CYP2B6*, *CYP2C9*, et *CYP3A4* dans l'hépatocyte (139) alors que Thummel et coll. ont rapporté que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ contrôle la transcription du *CYP3A4* dans la lignée cellulaire intestinale humaine LS180 (140). Cependant, Pascussi et coll. ont postulé que le PXR humain ne semble pas être activé par la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ et ses dérivés hydroxylés (141). La raison pour laquelle l'expression des gènes CYPs est contrôlée par le VDR n'est pas clair car ni les *CYP2B6*, les *CYP2C* et les *CYP3A4* ne sont impliqués dans le métabolisme de la vitamine D. Ils pourraient, toutefois, être impliqués dans le catabolisme de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou de ses métabolites comme le suggèrent certaines études où des inducteurs enzymatiques ont significativement affecté le statut nutritionnel ou endocrinien en vitamine D_3 (142-144).

4.3 Principaux changements de la fonction hépatique dans l'insuffisance rénale chronique

De nombreux changements de la fonction hépatique sont observés dans l'insuffisance rénale chronique. Les principaux changements observés concernent le métabolisme protéique (intégrant la synthèse protéique et la conversion d'urée en ammoniaque), le métabolisme des hydrates de carbone (synthèse et dégradation du glycogène, synthèse et utilisation du glucose), et le métabolisme des graisses (formation de cétones et métabolisme lipidique) (145). De plus, l'insuffisance rénale chronique est associée à une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium (Ca^{2+})_i dans de nombreux

Figure 4. Rôle du PXR dans le métabolisme des xénobiotiques et des acides biliaires (Tiré de : Goodwin B., Redinbo M.R., Kliewer S.A. Regulation of cyp3a gene transcription by the pregnane x receptor. *Annu. Rev. Pharm. Toxic.* 42 : 1-23, 2002)



types cellulaires incluant les hépatocytes (146,147). Cette augmentation du calcium intracellulaire serait secondaire aux concentrations de PTH en insuffisance rénale chronique (148). Enfin, Leblond et coll. ont observé une diminution de l'activité hépatique des cytochromes P450 chez des animaux IRC, diminution qui a pour conséquence une baisse significative du métabolisme des médicaments (voir section 4.5) (149).

4.4 Régulation des cytochromes P450 par l'inflammation

Chez les humains et les animaux, l'infection ou l'inflammation peut causer des changements dans l'activité et les niveaux d'expression de diverses formes de cytochromes P450 dans le foie ainsi que dans les tissus extra-hépatiques tels que le rein et le cerveau (150). De récentes études ont démontré que l'inflammation chronique est observée communément chez les patients atteints d'insuffisance rénale terminale. Il a été montré que 30 à 50% des sujets pré-dialysés, des sujets hémodialysés, et des sujets sous dialyse péritonéale montrent une évidence sérologique d'une réponse inflammatoire induite telle qu'indiquée par leurs concentrations de CRP et de l'IL-6 élevées. Ces deux cytokines semblent inversement reliées à l'état de la fonction rénale (151). Guévin et coll. (152) ont montré que les niveaux d'ARNm et l'expression protéique de plusieurs cytochromes P450 (CYP2C6, CYP2C11, CYP3A1 et 3A2) dans l'hépatocyte de rats incubés avec du sérum d'animaux atteints d'IRC étaient sous-régulés en comparaison à ceux observés chez les animaux contrôles. Des médiateurs contenus dans le sérum de rats urémiques diminueraient l'expression de cytochromes P450. En effet, de récentes études ont montré que le PXR (153) ainsi que le CYP3A4 (154) étaient sous-régulés par l'interleukine 6 (IL-6) dans l'hépatocyte humain. Récemment, Bleau et coll. (155) ont, également montré l'implication directe d'une inflammation aseptique, de l'IL-6, et de l'interleukin-1 β dans la sous-régulation de certains isoformes P450 chez des hépatocytes de lapin.

4.5 Effet de l'insuffisance rénale sur le métabolisme hépatique des cytochromes P450

Des études ont révélé que l'insuffisance rénale chronique altèrent le métabolisme des médicaments en réduisant la clairance systémique et la clairance rénale des médicaments (156,157). Ce constat découle de nombreuses études sur des modèles animaux atteints d'insuffisance rénale où on a montré dans des conditions d'insuffisance rénale chronique la présence d'une sous-régulation importante des cytochromes P450 hépatiques d'isozymes spécifiques. En effet, divers modèles animaux d'insuffisance rénale aiguë et chronique ont montré une activité réduite des cytochromes P450 hépatiques où certaines voies semblent être affectées par rapport à d'autres (158). Leber et coll. ont révélé que le contenu hépatique des protéines microsomales était réduit chez des animaux atteints d'IRA en comparaison avec des animaux normaux (159) alors que Chung et coll. ont révélé que les niveaux augmentés d'urée mènent à une sur-régulation de l'expression du cytochrome CYP2E1, un cytochrome inductible par certains xénobiotiques dont l'alcool (160). Leblond et coll. ont clairement démontré dans un modèle animal d'insuffisance rénale chronique (42 jours d'insuffisance rénale induite par une néphrectomie sub-totale) une diminution de l'activité des P450 hépatiques, principalement les CYP2C11, CYP3A1 et CYP3A2 (149). Les mêmes investigateurs ont, de plus montré que l'expression génique des mêmes cytochromes P450 était significativement diminuée (161). En conclusion, ces dernières études ont montré que l'activité de certains cytochromes P-450 étaient affectées en condition d'insuffisance rénale. Cependant, il n'existe aucune donnée sur l'impact de l'insuffisance rénale sur les cytochromes P450 hépatiques responsables de la bio-activation de la vitamine D notamment les enzymes CYP27A1 et CYP27B1.

5. PRÉMICES ET HYPOTHÈSES

5.1 Prémices

L'insuffisance rénale est associée à une baisse progressive de la production de 1,25(OH)₂D₃. Toutefois, de nombreux sites extra-rénaux possèdent une activité 1 α -hydroxylase (CYP27B1) notamment l'intestin, le foie, la peau, et le poumon. La contribution de ces sites à la production extra-rénale de vitamine D a, de plus, été caractérisée dans certaines conditions pathologiques. Des études récentes ont montré que l'insuffisance rénale sous-régule de nombreux cytochromes P450 impliqués principalement dans le métabolisme des médicaments. À ce jour, peu d'études se sont adressées aux effets de l'insuffisance rénale sur l'expression des cytochromes P450 responsables du métabolisme de la vitamine D₃.

5.2 Hypothèse

Nos études reposent sur l'hypothèse selon laquelle l'expression génique des cytochromes P450 hépatiques et rénaux responsables du métabolisme des médicaments et de la vitamine D₃ sont influencés par l'insuffisance rénale. Nous postulons qu'une faible activité 1 α -hydroxylase liée à une fonction rénale diminuée sera compensée par une augmentation de l'expression génique du *CYP27B1* hépatique ce qui mènera à une synthèse hépatique augmentée de l'hormone 1,25(OH)₂D₃.

6. OBJECTIFS

L'objectif du travail de recherche est d'étudier l'influence de l'insuffisance rénale aiguë ou chronique sur 1) l'expression génique des cytochromes P450 impliqués dans le métabolisme de la vitamine D₃, *CYP27A1* et *CYP27B1* et, comparativement à celle du *CYP27A1*, *CYP27B1* et *CYP3A4* dans le foie ; 2) la production des produits *CYP27A1*, *CYP27B1* en mesurant les concentrations sériques de 25OHD₃ et 1,25(OH)₂D₃ chez le rat carencé en vitamine D ; et 3) l'expression génique du *VDR*.

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

7. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

7.1 Induction de la carence en vitamine D

L'influence de l'insuffisance rénale sur l'expression des cytochromes P450 chez l'animal hypocalcémique et carencé en vitamine D (Ca-D-) a été étudiée afin d'établir un modèle animal optimal pour évaluer la réponse endocrinienne du système de la vitamine D. La carence en vitamine D a été réalisée selon un protocole bien établi et décrit précédemment (163). Une femelle allaitante Sprague-Dawley, en compagnie de sa portée de 12 rats mâles de 5-7 jours, a été nourrie (Charles River, St-Constant, QC) dès son arrivée avec une diète déficiente en vitamine D contenant 0,9% (p/p) de calcium élémentaire et 0,9% (p/p) de phosphore. Cette diète a été préparée dans notre laboratoire. Les animaux avaient accès à de l'eau déminéralisée *ad libitum*. Ces animaux furent gardés dans une pièce à atmosphère contrôlée et avec un cycle d'éclairage constant (12h de clarté, 12h de noirceur) sans rayons ultra-violet pour empêcher la synthèse cutanée de vitamine D₃. À l'âge de 28 jours, les jeunes rats mâles ont été sevrés et maintenus sous cette diète jusqu'à l'âge de 5 semaines. Par la suite, les animaux furent soumis à une diète contenant 0,5% (p/p) de calcium et 0,9% (p/p) de phosphore. L'hypocalcémie caractéristique de la carence en vitamine D (Ca-D-) a été confirmée par la mesure du calcium ionisé à l'aide de l'analyseur Rapidlab 348 (Bayer, Toronto, ON).

7.2 Traitement chirurgical

Tous les animaux utilisés ont été traités en accord avec les standards d'éthiques pour l'expérimentation animale du Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA). Les protocoles ont été approuvés par le comité d'éthique local. Toutes les chirurgies furent réalisées sous anesthésie au forane (Isoflurane, Baxter Corporation, Toronto, ON). La figure 5 décrit schématiquement le protocole établi pour les deux modèles animaux d'insuffisance rénale soient l'IRC et l'IRA alors que le tableau 3 récapitule les différents groupes de chirurgies appliquées lors l'étude.

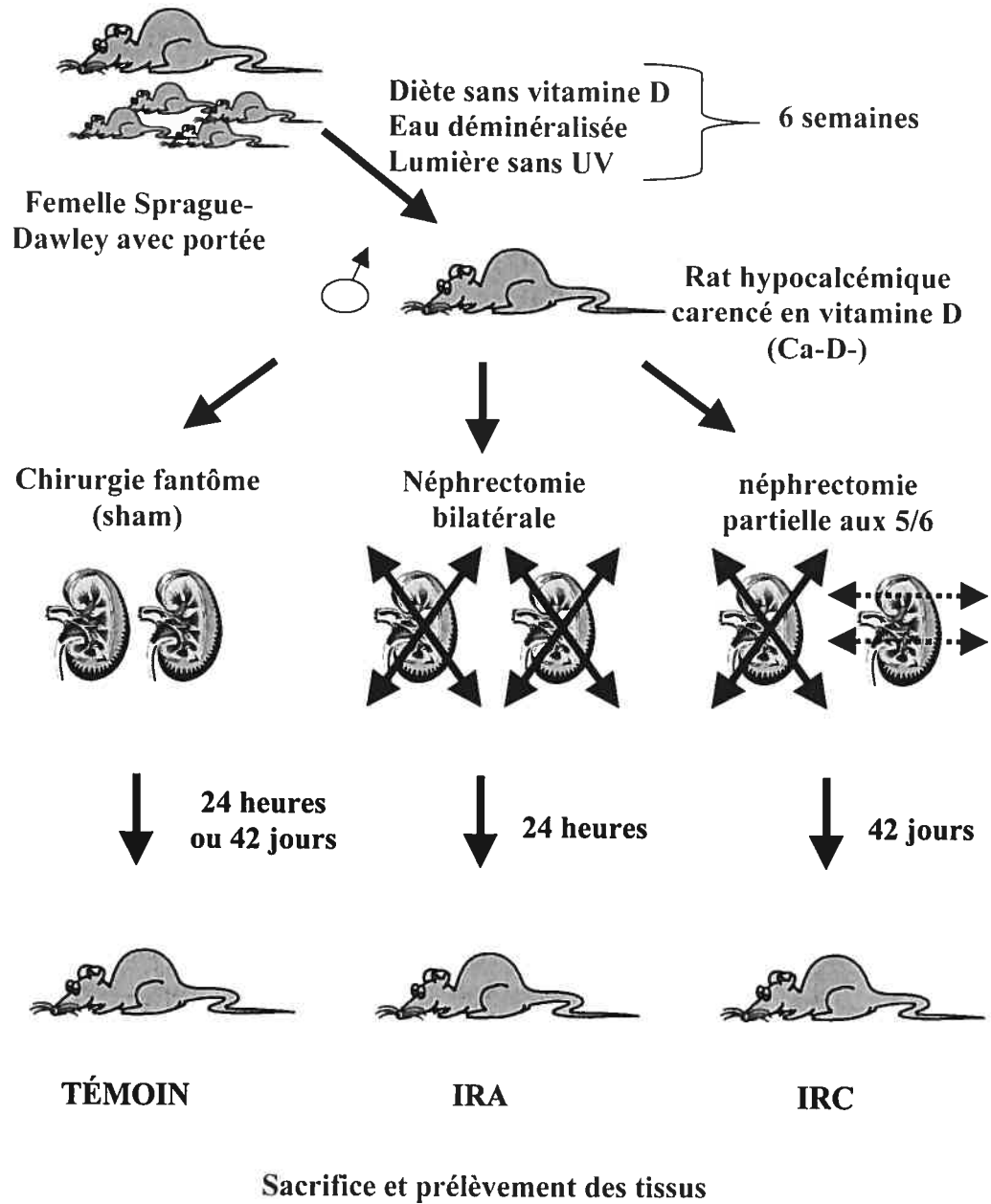


Figure 5. Description des modèles animaux d'insuffisance rénale aiguë (IRA) et chronique (IRC). *Légende :* ♂ mâle, <-----> ligature, ✕ néphrectomie

7.2.1 Modèle animal d'insuffisance rénale aiguë (IRA)

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) a été induite par une néphrectomie bilatérale (NxBi) réalisée par une ligature à la fois de la veine et l'artère rénale ainsi que de l'uretère de chacun des deux reins. Une fois ligaturés, les deux reins ont été excisés en aval de la ligature. En parallèle, des animaux ont été soumis à une chirurgie fantôme ou *Sham* dans les mêmes conditions que la chirurgie NxBi mais sans néphrectomie bilatérale. Après la chirurgie, les animaux ont reçu une dose d'analgésique (buprénorphine, 0,1mg/kg) par voie sous-cutanée. Les animaux ont été sacrifiés 18 heures après chirurgie. La veille du sacrifice, ces animaux ont été supplémentés en gluconate de calcium 3 % (p/p) dans l'eau de boisson.

7.2.2 Modèle animal d'insuffisance rénale chronique (IRC)

L'insuffisance rénale chronique (IRC) a été induite par une néphrectomie au 5/6 (164). Dans un premier temps, une ablation de 2/3 du rein gauche a été pratiquée par la ligature et l'excision des deux extrémités du rein laissant ainsi un tiers de masse fonctionnelle rénale. En parallèle, des animaux ont été soumis à une chirurgie fantôme ou *Sham* afin de constituer un groupe témoin. Sept jours après la première chirurgie, nous avons effectué une ablation du rein droit chez les animaux ayant subi une première néphrectomie partielle alors que nos animaux témoins ont subi une deuxième chirurgie *Sham* du côté du rein droit. Après chaque chirurgie, les animaux ont reçu une dose d'analgésique (buprénorphine, 0,1mg/kg) par voie sous-cutanée. Ces animaux ont été nourris pendant 5 semaines avec une diète déficiente en vitamine D contenant 0,5% (p/p) de calcium et 0,9% (p/p) de phosphore. Les animaux ont eu accès à de l'eau déminéralisée *ad libitum* et leur habitat possédait un cycle de lumière toujours sans rayons ultra-violets. Six semaines après la deuxième chirurgie, les animaux ont été sacrifiés.

Afin de déterminer l'importance de la masse rénale restante sur sa capacité à produire de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ainsi que l'existence d'une synthèse extrarénale de l'hormone, un sous-

groupe d'animaux a subi une néphrectomie totale de la masse restante du rein gauche, 18 heures avant le sacrifice et ce groupe a été nommé *Nx5/6 + NxBi*. La veille du sacrifice, ces animaux ont été supplémenté en gluconate de calcium 3 % (p/p) dans l'eau de boisson.

7.2.3 Hépatectomie partielle

Afin de déterminer l'importance de la masse hépatique sur la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, nous avons pratiqué des hépatectomies aux deux tiers (165) ainsi que des hépatectomies à 90% sur des sous-groupes d'animaux Ca-D-, 5 heures avant le sacrifice. Nous avons soumis les animaux à une exérèse du lobe gauche et du lobe médian du foie via la ligature des deux lobes du foie (hépatectomie partielles des deux tiers). Les animaux hépatectomisés à 90% ont subi une hépatectomie partielle des deux tiers ainsi qu'une ligature du lobe droit latéral. Nous avons laissé une fonction hépatique à 10% via le lobe codé. Après la chirurgie, l'animal a reçu une dose d'analgésique (buprénorphine, 0,1mg/kg) par voie sous-cutanée.

7.3 Administration de vitamine D₃

Pour évaluer l'effet d'un traitement de vitamine D₃ sur les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des animaux Ca-D- atteints d'IR, la moitié de notre population d'animaux a reçu une injection aiguë de vitamine D₃ (Sigma, St-Louis, Missouri, USA) 250µg/kg I.V 5 heures avant sacrifice (voir tableau). L'autre moitié a reçu une injection du véhicule (65% de propylène glycol, 15% d'éthanol 95% et 20% de solution physiologique à 0,9% de NaCl), I.V 5 heures avant sacrifice. Le véhicule, injecté aux animaux, a été utilisé comme contrôle négatif par rapport à l'injection de D₃ chez nos divers groupes d'animaux. Le tableau 3 récapitule les différents groupes de chirurgies administrés en véhicule et/ou en vitamine D₃.

Tableau 3. Récapitulatif des différents groupes expérimentaux

INSUFFISANCE RÉNALE	CHIRURGIES	DÉTAILS DES CHIRURGIES (Voir sections du texte)
Aiguë	<i>Témoins + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.1
	<i>NxBi + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.1
	<i>Hpx 2/3 + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.3
	<i>Hpx 2/3 + NxBi + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.3
	<i>Hpx 90% + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.3
	<i>Hpx 90% + NxBi + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.3
Chronique	<i>Témoin + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.2
	<i>Nx5/6 + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.2
	<i>Nx5/6 + NxBi + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.2
	<i>Hpx 2/3 + Nx5/6 + (véhicule ou D₃)</i>	Section 7.2.3

7.4 Analyse des paramètres du métabolisme phospho-calcique

Tous les animaux ont été sacrifiés par exsanguination et des échantillons de sang ont été recueillis pour la mesure des concentrations sériques de 25OHD_3 , $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, du calcium ionisé, du phosphore, de la PTH et de la créatinine. Suite à la collecte, les échantillons de foie ont été isolés et immédiatement congelés dans l'azote liquide et stocké à -80°C jusqu'à l'extraction de l'ARN. Les concentrations de calcium ionisé Ca^{2+} ont été mesurées à l'aide de l'analyseur RapidLab 348 (Bayer, Pointe-Claire, Québec, Canada) alors que les analyses biochimiques de routine (créatinine, phosphore) ont été déterminées par des méthodes automatisées et standardisées.

7.5 Analyses des paramètres des métabolites de la vitamine D et de la parathormone

Les concentrations sériques de 25OHD_3 et $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ont été déterminées avec les trousse d'Immunodiagnostic Systems par immunoextraction (Baldon, UK) alors que celle de la parathormone a été quantifiée via le kit d'essai immunoradiométrique chez le rat (ALPO Diagnostics, Windham, NH, USA) utilisant un anticorps radioactif spécifique à la PTH selon les instructions du manufacturier.

7.6 Analyses relatives à l'évaluation de l'expression génique

7.6.1 Extraction des ARN

Les ARN totaux ont été extraits par la méthode de Chirgwin et coll. (166).

7.6.2 Synthèse d'ADNc

Après purification et traitement à la DNase à l'aide de la trousse (RNeasy Mini Kit, Qiagen, Mississauga, Ont.), un ADNc a été synthétisé par transcription inverse (RT) en présence de 1µg d'ARN total (First-Strand cDNA Synthesis Kit, Amersham Biosciences) en utilisant l'oligonucléotide hexamère aléatoire pd(N)₆ comme amorce selon les instructions du manufacturier. La réaction de transcription inverse a été conduite à 37°C pendant 1 heure.

7.6.3 Réaction de PCR

Deux µl de la réaction de RT ont été utilisés avec des séquences d'amorces spécifiques chez le rat afin d'amplifier les fragments de cDNA correspondant aux *VDR*, *CYP27A*, *CYP27B1*, et le *GAPDH* (Voir tableau 4). Les amorces ont été élaborées à l'aide du logiciel Primer 3 (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) et synthétisées par la compagnie Sigma Genosys (Mississauga, ON). La synthèse des amorces a été réalisée selon les séquences de St-Arnaud et coll. (30) *CYP27B1*, Usui et coll. (167) *CYP27A1*, Schmiedlin-Ren et coll. (138) *CYP3A4*, Burmester et coll. (54) *VDR* et Tso et coll. (168) *GAPDH*. La description des amorces des différents gènes étudiés est présentée au tableau 4. Le mélange PCR de 42µl était constitué de 20µM d'amorces spécifiques, 0,1µl of [α -³²P]dCTP (3000 Ci/mol) et d'un mélange prêt pour un PCR quantitatif contenant 1,26 unités d'enzyme Taq ADN Polymérase (Sigma) et placé dans un appareil PCR (Touchdown Thermal Cycling system, Hybaid, Teddington, UK).

Pour l'amplification des gènes *CYP27B1*, *CYP27A1*, *CYP3A4*, *VDR* et *GAPDH*, le PCR a été mis sous les conditions indiquées au tableau 5. Les produits PCR ont été séparés sur un gel non dénaturant de polyacrylamide 8% (TBE 1X). Le gel a été séché sous vide puis exposé sur film Kodak X-Omat AR à -80°C dans des écrans amplificateurs CRONEX (Dupont Canada Inc., Mississauga, Ont.) pour une période de 2 à 16 heures.

Tableau 4. Description des séquences d'amorces

Oligonucléotides	Séquences	Nombre de bases
CYP27B1	5'-GCTATGCTGGAACTCTGGACAG-3' 5'-TTCTTTGATCACAGCCTTTAGC-3'	452-473 1122-1101
CYP27A1	5'-GGAACGCTACGCTTTTATTC-3' 5'-TTAAGGCATCTGTGTAGAGGGC-3'	253-274 599-578
CYP3A4	5'-CCTTACATATACACACCCTTTGGAAGT-3' 5'-AGCTCAATGCATGTACAGAATCCCCGGTTA-3'	1389-1412 1770-1441
VDR	5'-CAGCGGCCAGCACCTCCCTGC-3' 5'-CTGTCCTTCAAGGCCTCTTCC-3'	105-125 450-432
GAPDH	5'-CCCTTCATTGACCTCAACTACATGGT-3' 5'-GAGGGGCCATCCACAGTCTTCTG-3'	208-233 677-655

Tableau 5. Description des cycles de PCR des gènes amplifiés

Gènes	Cycles de PCR
<i>CYP27B1</i>	95°C (3min), 1 cycle ; 95°C (30 sec), 62°C (1min), 72°C (1min), 30 cycles ; 72°C (10min) , 52°C (2min) 1 cycle
<i>CYP27A1</i>	95°C (3min), 1 cycle ; 95°C (30 sec), 62°C (45 sec), 72°C (1min 30), 30 cycles ; 72°C (10min) , 52°C (2min) 1 cycle
<i>CYP3A4</i>	95°C (3min), 1 cycle ; 95°C (30 sec), 59°C (45 sec), 72°C (1min 30), 30 cycles ; 72°C (10min) , 52°C (2min) 1 cycle
<i>VDR</i>	95°C (3min), 1 cycle ; 95°C (30 sec), 65°C (1min), 72°C (1min), 27 cycles ; 72°C (10min) , 52°C (2min) 1 cycle
<i>GAPDH</i>	95°C (3min), 1 cycle ; 95°C (30 sec), 59°C (45 sec), 72°C (1min 30), 20 cycles ; 72°C (10min) , 52°C (2min) 1 cycle

Les films ont été analysés par photodensitométrie (ScanJet Plus, HewlettPackard Canada Ltd., Mississauga, Ont) à l'aide du logiciel Collage V4 (Fotodyne, Hartland, WI).

7.6.4 Électrophorèse et transfert de Northern

Nous avons dénaturé 15 µg d'ARN totaux à 65°C pendant 15 min dans un tampon contenant 50% de formamide (v/v) et 6% (v/v) de formaldéhyde puis ont été fractionnés sur gel d'agarose 1,2% (p/v) contenant 6% (v/v) de formaldéhyde. La migration du gel d'électrophorèse s'est effectuée dans un tampon de migration contenant du MOPS 1% (v/v) à bas voltage pendant environ 17h sur un appareil BRL (Life Technologies). Le gel a subi 2 lavages successifs dans de l'eau distillée ainsi que 2 autres dans une solution de 10 x SSC (dilution 1:2 d'une solution de 20 x SSC = 3M chlorure de sodium et 0.3M citrate de sodium). Les ARN du gel ont été transférés sur une membrane de nylon (Biodyne A membrane, 0,45µm, Gelman Laboratory, Mississauga, Ontario) par capillarité avec une solution 10 x SSC à l'aide d'une unité de transfert BIOS (BIOS Corp. New Heaven, CT, USA). Une fois le transfert effectué, les ARN ont été fixés à la membrane sous exposition aux rayons ultra-violet par une intensité de 0,6 J/cm² pendant 2 minutes.

7.6.5 Hybridation avec la sonde CYP3A4

Les membranes de nylon contenant les ARN, ont été hybridées avec une sonde CYP3A4 radiomarquée. Celle-ci a été synthétisée avec le (α -32P) à l'aide d'une enzyme DNA Polymerase I (Kleenow) à 37°C pendant deux heures. Un fragment d'ADNc de 378pb a été généré chez de l'ARN humain total à partir des amorces humaines (Sigma) décrites au tableau 4 et par le programme PCR illustré au tableau 5. Nous avons séquencé le produit de PCR obtenu avec les amorces du CYP3A4 proposées au tableau 4 pour confirmer son identité et le fragment obtenu a été cloné dans le vecteur pCR II-TOPO (Invitrogen, Carlsbad, CA). Notre étude suggère que le fragment du *CYP3A4* qui

a été amplifié, est un membre de la famille 3A chez le rat. En effet, nous avons étudié l'homologie entre le fragment du CYP3A4 généré chez l'humain et les différents CYP3A chez le rat. Nous avons constaté une homologie avec l'isoforme humaine du CYP3A4 à 83% d'identité pour le CYP3A3, 83% pour le CYP3A23, 83% pour le CYP3A1, 81% pour le CYP3A2 et 84% pour le CYP3A9.

L'ARN ribosomal 18S est un fragment de l'ARN ribosomal 18S humain de 1,5 kilobases (kb) issu du vecteur pBluescript SK⁻ (ATCC, Rockville, MD, USA) et a été utilisé comme contrôle interne dans le but de vérifier la quantité d'ARN déposée sur le gel. L'hybridation avec la sonde CYP3A4 s'est effectuée dans une solution de tampon d'hybridation phosphate (tampon phosphate NaPO₄ 0,5M, SDS 7% (p/v), BSA 1% (p/v), EDTA 0,5Mm et sulfate dextran 1%). Nous avons ajouté 0,48 mg d'ADN de sperme de saumon par ml de tampon phosphate auquel nous avons rajouté la sonde d'ADNc radiomarquée à 1×10^6 cpm/ml. L'hybridation des membranes s'est effectuée à une température de 52°C pendant 18 heures. Une fois l'hybridation achevée, les membranes ont été lavées à deux reprises pendant 5 minutes à température de la pièce avec une solution de tampon de lavage phosphate (tampon phosphate NaPO₄ 0,2M, 1% SDS, 1 Mm EDTA). Elles ont été lavées ensuite dans le même tampon à 52°C pendant 10 minutes. Toutes les membranes ont été exposées sur des films Kodak à -80°C avec des écrans amplificateurs CRONEX (Dupont Canada Inc., Mississauga, Ont.) pour une période de 2 à 8 jours. Les films ont été analysés par photodensitométrie (ScanJet Plus, Hewlett-Packard Canada Ltd., Mississauga, Ont.) à l'aide du logiciel Collage (Fotodyne Inc., New Berlin, WI).

D'autre part, des animaux normaux ont été traités avec de la dexaméthasone (DEX; une injection intra-péritonéale de 400mg/kg), 3-méthylcholanthrene (3-MC; une injection intra-péritonéale de 30mg/kg), phénobarbital (PB; 350mg.L⁻¹ dans l'eau de boisson pendant 10 jours), beta-naphtoflovavone (β -NF; trois injections journalières intra-péritonéales de 80mg/kg) et d'acétone (AC; 1% (v/v) dans l'eau de boisson pendant 10 jours). Ces xénobiotiques ont été utilisés comme inducteurs spécifiques pour certains cytochromes P450 des familles 1A, 2B, 2C et 3A (169).

7.7 Analyses statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes et d'erreur-types à la moyenne (E.T). Les différences statistiques entre les moyennes ont été analysées par analyse de variance ou par l'analyse "t" de Student tel qu'indiqué dans les légendes des figures et des tableaux. Dans les cas où les variances inter-groupes étaient significativement différentes, nous avons utilisé une analyse non-paramétrique telle l'analyse de Mann-Whitney pour les comparaisons deux à deux. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0,05 ($P < 0,05$) ont été considérées statistiquement significatives.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

8. RÉSULTATS

8.1 Caractérisation du modèle animal

8.1.1 Concentrations sériques de calcium

Les concentrations sériques de calcium chez les modèles animaux IRA et IRC sont présentées au tableau 6. Les concentrations de calcium (Ca^{2+}) sont significativement diminuées chez les groupes d'animaux Ca-D- issus du modèle animal d'IRA ($P < 0.001$) et d'IRC ($P = 0.002$) comparées à celles des animaux normaux. Cependant, le Ca^{2+} n'est pas influencé par l'IRA ($P = \text{N.S}$) ou l'IRC ($P = \text{N.S}$).

8.1.2 Concentrations sériques de créatinine

Les concentrations sériques de créatinine chez les modèles animaux IRA et IRC sont présentées au tableau 7. La concentration de la créatinine est significativement augmentée chez les animaux atteints d'IRA ($381.1 \pm 26.3 \mu\text{mol.L}^{-1}$; $P < 0.001$) et d'IRC ($89.2 \pm 7.4 \mu\text{mol.L}^{-1}$; $P < 0.001$) comparativement à leur témoin respectif. Une bi-néphrectomie (NxBi) a pour effet d'augmenter beaucoup plus fortement les concentrations de créatinine comparée à une néphrectomie partielle (Nx5/6) ($P < 0.001$). À titre indicatif, nous avons proposé de montrer la concentration sérique de créatinine chez des animaux normaux.

Tableau 6. Concentrations de calcium ionisé sérique

Paramètres	normaux		Ca-D-		
	Témoins Nx5/6	Témoins NxBi	NxBi	Témoins Nx5/6	Nx5/6
Calcium ionisé sérique (mmol.L ⁻¹)	1.27 ± 0.01	0.72 ± 0.01	0.74 ± 0.03	0.58 ± 0.03	0.63 ± 0.01
Age (semaines)	6	6	6	12	12
Animaux (nombre)	8	16	6	5	7

Concentrations de calcium ionisé sérique chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC en comparaison avec des animaux témoins (*Sham*) Ca-D- et des animaux ayant reçu une diète normale (normaux). Les résultats présentés représentent la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non-paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives.

Tableau 7. Concentrations de créatinine sérique

Paramètres	Normaux		Ca-D-		
	Témoins	Témoins NxBi	NxBi	Témoins Nx5/6	Nx5/6
Créatinine ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	24.6 ± 1.5	42.8 ± 2,2	381.1 ± 26.3	37.0 ± 2.7	89.2 ± 7.4
Âge (semaines)	6	6	6	12	12
Animaux (nombre)	5	5	7	6	4

Concentrations de créatinine sérique chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC en comparaison avec des animaux témoins (*Sham*) Ca-D-. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Cette différence a été éliminée en portant au logarithme les valeurs de créatinine. La différence significative entre les groupes a été évaluée par l'analyse « t » de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0,05 (P<0,05) ont été considérées statistiquement significatives.

8.1.3 Concentrations sériques de parathormone

Les concentrations sériques de parathormone chez les modèles animaux IRA et IRC sont présentées au tableau 8. Les concentrations sériques de parathormone sont significativement augmentées chez les groupes d'animaux Ca-D- issus du modèle animal d'IRA ($P < 0.005$) et d'IRC ($P < 0.005$) comparativement à celle des animaux normaux. Les animaux atteints d'IRC voient leur concentration de parathormone significativement augmentée ($1981.6 \pm 422.9 \text{ pg.mL}^{-1}$) par rapport aux animaux NxBi ($909.5 \pm 90.8 \text{ pg.mL}^{-1}$; $P < 0.05$). Cependant, ces animaux Nx5/6 sont âgés de 6 semaines de plus par rapport aux animaux soumis à une IRA. L'effet d'une insuffisance rénale aiguë ou chronique n'a pas d'effet significatif sur les concentrations sériques de PTH par rapport aux animaux témoins ($P = \text{N.S.}$).

8.1.4 Concentrations sériques de phosphore

Les concentrations sériques de phosphore chez les modèle animaux IRA et IRC sont présentées au tableau 9. Une insuffisance rénale aiguë chez des animaux normaux se traduit par une augmentation significative des concentrations de phosphore sérique ou hyperphosphorémie ($P < 0.0001$). Toutefois, chez le modèle animal Ca-D-, nous ne constatons pas d'influence de l'IRA ou de l'IRC sur le phosphore sérique comparées aux animaux témoins.

Tableau 8. Concentrations de parathormone sérique

Paramètres	Normaux		Ca-D-	
	Témoins	Témoins NxBi	NxBi	Témoins Nx5/6
PTH (pg.mL ⁻¹)	58.24 ± 13.2	895.5 ± 74.8	909.5 ± 90.9	1704.3 ± 233.9
Âge (semaines)	6	6	6	12
Animaux (nombre)	3	4	6	7
		NS		P < 0.05
			NS	
				1981.63 ± 422.9

Concentrations de parathormone sérique chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC en comparaison avec des animaux témoins (*Sham*) Ca-D-. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Cette différence a été éliminée en portant au logarithme les valeurs de PTH. La différence significative entre les groupes a été évaluée par l'analyse « t » de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0,05 (P<0,05) ont été considérées statistiquement significatives.

Tableau 9. Concentrations de phosphore sérique

Paramètres	Normaux			Ca-D-		
	Témoins (à titre indicatif)	NxBi	Témoins NxRi	NxBi	Témoins Nx5/6	Nx5/6
phosphore (mmol.L ⁻¹)	2.5 ± 0.1	6.2 ± 0.3	2.7 ± 0.03	3.2 ± 0.3	2.3 ± 0.3	2.7 ± 0.1
Âge (semaines)	6	6	6	6	12	12
Animaux (nombre)	15	15	4	4	6	7

$\overline{\text{---}} P < 0.0001 \text{ ---}$ $\overline{\text{---}} P = N.S \text{ ---}$ $\overline{\text{---}} P = N.S \text{ ---}$

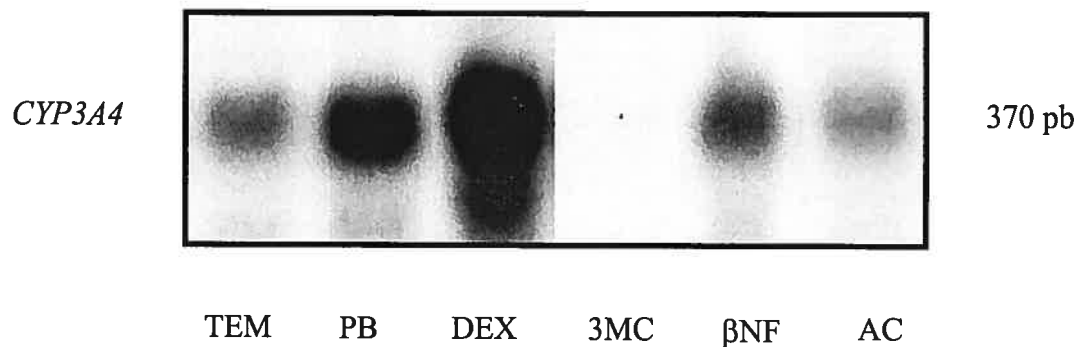
Concentrations sériques de phosphore chez des animaux Ca-D- soumis à une IRA ou à une IRC comparativement à des animaux témoins (*Sham*) Ca-D- et des animaux ayant reçu une diète normale (normaux). Les résultats présentés représentent la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non-paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0,05 (P<0,05) ont été considérées statistiquement significatives.

8.2 Influence de l'insuffisance rénale sur le métabolisme des médicaments

8.2.1 Effet de divers inducteurs sur l'expression génique du *CYP3A4* hépatique

La figure 6 présente une analyse de Northern de l'expression génique du *CYP3A4* chez des animaux normaux traités par différents inducteurs notamment le dexaméthasone (DEX), le phénobarbital (PB), le 3-méthylchloranthrène (3-MC), la beta-naphtoflovavone (β NF) et l'acetone (AC). L'ARN des animaux non traités a été utilisé comme témoin (TEM). L'expression génique du *CYP3A4* est fortement induite par le DEX, le PB et de façon moindre par la β NF. Cependant, le *CYP3A4* n'est pas affecté par l'administration d'AC et de 3-MC.

Figure 6. Représentation de l'analyse par Northern Blot de l'influence d'une administration en dexaméthasone (DEX), phénobarbital (PB), 3-méthylchloranthrène (3-MC), beta-naphtoflovavone (β NF) et acétone (AC) sur l'expression génique du *CYP3A4* chez des animaux normaux. L'ARN des animaux non traités a été utilisé comme témoin (TEM). $n = 3$ animaux par groupes.



8.2.2 Expression génique du *CYP3A4* hépatique en IRA

La figure 7 présente l'influence de l'IRA ainsi qu'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur l'expression génique du *CYP3A4* chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré, dans le tableau 10, les pourcentages de variation de l'expression génique du *CYP3A4* des divers groupes étudiés par rapport à la valeur moyenne du groupe témoin ayant reçu du véhicule. L'expression génique du *CYP3A4*, chez des animaux Ca-D- atteints d'IRA, est significativement diminuée comparée à celle des animaux témoins avec une diminution de 80% ($P < 0.005$). L'administration de D₃ n'influe pas sur l'expression génique diminuée du *CYP3A4* en IRA ($P < 0.05$).

8.2.3 Expression génique du *CYP3A4* hépatique en IRC

La figure 8 présente l'influence de l'IRC ainsi qu'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur l'expression génique du *CYP3A4* chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré dans le tableau 10, les pourcentages de variation de l'expression génique du *CYP3A4* des divers groupes étudiés par rapport à la valeur moyenne de base du groupe témoin ayant reçu du véhicule. Comme illustrée à la figure 8, l'expression génique du *CYP3A4* chez des animaux Ca-D- atteints d'IRC est également significativement diminuée comparer à celle des animaux témoins avec une diminution de 65% ($P < 0.05$). L'administration de D₃ n'influe pas sur l'expression génique diminuée du *CYP3A4* en IRC ($P < 0.05$).

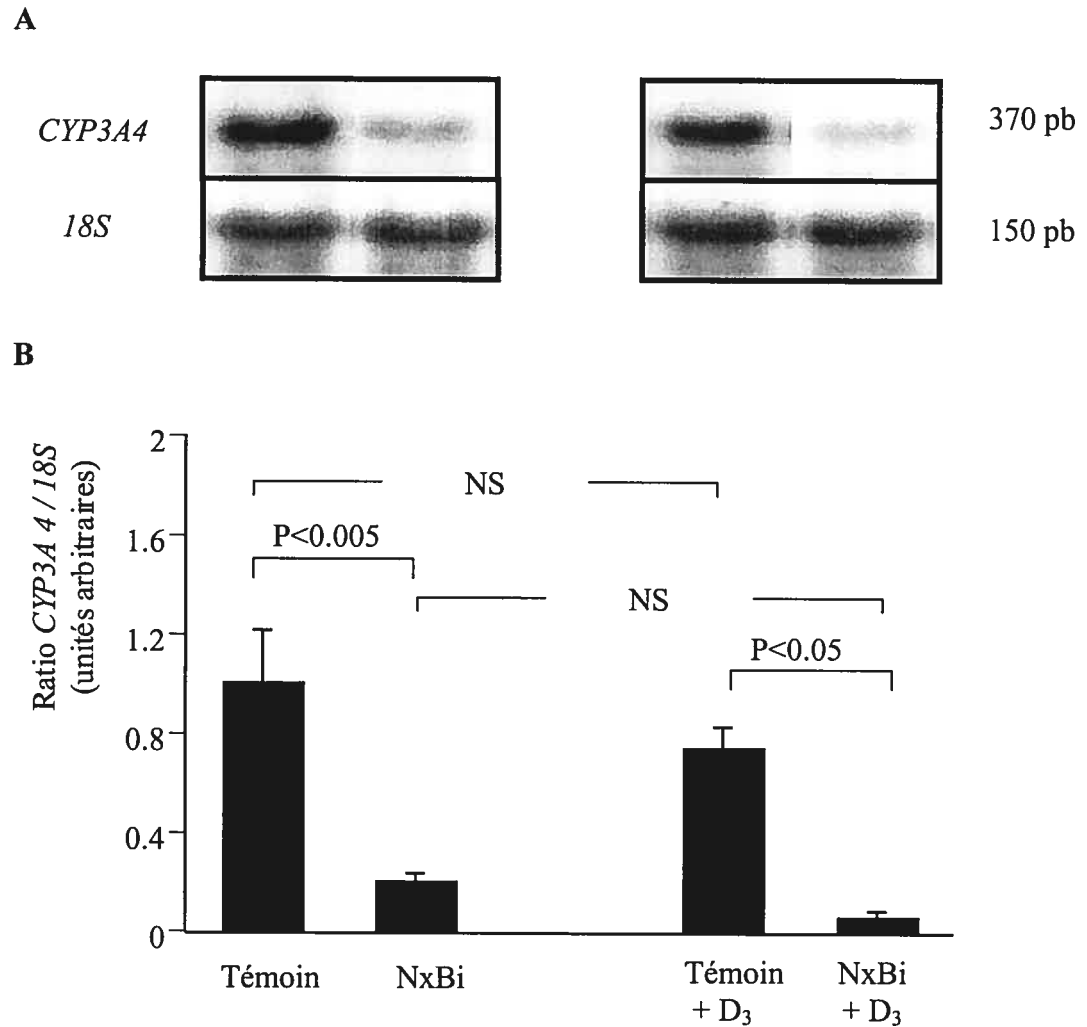


Figure 7. Effet de l'IRA sur l'expression génique du *CYP3A4* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹) 5 heures avant sacrifice. **A** : représentation de l'analyse par Northern Blot de l'expression génique du *CYP3A4*. **B** : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives. 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

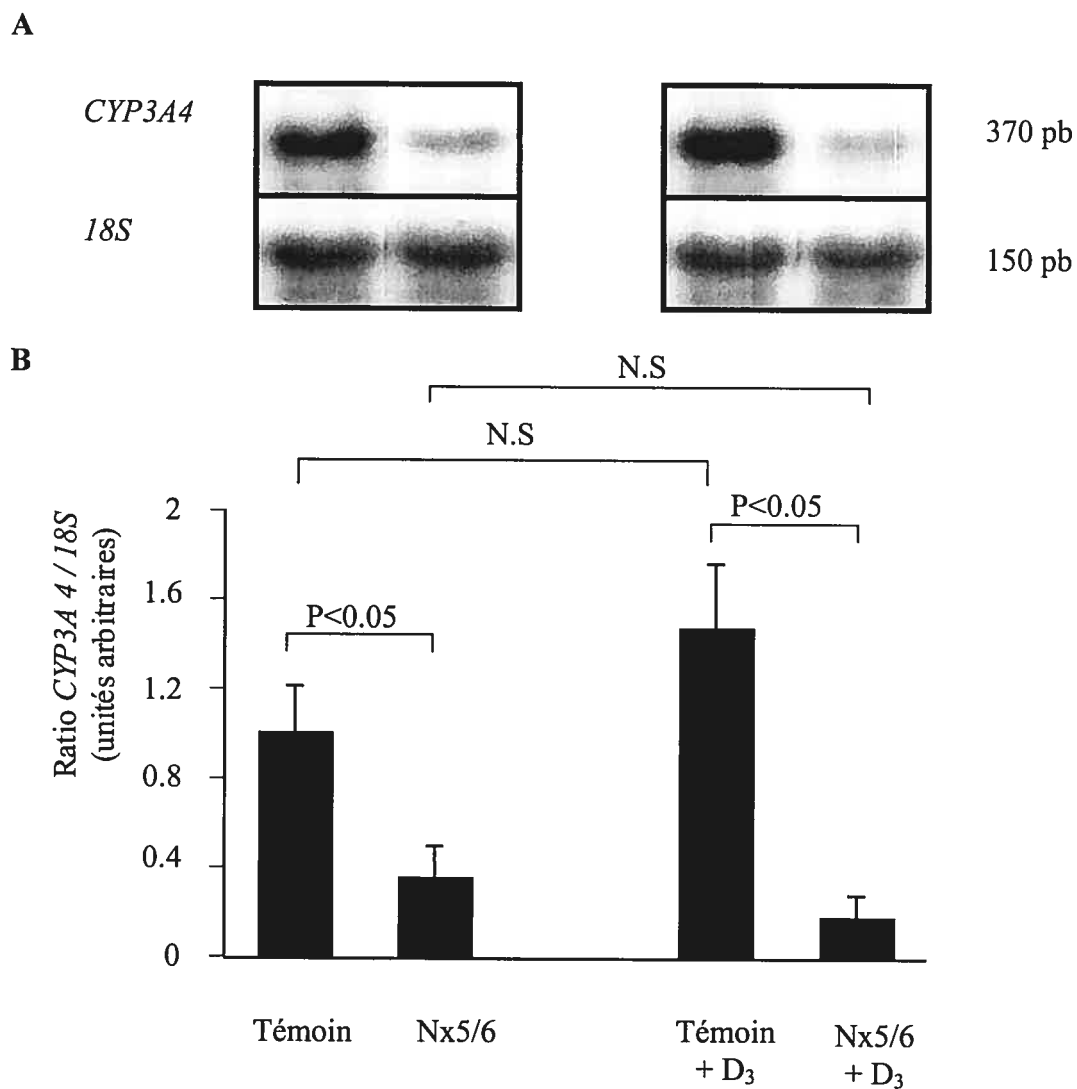


Figure 8. Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP3A4* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹) 5 heures avant sacrifice. **A** : représentation de l'analyse par Northern Blot de l'expression génique du *CYP3A4*. **B** : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives. $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

PARTIE A

L'INSUFFISANCE RÉNALE AIGÜE

8.3 Impact de l'IRA et réplétion avec la vitamine D₃ sur le système endocrinien de la vitamine D

8.3.1 Expression génique du *CYP27A1* hépatique

La figure 9 présente l'influence de l'IRA ainsi qu'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur l'expression génique du *CYP27A1* chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré dans le tableau 10, les pourcentages de variation de l'expression génique du *CYP27A1* des divers groupes étudiés par rapport à la valeur de base du groupe témoin ayant reçu du véhicule. L'IRA chez des rats Ca-D- augmente les niveaux géniques du *CYP27A1* (47%) mais de façon non significative. Cependant, chez ces mêmes groupes d'animaux supplémentés en D₃, le *CYP27A1* est significativement augmenté en IRA comparé aux animaux témoins (P<0.05).

8.3.2 Concentrations sériques de 25-hydroxyvitamine D₃ (25OHD₃)

Les figure 10 et 11 présentent respectivement l'influence de l'IRA et/ou d'une hépatectomie partielle ainsi que l'effet d'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D-. Nous observons une augmentation graduelle des concentrations sériques de 25OHD₃, 2 et 5 heures après l'injection d'une dose aiguë (250µg.kg⁻¹) de vitamine D₃ chez tout les groupes d'animaux expérimentaux. Par ailleurs, tous ces groupes d'animaux supplémentés en vitamine D₃, 5 heures avant sacrifice, montrent une augmentation significative de leur concentrations sériques de 25OHD₃ comparativement aux mêmes animaux mais injectés avec le véhicule : les groupes *Témoin + D₃* (73.8 ± 6.6 nmol.L⁻¹, P<0.003), *NxBi + D₃* (105.7 ± 9.2 nmol.L⁻¹, P<0.001), *Hpx 2/3 + D₃* (48.9 ± 9.6 nmol.L⁻¹, P<0.004), *Hpx 2/3 + NxBi + D₃* (45.9 ± 5.3 nmol.L⁻¹; P<0.004), *Hpx 90% + D₃* (24.7 ± 1.6 nmol.L⁻¹, P<0.05), *Hpx 90% + NxBi + D₃* (18.4 ± 2.1 nmol.L⁻¹, P<0.05). Nous avons comparé l'effet des différentes chirurgies effectuées avec une administration de D₃ sur les concentrations

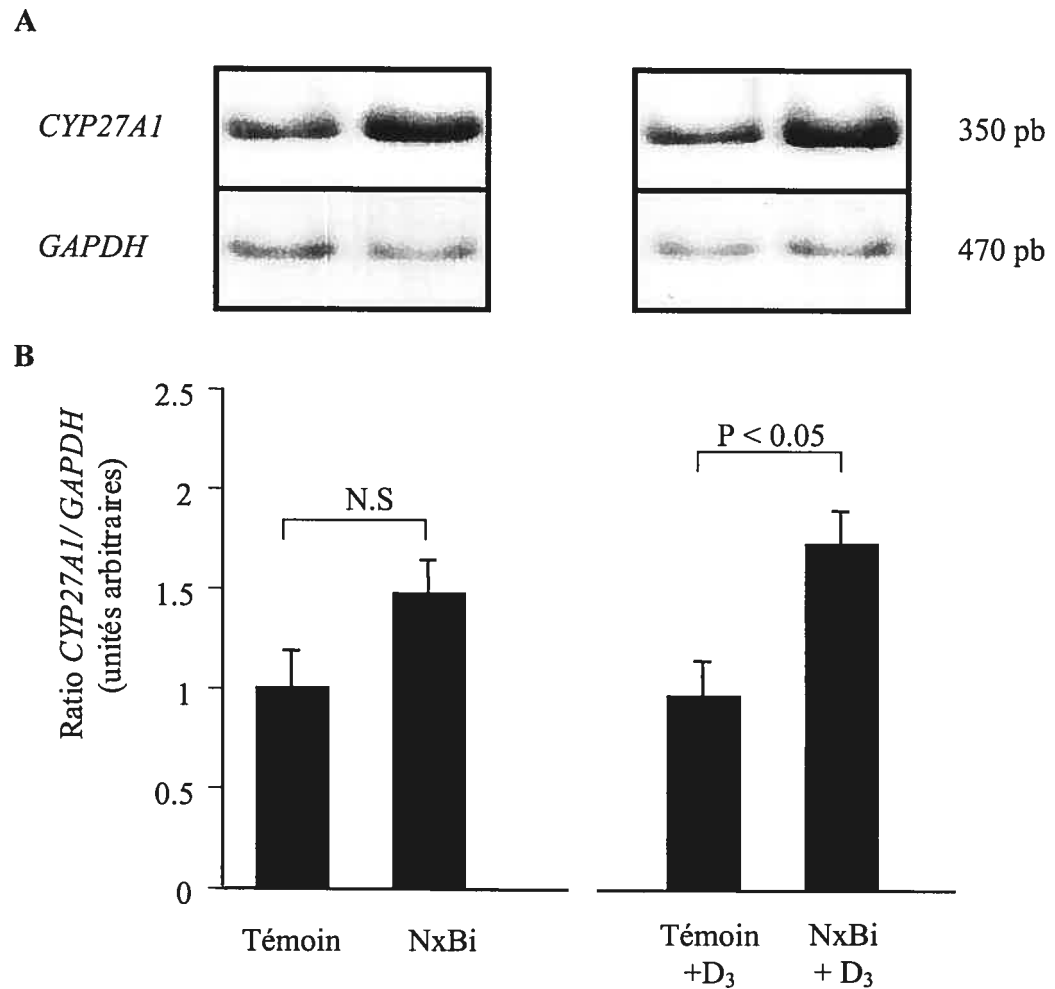


Figure 9. Effet de l'IRA sur l'expression génique du *CYP27A1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice. **A** : représentation de l'analyse par RT-PCR de l'expression génique du *CYP27A1*. **B** : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives. 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

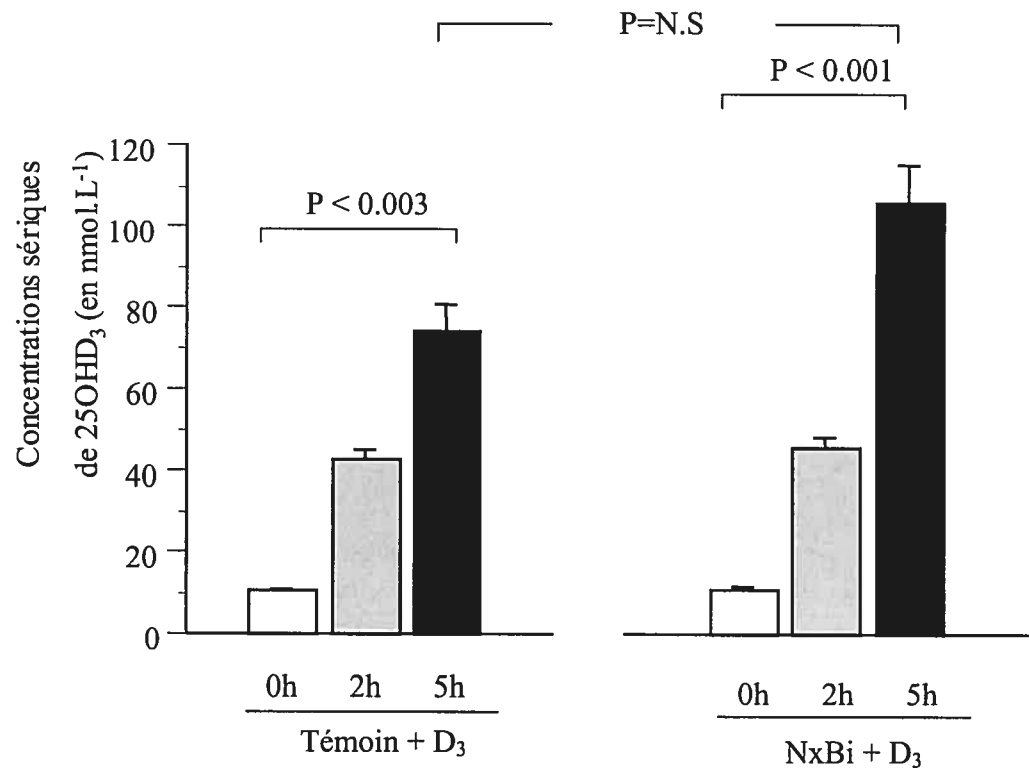
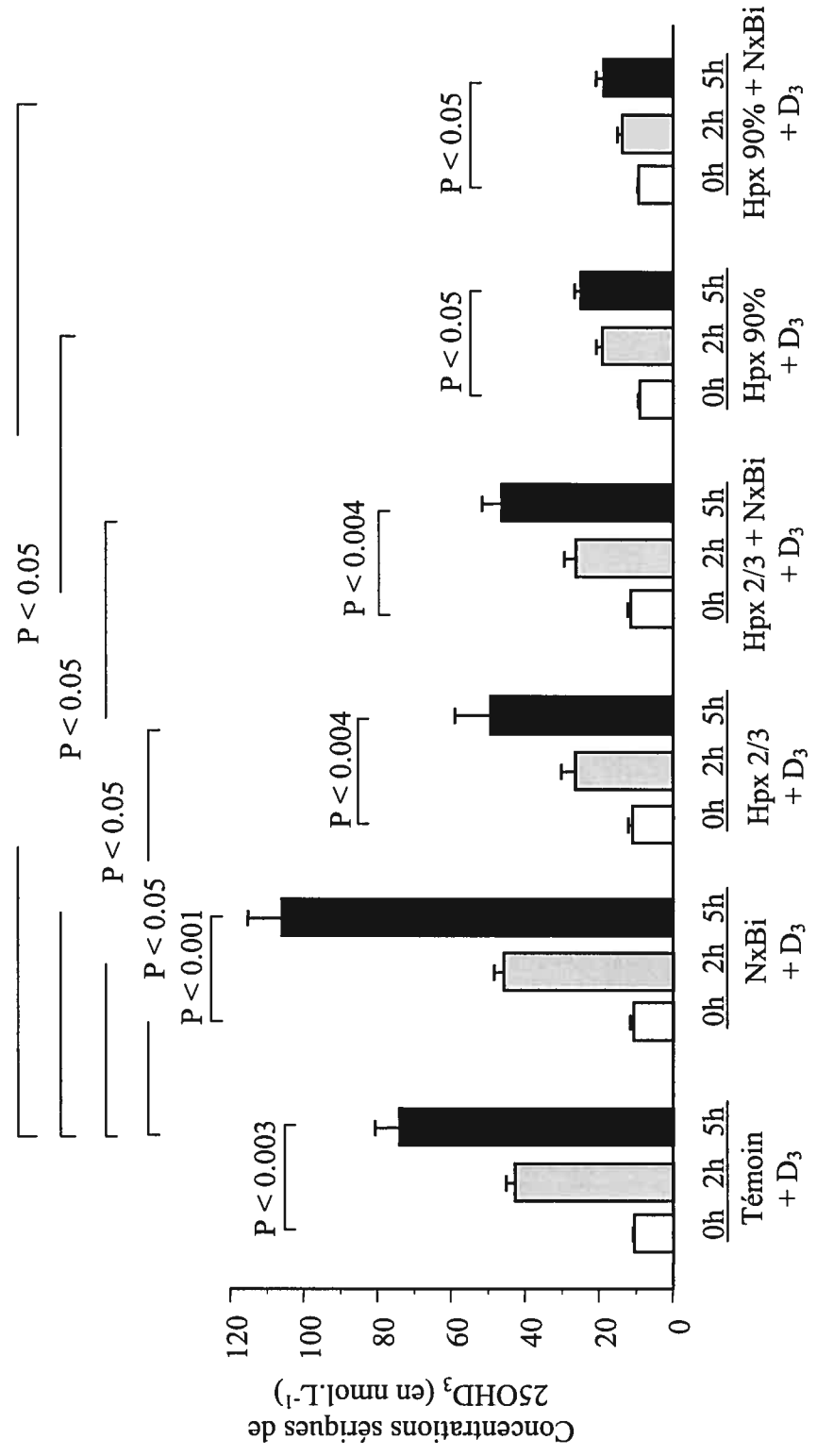


Figure 10. Effet de l'IRA sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice. Les concentrations de 25OHD₃ ont été mesurées à 0, 2 et 5 heures après l'injection de la vitamine D₃. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives ; 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

Figure 11. Effet de l'IRA et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice. Les concentrations de 25OHD₃ ont été mesurées à 0, 2 et 5 heures après l'injection de la vitamine D₃. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives ; $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

Figure 11. Effet de l'IRA et/ou d'une hépatectomie sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D- supplémentés en vitamine D₃ et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250 µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice.



sériques de 25OHD₃ comparées à celle des animaux *témoins* + D₃. Une hépatectomie partielle (2/3 ou à 90%) affecte les concentrations de 25OHD₃. En effet, nous observons une baisse significative des concentrations de 25OHD₃ pour les groupes *Hpx 2/3* + D₃, (P<0.05), *Hpx 90%* + D₃ (P<0.05), ainsi que chez des animaux atteints d'IRA soit *Hpx 2/3* + *NxBi* + D₃ (P<0.05) et *Hpx 90%* + *NxBi* + D₃ (P<0.05). Cependant, les concentrations de 25OHD₃ sont augmentées mais de façon non significative chez des animaux atteints d'IRA (*NxBi* + D₃) comparativement aux animaux *témoins* + D₃ comme illustré à la figure 10.

8.3.3 Expression génique du *CYP27B1* hépatique

La figure 12 présente l'influence de l'IRA ainsi qu'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur l'expression génique du *CYP27B1* chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré dans le tableau 10, les pourcentages de variation de l'expression génique du *CYP27B1* des divers groupes étudiés par rapport à la valeur de base du groupe témoin ayant reçu le véhicule. L'effet de l'IRA chez des rats Ca-D- n'affecte pas les niveaux géniques du *CYP27B1* (↑8% ; P=N.S) alors que les mêmes groupes d'animaux administrés en D₃, montrent une expression du gène *CYP27B1* significativement augmentée en IRA (P<0.05). L'effet de l'administration de D₃ par rapport aux groupes d'animaux ayant reçu le véhicule, nous révèle que le groupe d'animaux en IRA additionné d'une dose aiguë de D₃ (*NxBi*+ D₃), voit l'expression génique du *CYP27B1* significativement induite (P<0.05) par rapport aux animaux *NxBi* ayant reçu le véhicule.

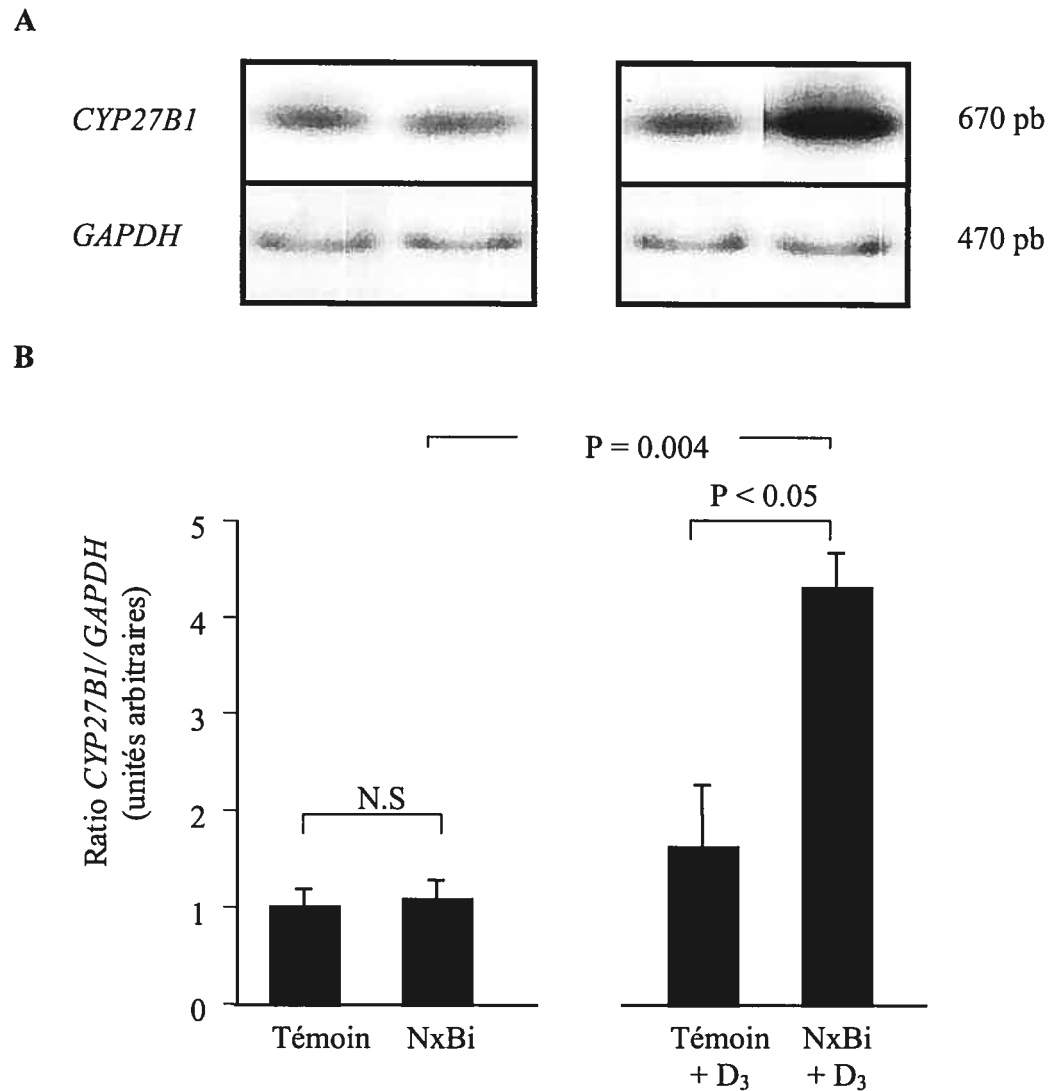


Figure 12. Effet de l'IRA sur l'expression génique du *CYP27B1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice. **A** : représentation de l'analyse par RT-PCR de l'expression génique du *CYP27B1*. **B** : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives. 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

8.3.4 Concentrations sériques de 1,25-dihydroxyvitamine D₃

Les figures 13 et 14 présentent respectivement l'influence de l'IRA et/ou d'une hépatectomie ainsi que l'effet d'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ chez des animaux Ca-D-. Nous observons une augmentation graduelle des concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ à 2 et 5 heures après l'injection d'une dose aiguë (250µg.kg⁻¹) de vitamine D₃ dans presque tous les groupes d'animaux expérimentaux. En effet, tous les groupes d'animaux supplémentés en vitamine D₃, 5 heures après injection, montrent une augmentation significative de leur concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ comparativement aux mêmes animaux Ca-D- mais injectés avec le véhicule : les groupes *témoin* + D₃ (2097.6 ± 214.1 pmol.L⁻¹, P<0.004), *NxBi* + D₃ (80.9 ± 11.4 pmol.L⁻¹, P<0.003), *Hpx 2/3* + D₃ (492.6 ± 96.2 pmol.L⁻¹, P<0.004), *Hpx 90%* + D₃ (248.0 ± 13.0 pmol.L⁻¹, P<0.05) sauf pour les groupes suivants : *Hpx 2/3* + *NxBi* + D₃ (33.5 ± 6.5 pmol.L⁻¹, P=N.S) et *Hpx 90%* + *NxBi* + D₃ (100.9 ± 18.8 pmol.L⁻¹, P=N.S).

Une hépatectomie partielle (2/3 ou à 90%) diminue significativement les concentrations de 1,25(OH)₂D₃ sériques comparées à celle des animaux *témoins* + D₃ soient les groupes : *Hpx 2/3* + D₃, (P<0.007), , *Hpx 90%* + D₃ (P<0.05). En absence totale de masse rénale fonctionnelle, ces concentrations de 1,25(OH)₂D₃ baissent dramatiquement comparativement à celles des animaux témoins (P<0.002) ayant reçu de la D₃ (voir figure 13). L'effet d'une hépatectomie partielle (2/3 ou 90%) abolit l'augmentation significative de la production de 1,25(OH)₂D₃ chez les rats bi-néphrectomisés administrés en vitamine D₃.

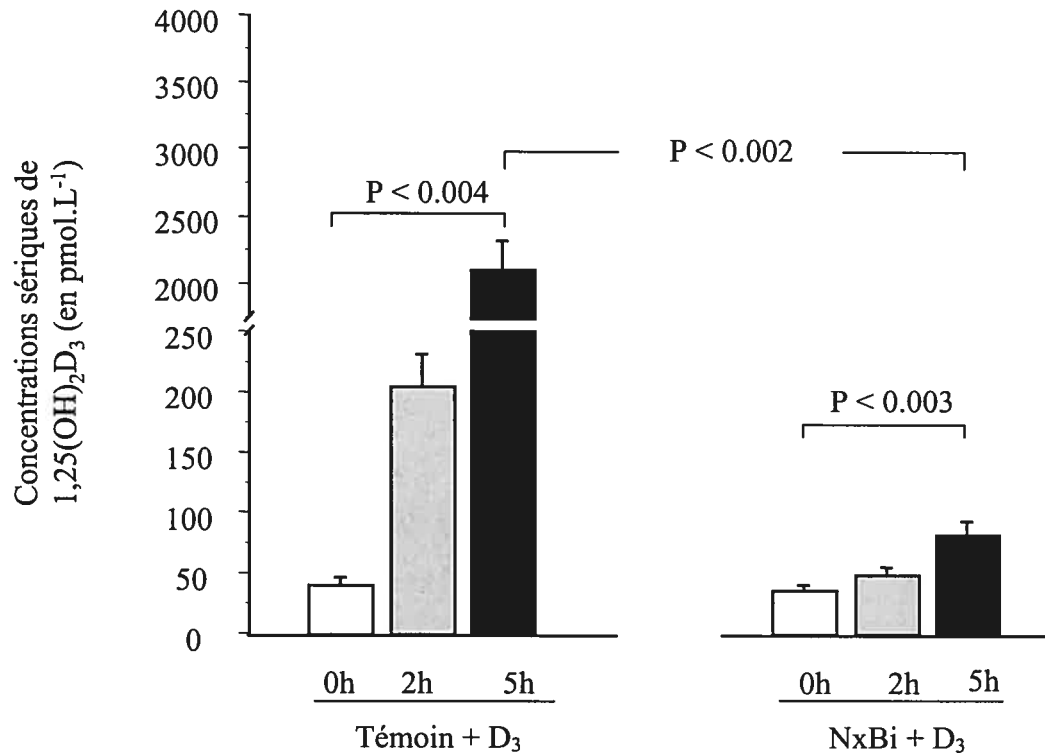
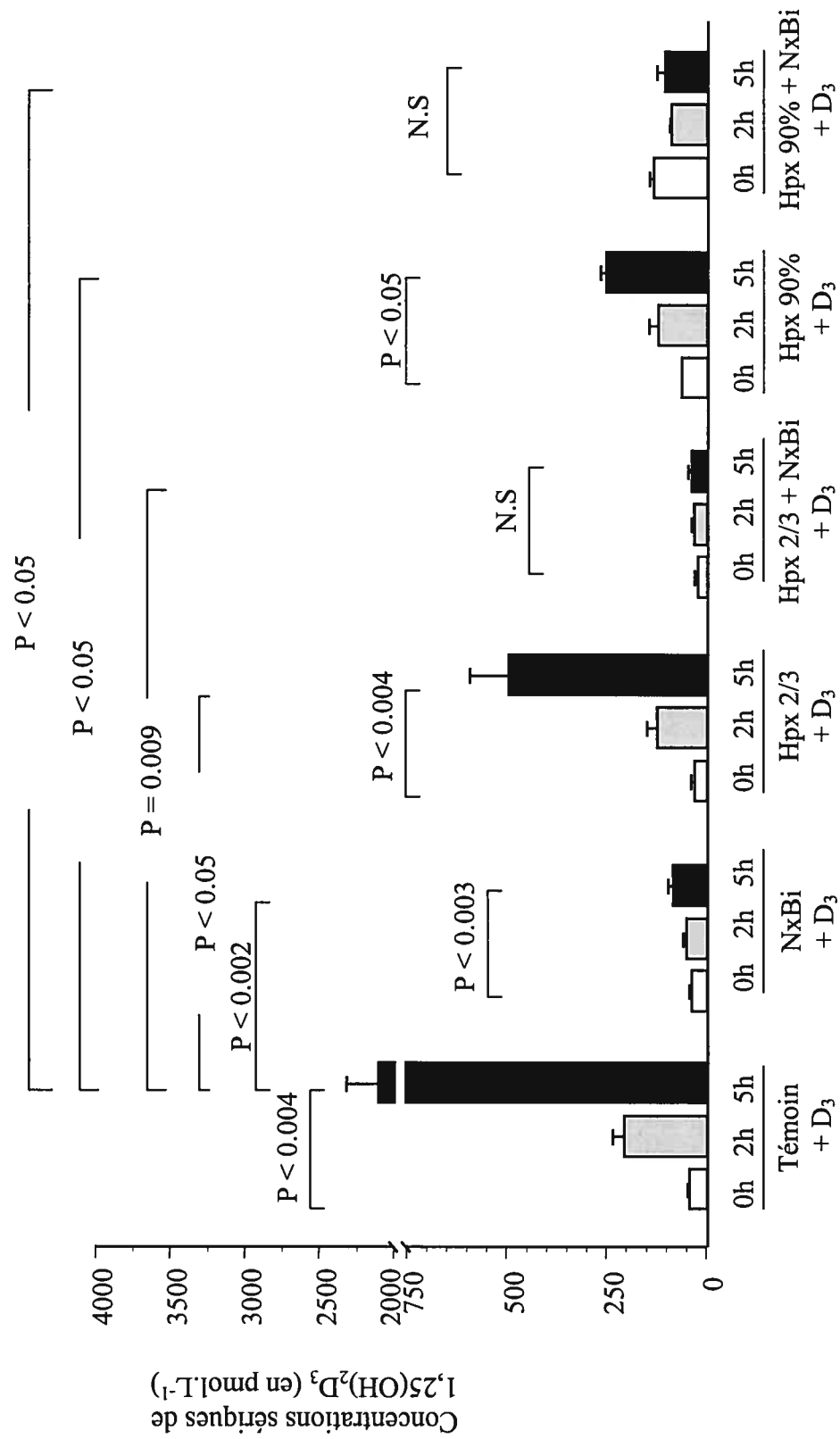


Figure 13. Effet de l'IRA sur les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice. Les concentrations de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ont été mesurées à 0, 2 et 5 heures après l'injection de la vitamine D_3 . Les résultats présentés sont la moyenne \pm E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 ($P < 0.05$) ont été considérées statistiquement significatives. $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

Figure 14. Effet de l'IRA et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice. Les concentrations de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ont été mesurées à 0, 2 et 5 heures après l'injection de la vitamine D_3 . Les résultats présentés sont la moyenne \pm E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 ($P < 0.05$) ont été considérées statistiquement significatives ; $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

Figure 14. Effet de l'IRA et/ou d'une hépatectomie sur les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des animaux Ca-D- supplémentés en vitamine D_3 et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice.



8.3.5 Expression génique du *VDR* hépatique

La figure 15 présente l'influence de l'IRA ainsi qu'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur l'expression génique du *VDR* chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré dans le tableau 10, les pourcentages de variation de l'expression génique du *VDR* des divers groupes étudiés comparativement à la valeur de base du groupe témoin ayant reçu le véhicule. L'effet de l'IRA, chez des rats Ca-D-, augmente significativement les niveaux géniques du *VDR* ($P < 0.004$) avec une augmentation de 123%. Chez les mêmes groupes d'animaux mais administrés en D₃, l'effet de l'IRA sur l'expression du gène du *VDR* est conservé ($P < 0.05$). Une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur des animaux témoins diminue significativement le gène du *VDR* par rapport aux animaux témoins ayant reçu le véhicule ($P < 0.05$).

8.3.6 Récapitulatif des résultats

Le tableau 10 présente le récapitulatif des pourcentages de variation de l'expression génique des gènes hépatiques étudiés en IRA comparativement à la valeur observée chez les animaux témoins ayant reçu le véhicule.

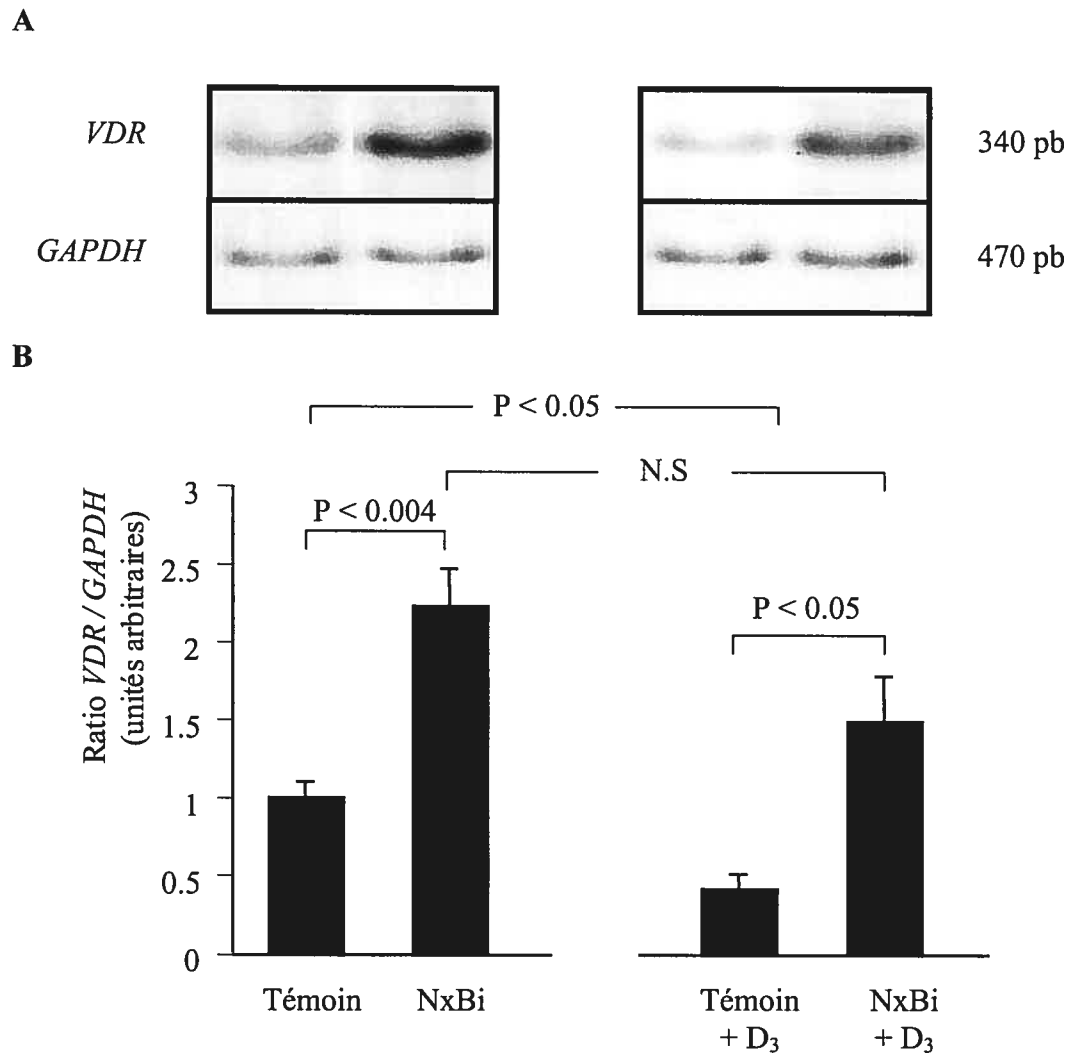


Figure 15. Effet de l'IRA sur l'expression génique du *VDR* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹) 5 heures avant sacrifice. **A** : représentation de l'analyse par RT-PCR de l'expression génique du *VDR*. **B**: analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives. 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

Tableau 10. Récapitulatif des pourcentages de variation de l'expression génique des gènes étudiés en IRA

Paramètres Gènes	Témoin + véhicule	Témoin + D ₃	NxBi + véhicule	NxBi + D ₃
<i>CYP3A4</i>	100%	↓26%	↓80% (P<0.005*)	↓95% (P<0.05 ▲)
<i>CYP27A1</i>	100%	↓4%	↑47% (N.S*)	↑72% (P<0.05 ▲)
<i>CYP27B1</i>	100%	↑62%	↑8% (N.S*)	↑330% (P<0.05 ▲)
<i>VDR</i>	100%	↓58%	↑123% (P<0.004*)	↑49% (P<0.05 ▲)

* comparaison avec le groupe témoin + véhicule

▲ comparaison avec le groupe témoin + D₃

PARTIE B

L'INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE

8.4 Impact de l'IRC et réplétion avec la vitamine D₃ sur le système endocrinien de la vitamine D

8.4.1 Expression génique du *CYP27A1* hépatique

La figure 16 présente l'influence de l'IRC ainsi qu'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur l'expression génique du *CYP27A1* chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré dans le tableau 11, les pourcentages de variation de l'expression génique du *CYP27A1* des divers groupes étudiés comparativement à la valeur de base du groupe témoin ayant reçu du véhicule. L'IRA affecte significativement les niveaux géniques du *CYP27A1* (↑83%) comparés à celui des animaux témoins (P<0.05). L'effet de l'administration de D₃ par rapport aux groupes d'animaux ayant reçu du véhicule, n'a pas d'effet significatif si l'on compare les groupes ayant reçu le même type de chirurgie. Chez les groupes d'animaux ayant reçu de la D₃, l'effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27A1* est supprimé (P= N.S). L'exérèse de 1/6 de la masse rénale restante (*Nx5/6* + *NxBi*) diminue significativement l'ARNm du *CYP27A1* comparativement au groupe *Nx5/6* (P<0.05), même chez ces animaux administrés en D₃ (P<0.05).

8.4.2 Concentrations sériques de 25-hydroxyvitamine D₃ (25OHD₃)

Les figures 17 et 18 présentent respectivement l'influence de l'IRC et/ou d'une hépatectomie ainsi que l'effet d'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D-. Les concentrations sériques de 25OHD₃ augmentent de façon graduelle 2 et 5 heures après l'injection d'une dose aiguë (250µg.kg⁻¹) de vitamine D₃ chez tout les groupes d'animaux expérimentaux. Par ailleurs, tous ces groupes administrés en vitamine D₃, 5 heures avant sacrifice, montrent une augmentation significative de leurs concentrations sériques de 25(OH)D₃ comparés aux mêmes animaux mais ayant reçu le véhicule : les groupes *témoin* + D₃ (43.3 ± 1.9 nmol.L⁻¹, P<0.05), *Nx5/6* + D₃ (62.1 ± 3.4 nmol.L⁻¹, P<0.002), *Nx5/6* + *NxBi* + D₃ (51.9 ± 6.6 nmol.L⁻¹, P<0.007) et *Hpx2/3* + *Nx5/6* + D₃ (37.3 ± 6.7 nmol.L⁻¹,

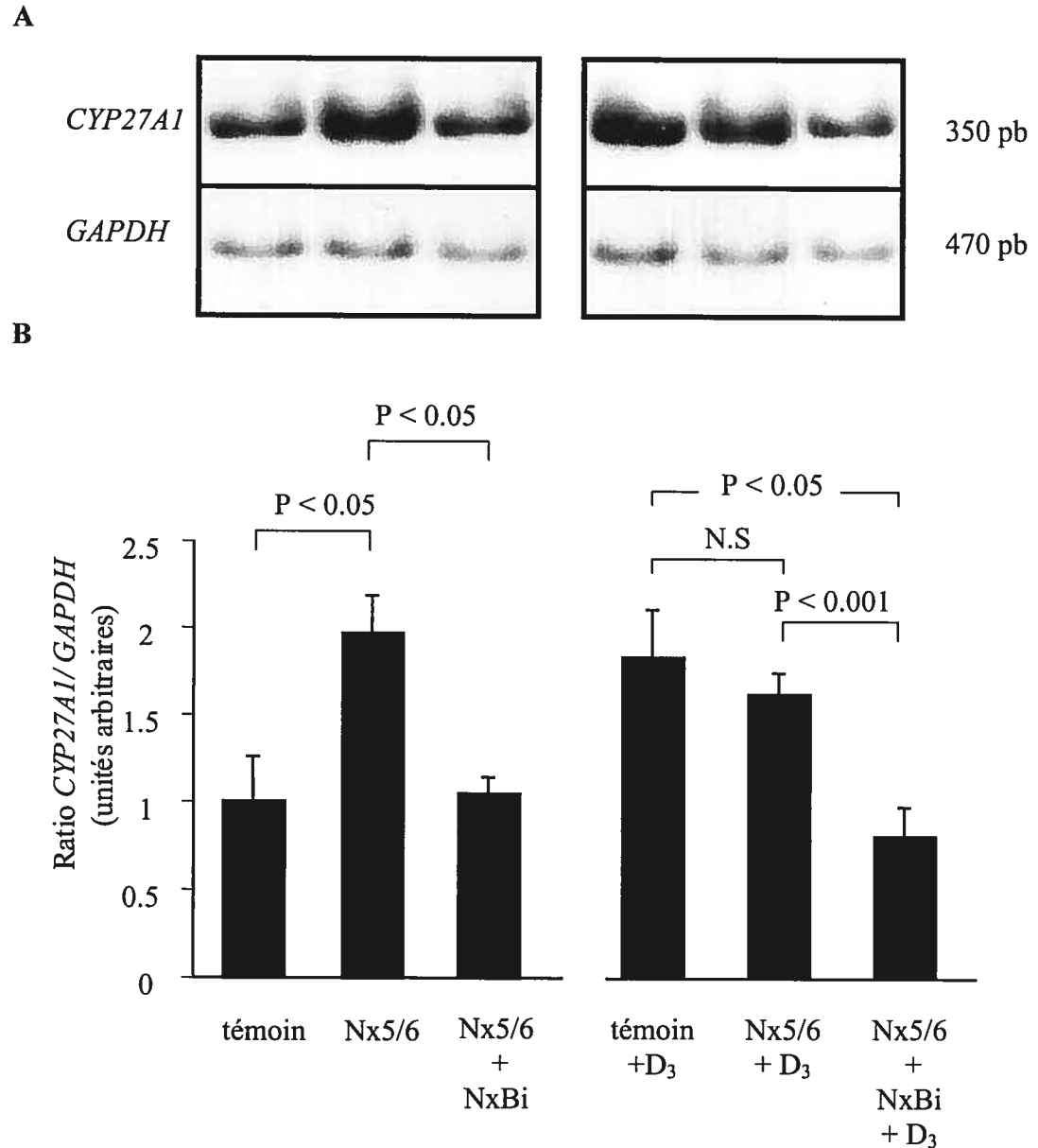


Figure 16. Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27A1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice. **A** : représentation de l'analyse par RT-PCR de l'expression génique du *CYP27A1*. **B** : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 ($P < 0.05$), ont été considérées statistiquement significatives. $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

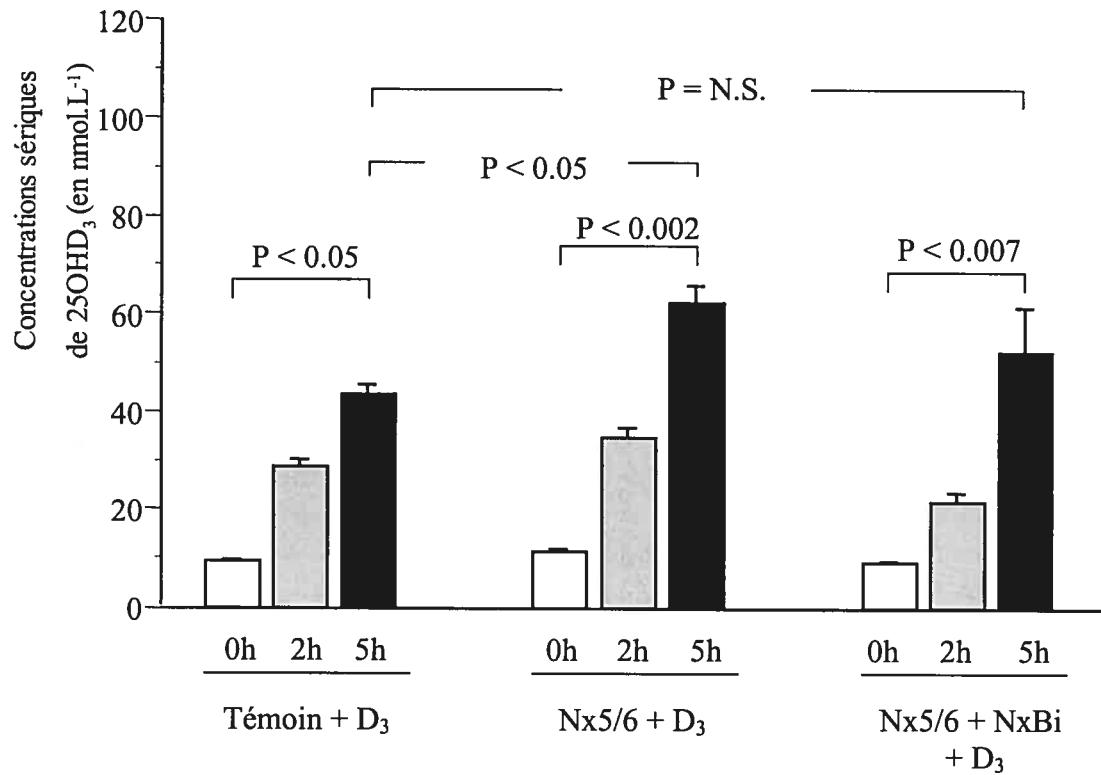


Figure 17. Effet de l'IRC sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice. Les concentrations de 25OHD₃ ont été mesurées à 0, 2 et 5 heures après l'injection de la vitamine D₃. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes, dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05), ont été considérées statistiquement significatives ; 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

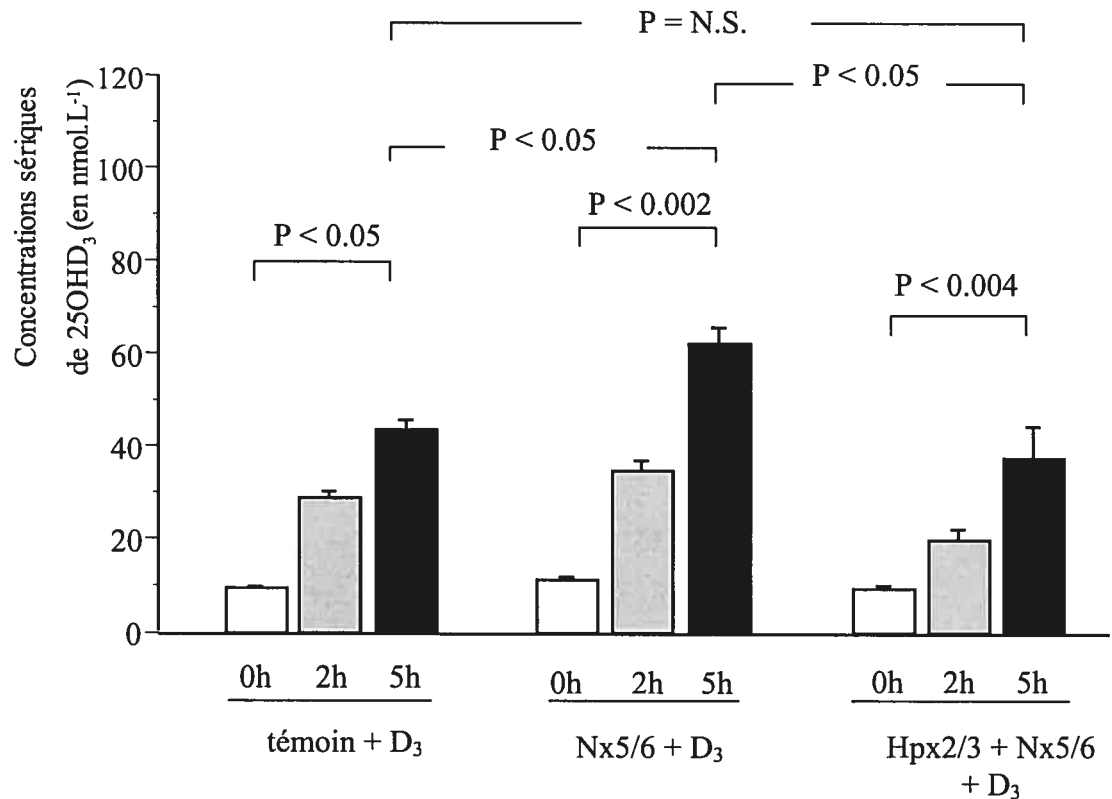


Figure 18. Effet de l'IRC et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de 25OHD₃ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250 µg.kg⁻¹), 5 heures avant le sacrifice. Les concentrations de 25OHD₃ ont été mesurées à 0, 2 et 6 heures après l'injection de la vitamine D₃. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives ; 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

$P < 0.004$). Une néphrectomie aux 5/6 chez des animaux Ca-D-, augmente significativement les concentrations circulantes de 25OHD₃ comparativement à celles des animaux *témoins* + D₃ ($P < 0.05$) alors que l'exérèse de 1/6 du rein restant n'a pas d'effet. Comme illustré à la figure 18, l'effet additionnel d'une hépatectomie partielle à des animaux soumis à une IRC, abolit significativement l'augmentation des concentrations de 25OHD₃ observées chez les animaux *Nx5/6* + D₃ ($P < 0.05$).

8.4.3 Expression génique du *CYP27B1* rénal et hépatique

Les figures 19 et 20 présentent l'influence de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27B1* rénal ainsi que sur celle du *CYP27B1* hépatique et après administration en dose aiguë de vitamine D₃ chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré dans le tableau 11, les pourcentages de variation de l'expression génique du *CYP27B1* des divers groupes étudiés par rapport à la valeur de base du groupe témoin ayant reçu le véhicule. Une néphrectomie partielle au 5/6 n'a pas d'influence significative sur l'expression génique du *CYP27B1* rénal comparée à celle des animaux témoins ($\downarrow 25\%$). Dans le foie, l'effet de l'IRC chez des rats Ca-D- n'affecte pas les niveaux géniques du *CYP27B1* hépatique ($\downarrow 12\%$) comparé au animaux témoins alors que l'exérèse de 1/6 de la masse rénale restante (*Nx5/6* + *NxBi*) a un effet significatif sur le gène par rapport au groupe *témoin* ($P < 0.05$, $\uparrow 81\%$) et au groupe *Nx5/6* ($P < 0.05$). Chez les animaux administrés en D₃, l'IRC a un effet significatif comparativement aux animaux témoins administrés en D₃, sur l'expression génique du *CYP27B1* ($P < 0.05$) et surtout lors de l'exérèse de 1/6 de la masse rénale restante ($P < 0.05$).

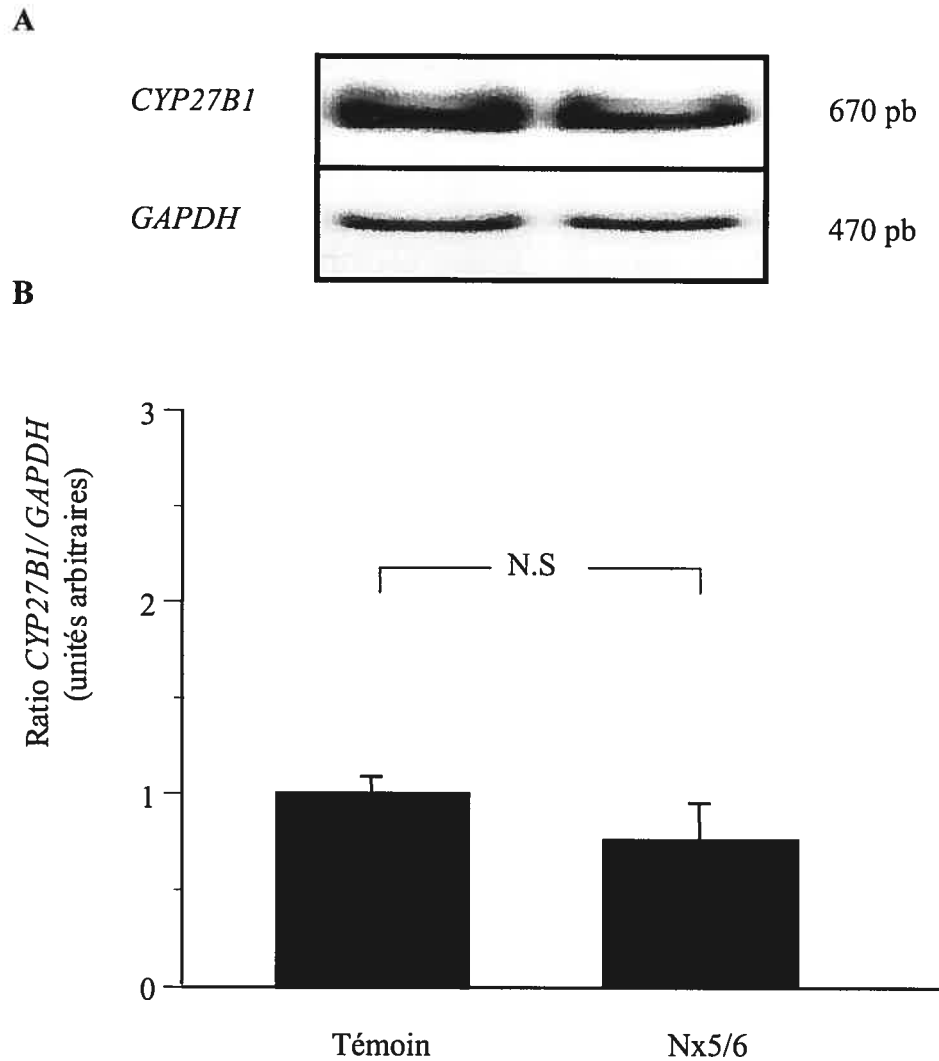


Figure 19. Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27B1* rénal chez des animaux Ca-D-. *A* : représentation de l'analyse par RT-PCR de l'expression génique du *CYP27B1*. *B* : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne \pm E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 ($P < 0.05$) ont été considérées statistiquement significatives ; $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

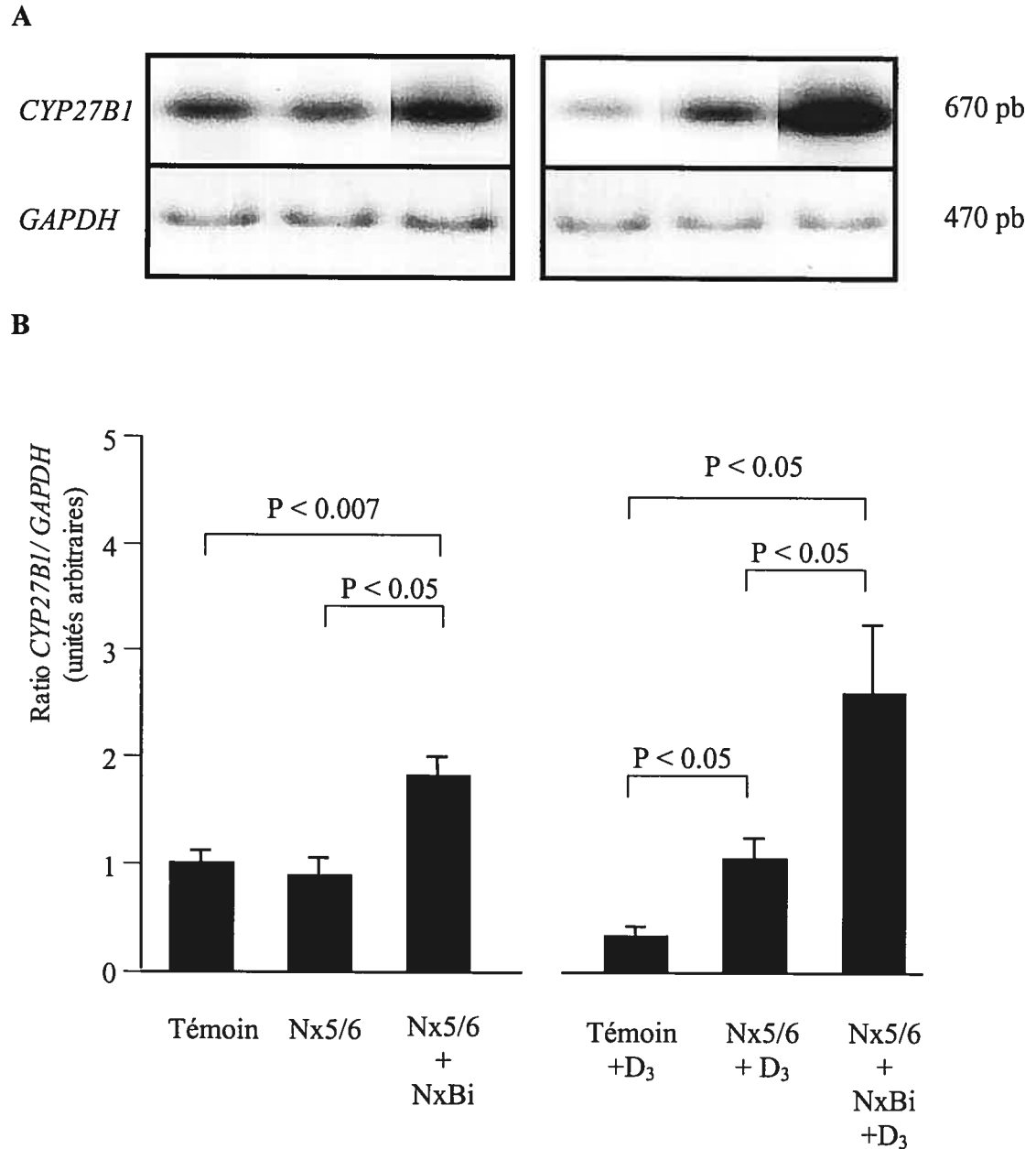


Figure 20. Effet de l'IRC sur l'expression génique du *CYP27B1* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹). **A** : représentation de l'analyse par RT-PCR de l'expression génique du *CYP27B1*. **B** : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives ; 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

8.4.4 Concentrations sériques de 1,25-dihydroxyvitamine D₃

Les figures 21 et 22 présentent respectivement l'influence de l'IRC et/ou d'une hépatectomie ainsi que l'effet d'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ chez des animaux Ca-D-. Les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ augmentent de façon graduelle, à 2 puis 5 heures après l'injection d'une dose aiguë (250µg.kg⁻¹) de vitamine D₃ chez tous les groupes d'animaux expérimentaux. En outre, tous ces groupes administrés en vitamine D₃ montrent une augmentation significative de leur concentration sérique de 1,25(OH)₂D₃ comparativement aux mêmes animaux mais injectés avec le véhicule : les groupes *témoin* + D₃ (3130 ± 290 pmol.L⁻¹ ; P<0.05) , Nx5/6 + D₃ (1038.1 ± 231.5 pmol.L⁻¹ ; P<0.004), Nx5/6 + NxBi + D₃ (83.3 ± 19.7 pmol.L⁻¹ ; P<0.05), et Hpx 2/3 + Nx5/6 + D₃ (323.5 ± 82.5 pmol.L⁻¹ ; P<0.05). L'IRC diminue significativement (P<0.05) les concentrations de 1,25(OH)₂D₃ (3 fois plus basses comparativement à celles des animaux *témoins* + D₃) alors que l'exérèse du 1/6 de rein restant, affecte de façon plus importante (9-10 fois plus basses comparativement à celles des animaux Nx5/6 + D₃) les concentrations de 1,25(OH)₂D₃ (P<0.05). L'effet additionnel d'une hépatectomie partielle au 2/3 abaisse fortement les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ chez des animaux atteints d'IRC (3 fois plus basses comparativement à celles des animaux Nx5/6 + D₃ ; P<0.05).

Figure 21. Effet de l'IRC sur les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 5 heures avant sacrifice. Les concentrations de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ont été mesurées à 0, 2 et 5 heures après l'injection de la vitamine D_3 . Les résultats présentés sont la moyenne \pm E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 ($P < 0.05$) ont été considérées statistiquement significatives ; $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

Figure 21. Effet de l'IRC sur les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ en IRC chez des animaux Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃

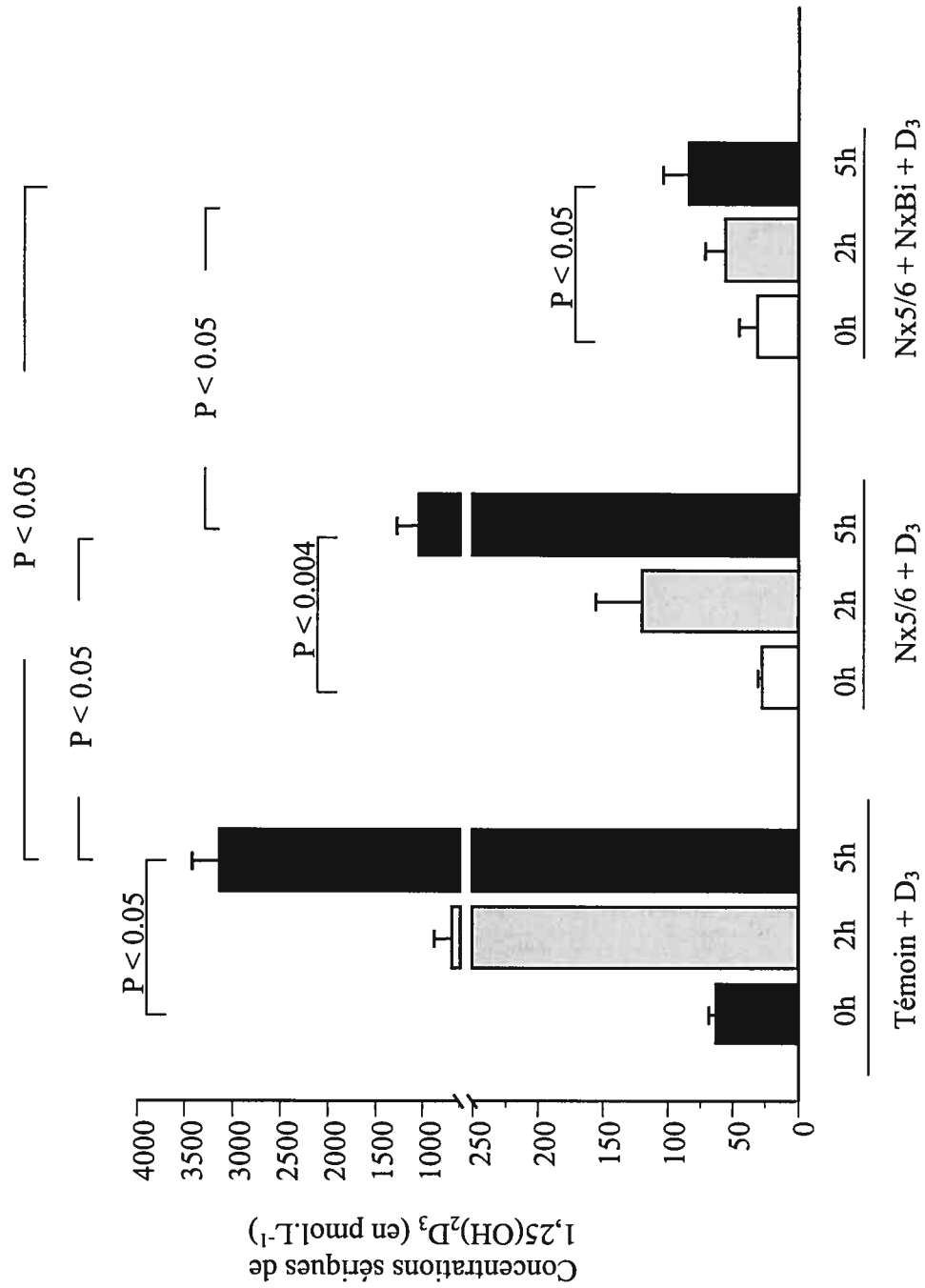
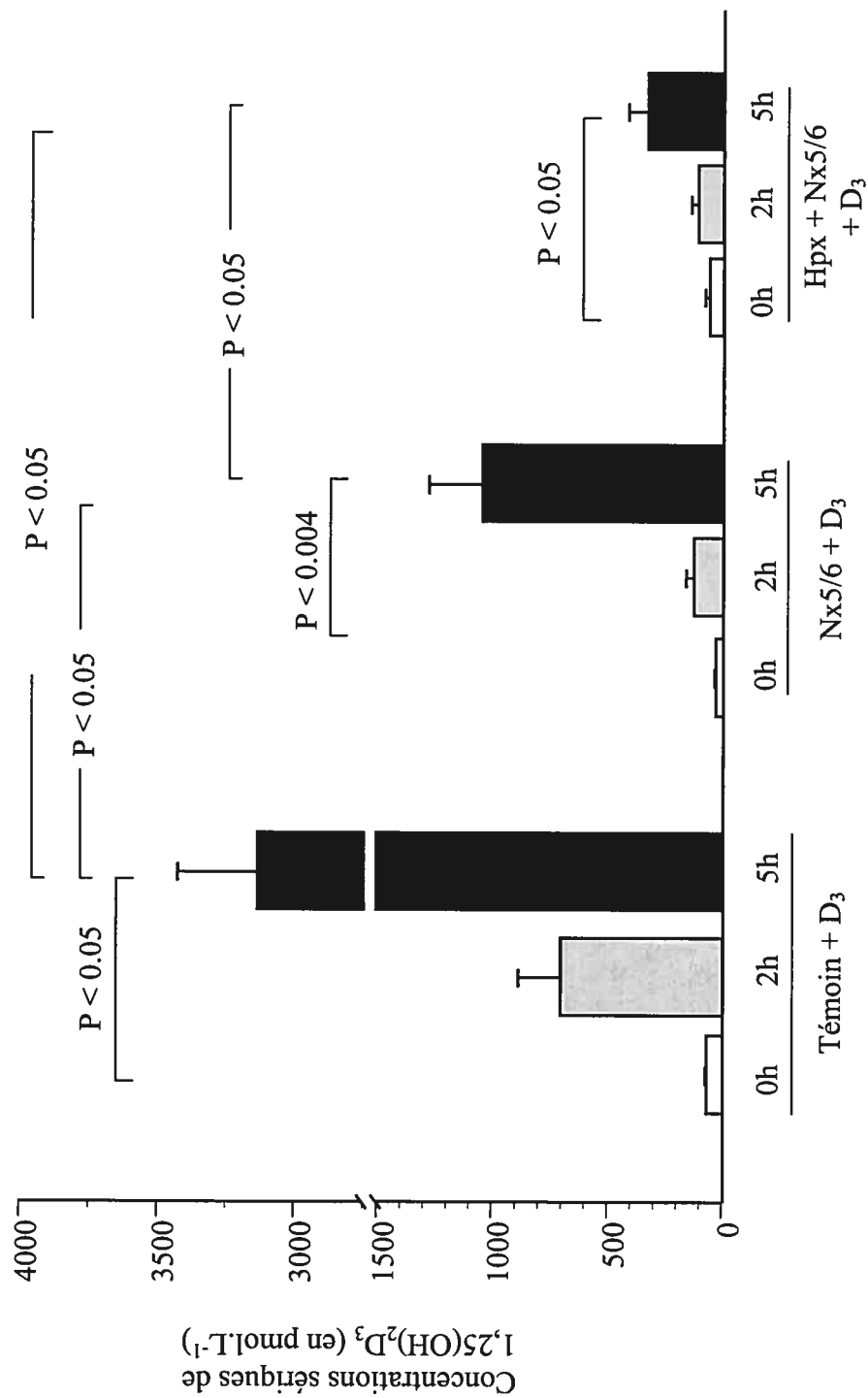


Figure 22. Effet de l'IRC et/ou d'une hépatectomie partielle sur les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez des animaux Ca-D- et Ca-D-, supplémentés en dose aiguë de vitamine D_3 ($250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 heures avant sacrifice. Les concentrations de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ont été mesurées à 0, 2 et 6 heures après l'injection de la vitamine D_3 . Les résultats présentés sont la moyenne \pm E.T. Nous avons constaté une différence significative des variances inter-groupes par un test d'égalité des variances. Dans ce cas, les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse non paramétrique de Mann-Whitney. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 ($P < 0.05$) ont été considérées statistiquement significatives ; $3 \leq n \leq 5$ animaux par groupe.

Figure 22. Effet de l'IRC et/ou d'une hépatectomie sur les concentrations sériques de 1,25(OH)₂D₃ en IRC chez des animaux Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃



8.4.5 Expression génique du *VDR* hépatique

La figure 23 présente l'influence de l'IRC ainsi qu'une administration en dose aiguë de vitamine D₃ sur l'expression génique du *VDR* chez des animaux Ca-D-. Nous avons illustré dans le tableau 11, les pourcentages de variation de l'expression génique du *VDR* des divers groupes étudiés par rapport à la valeur de base du groupe témoin ayant reçu le véhicule. L'effet de l'IRC augmente significativement les niveaux géniques du *VDR* hépatique ($P < 0.009$) avec une augmentation de 131%. Cependant, l'administration de D₃ réduit de façon significative, l'induction par l'IRC de l'expression génique du *VDR* ($P < 0.05$).

8.4.6 Récapitulatif des résultats

Le tableau 11 présente le récapitulatif des pourcentages de variation de l'expression génique des gènes étudiés en IRC comparativement à la valeur observée chez les animaux témoins ayant reçu le véhicule.

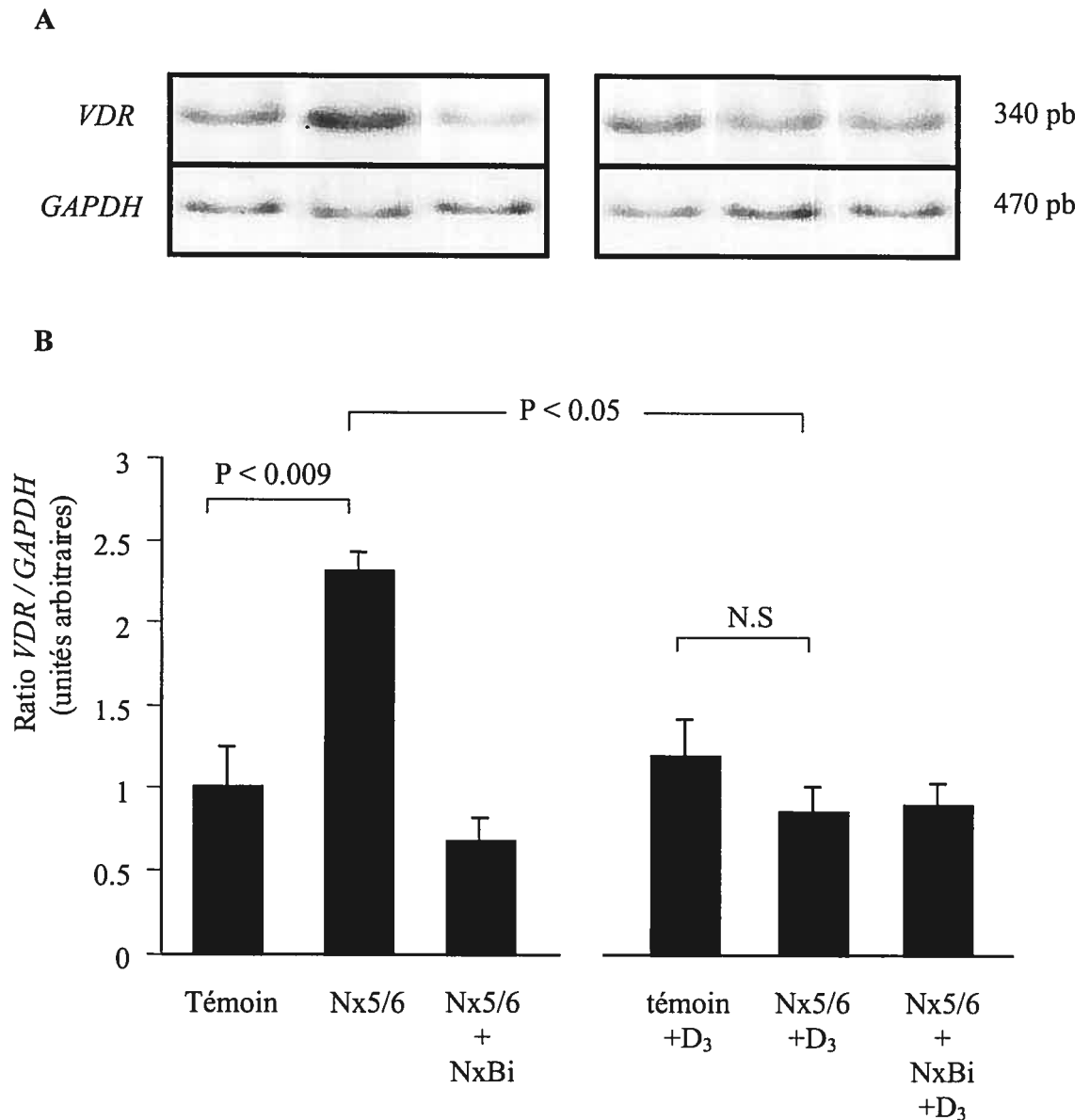


Figure 23. Effet de l'IRC sur l'expression génique du *VDR* hépatique chez des animaux Ca-D- et Ca-D- supplémentés en dose aiguë de vitamine D₃ (250µg.kg⁻¹), 5 heures avant sacrifice. **A** : représentation de l'analyse par RT-PCR de l'expression génique du *VDR*. **B** : analyses densitométriques. Les résultats présentés sont la moyenne ± E.T. Les différences significatives entre les groupes ont été évaluées par l'analyse "t" de Student. Les différences entre les moyennes dont le degré d'erreur est inférieur à 0.05 (P<0.05) ont été considérées statistiquement significatives. 3 ≤ n ≤ 5 animaux par groupe.

Tableau 11. Récapitulatif des pourcentages de variation de l'expression génique des gènes étudiés en IRC

Gènes	Paramètres	Témoin + véhicule	Témoin + D ₃	Nx5/6 + véhicule	Nx5/6 + D ₃	Nx5/6 + NxBi + véhicule	Nx5/6 + NxBi + D ₃
<i>CYP3A4</i>		100%	↑47%	↓65% (P < 0.05*)	↓83% (P < 0.05 ▲)	N.D.	N.D.
<i>CYP27A1</i>		100%	↑83%	↑97% (P < 0.05*)	↑62% (N.S. ▲)	↑5% (N.S*)	↓20% (P < 0.05 ▲)
<i>CYP27B1</i> rénal		100%	N.D.	↓25% (N.S*)	N.D.	N.D.	N.D.
<i>CYP27B1</i> hépatique		100%	↓68%	↓12% (N.S*)	↑1% (P < 0.05 ▲)	↑81% (P < 0.007*)	↑160% (P < 0.05 ▲)
<i>VDR</i>		100%	↑20%	↑131% (P < 0.009*)	↓15% (N.S. ▲)	↓33% (N.S*)	↓11% (N.S. ▲)

* comparaison avec le groupe témoin + véhicule

▲ comparaison avec le groupe témoin + D₃

N.D : Non disponible

CHAPITRE IV

DISCUSSION ET CONCLUSION

9. DISCUSSION

En insuffisance rénale, la capacité de synthèse de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ est fortement réduite en raison d'une masse cellulaire fonctionnelle rénale diminuée (78). Le rein est le site principal de production de la vitamine D, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dans des conditions physiologiques normales bien que d'autres sites de production de l'hormone dont l'intestin, le foie, la peau, le poumon et le placenta ont été également identifiés. Ces sites expriment le CYP27B1 possèdent et peuvent transformer la 25OHD_3 en $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. A ce jour, aucune étude n'a défini, dans un tissu autre que le rein, les mécanismes moléculaires impliquant les enzymes responsables de la bioactivation de la vitamine D ainsi que son récepteur nucléaire (VDR), nécessaires à une éventuelle contribution dans l'homéostasie du système endocrinien de la vitamine D en condition d'insuffisance rénale.

Pour la première fois, les résultats obtenus dans cette étude, montrent l'induction du gène codant pour le CYP27B1 (1 α -hydroxylase) hépatique et sa possible contribution dans la bioactivation de la vitamine D en $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en condition de défaillance rénale. Dans cette étude, nous avons utilisé des animaux hypocalcémiques et carencés en vitamine D afin de travailler dans des conditions optimales pour l'étude des paramètres liés au métabolisme de la vitamine D. Nous avons utilisé la néphrectomie bilatérale (NxBi) ainsi que la néphrectomie au 5/6 comme modèle animal d'IRA et d'IRC tel que décrit précédemment par Olgaard K. et coll. (164). Le degré d'insuffisance rénale est plus sévère chez des rats bi-néphrectomisés (animaux NxBi) par comparaison à des rats soumis à une néphrectomie 5/6 (animaux Nx5/6). En effet, les concentrations de créatinine sont fortement augmentées chez les animaux NxBi. Quant aux autres paramètres biochimiques, les deux modèles animaux d'IRA et d'IRC n'ont pas révélé de changement significatif dans les concentrations sériques de calcium, de phosphore et de PTH comparativement à celles observées chez les animaux contrôles ayant subi une chirurgie fantôme (*Sham*). Contrairement aux animaux normaux, l'absence d'hyperphosphorémie n'est probablement pas due à la carence car les animaux Ca-D- montrent une phosphorémie normale ou légèrement supérieure à la normale (170). Elle

pourrait toutefois être due à la diète qui contient une quantité relativement faible de phosphore (0.9% p/p). D'autre part, ces résultats montrent clairement que l'IRC ou l'IRA n'exacerbe pas l'hypocalcémie et l'hyperparathyroïdie secondaire déjà induites par la diète déficiente en vitamine D à laquelle les animaux furent soumis.

Il est reconnu que l'insuffisance rénale est associée à une baisse du métabolisme des médicaments. Le rein est l'organe responsable, avec le foie, de la clairance des médicaments et de leurs métabolites. Une réduction de la filtration glomérulaire affecte directement leur excrétion et cause leur accumulation dans l'organisme, ce qui entraîne un risque important de toxicité. Ainsi, chez des patients atteints d'IRC, le métabolisme des médicaments et des xénobiotiques est altéré (157). De récentes études ont montré que des cytochromes P450 hépatiques impliqués dans le métabolisme des médicaments et des xénobiotiques, étaient sous-régulés en IRC (149,171). Le CYP3A4 est le plus abondant P450 dans le foie humain et représente 30% du total des P450 dans ce tissu. Chez l'humain, il catalyse le métabolisme de plus de 60% des médicaments utilisés cliniquement (134, 172). Cependant, seuls les travaux de Leblond F. et coll. ont montré une sous-régulation de l'expression génique des cytochromes hépatiques *CYP3A1* et *CYP3A2* correspondant selon les auteurs au CYP3A4 chez le rat (161).

L'expression génique du *CYP3A4* est fortement induite par la dexaméthasone et le phénobarbital, des inducteurs connus de la famille 3A des cytochromes P450 (173) et de façon moindre par la beta-naphtoflavone, un inducteur connu des CYP1A1 et CYP1A2 (174). Par contre, le 3-méthylcholanthrene ou l'acétone ne semble pas avoir d'influence sur l'expression génique du *CYP3A4*. Nos résultats sont en concordance avec l'étude de Mahnke A. et coll. qui ont montré que le gène *CYP3A23* chez le rat possédait le même rapport d'inductibilité pour le dexaméthasone/phénobarbital que celui du *CYP3A4* dans notre étude (130). Gerhold et coll. ont obtenu la même inductibilité avec la dexaméthasone et le phénobarbital mais chez le gène *CYP3A1* (175). Cependant, Madan et coll. ont observé que le *CYP3A4* n'était pas inductible par la β NF (176).

Notre étude démontre que l'expression génique du *CYP3A4* est fortement diminuée chez l'animal Ca-D- souffrant d'IRC ou d'IRA. Cette baisse importante d'expression suggère que le métabolisme des médicaments pourrait être fortement altéré en condition de

défaillance rénale. Leblond et coll. ont également montré que des animaux atteints d'IRC présentent une diminution de l'expression génique de *CYP3A1* et *CYP3A2* (161). Les mécanismes responsables de la sous-régulation des cytochromes P450 hépatiques en insuffisance rénale ne sont pas connus. De nombreuses hypothèses ont été émises à ce propos comme l'altération de la synthèse protéique (145,177), la présence de médiateurs urémiques sériques responsables de l'inhibition des P450 hépatiques (152), ou l'action de cytokines comme l'IL-6 dont les niveaux sont augmentés par l'inflammation (154,155).

L'expression génique du *CYP3A4* est peu influencée par l'administration de doses aiguës de vitamine D₃ administrées chez nos animaux Ca-D-. Cependant, Schmedlin-Ren et coll. ont suggéré pour la première fois l'implication du VDR dans l'expression génique du *CYP3A4* (138). Drocourt et coll. ont par la suite montré que le VDR activé par son ligand soit, la 1,25(OH)₂D₃, induit l'expression génique du *CYP3A4* dans des hépatocytes humains (139). En outre, nous montrons une augmentation significative de l'expression génique du VDR chez des animaux *NxBi* et *Nx5/6*. Dans l'hypothèse d'une synthèse hépatique de la 1,25(OH)₂D₃ à partir de la D₃ administrée et bioactivée dans le foie, le fait que la D₃ n'a pas eu d'effet sur l'expression génique pourrait être expliqué par une interférence des voies de signalisation comme celle du CYP3A4-VDR avec celle du métabolisme de la vitamine D hépatique via la voie CYP27B1-VDR. D'autre part, il faut faire valoir que 1) la vitamine D₃ a été administrée et non la 1,25(OH)₂D₃ et ce, afin de vérifier les concentrations sériques de 25OHD₃ et de 1,25(OH)₂D₃ 2), Le délai est-il trop court (injection I.V, 5 heures avant sacrifice) pour observer un effet après une administration de vitamine D₃? Une étude ultérieure devra donc vérifier a) l'effet de la 1,25(OH)₂D₃ elle-même ainsi que b) l'effet protecteur de la vitamine D₃ ou de la 1,25(OH)₂D₃ sur la prévention de la baisse du *CYP3A4* en IRA ou en IRC.

Outre que l'IR ait un effet direct sur l'expression génique du *CYP3A4*, nous nous sommes également intéressés à l'impact de l'insuffisance rénale sur les expressions géniques des *CYP27A1* et *CYP27B1* hépatiques ainsi que celle du *CYP27B1* rénal. Notre étude indique qu'en condition de base, l'IRA augmente le *CYP27A1*. De plus, l'impact de cette augmentation se vérifie par une augmentation significative des concentrations

sériques de 25OHD₃ suite à l'administration d'une dose supra-physiologique unique de vitamine D₃ par voie intra-veineuse. Fait intéressant, l'augmentation de 25OHD₃ circulante, suite à l'administration de vitamine D₃, est plus élevée chez les animaux en IR (aiguë et chronique) que chez l'animal témoin. Cette observation pourrait s'expliquer par l'augmentation en activité de la D₃-25-hydroxylase, suite à l'augmentation de l'expression génique du *CYP27A1*.

L'expression génique du *CYP27A1* ne semble pas être affectée par une administration de D₃, et par conséquent, après formation endogène de 1,25(OH)₂D₃, comparée à celle en condition de base induite par l'IRA ou l'IRC. Cependant, Théodoropoulos et coll. ont déjà montré, chez le rat normal, que la 1,25(OH)₂D₃ diminue l'expression génique du *CYP27A1* hépatique et ce par un mécanisme transcriptionnel (23). D'autre part, ces mêmes auteurs ont évalué la demi-vie de l'ARNm du *CYP27A1* à environ 12 heures. Dans le cas de notre étude, le délai (5 heures) est trop court pour observer un effet de la 1,25(OH)₂D₃ endogène, produite par la vitamine D₃ administrée, sur l'expression génique du *CYP27A1* hépatique.

De nombreux organes autres que le rein expriment le CYP27B1 comme le foie, la peau et le poumon, mais leur contribution à la synthèse et à la sécrétion systémique de l'hormone n'a jusqu'ici pas été élucidée. Hollis a été le premier à montrer la présence, chez le porc du CYP27B1 dans les fractions mitochondriales et microsomales du foie (178). De plus, Negrea et coll. ont par la suite, montré l'existence d'une synthèse hépatique de la 1,25(OH)₂D₃ dans les microsomes hépatiques chez le rat (105). Il devient donc pertinent de connaître la contribution actuelle du foie dans la production de la 1,25(OH)₂D₃ dans l'homéostasie de la vitamine D dans des conditions normales et dans des conditions d'insuffisance rénale. L'IRA ou l'IRC n'a pas d'effet significatif sur l'expression du gène codant pour le *CYP27B1* hépatique. De plus, l'évaluation de son niveau d'expression dans la portion de rein restant, 5 semaines après une néphrectomie au 5/6, indique que son niveau d'expression n'est pas influencée par l'IRC. Cependant, Takemoto et coll. ont observé, chez le rat normal atteint d'une insuffisance rénale modérée, une augmentation dans le temps de l'expression génique du *CYP27B1* rénal (85). Notons, toutefois, que les rats utilisés pour notre étude, sont hypocalcémiques et carencés en vitamine D. Cette condition mène à une expression maximale du *CYP27B1*

qui est stimulée à la fois par l'hypocalcémie et l'hyperparathyroïdie secondaire. L'effet d'une administration d'une dose aiguë de D_3 , 5 heures avant le sacrifice, semble induire l'expression génique du *CYP27B1* chez les animaux souffrant d'IRA et d'IRC. Toutefois, nos données montrent que les animaux atteints d'IRA et les animaux atteints d'IRC après avoir subi l'exérèse de 1/6 de la masse rénale restante, ont une production significativement plus augmentée de l'ARNm du *CYP27B1* que les animaux témoins et les animaux Nx5/6 après administration de vitamine D_3 . Ces résultats suggèrent que l'exposition à la vitamine D_3 a un effet positif sur les niveaux des ARNm hépatiques du *CYP27B1*. Nos résultats suggèrent, également, que la présence d'une partie fonctionnelle de rein semble inhiber l'induction de l'expression génique du *CYP27B1* hépatique.

Tel qu'attendu, l'ablation des deux reins a mené à une baisse presque totale de la réponse à la vitamine D_3 , avec une augmentation seulement modeste de la production de $1,25(OH)_2D_3$ malgré une augmentation très significative du substrat, la $25OHD_3$. Malgré tout, cette augmentation modeste de la production de $1,25(OH)_2D_3$ chez des animaux bi-néphrectomisés administrés en vitamine D_3 , est significative (augmentation de 34 à 81pmol.L^{-1}) comparativement à des animaux NxBi ayant reçu le véhicule. Cette supplémentation en D_3 permet même de rétablir les concentrations sériques de $1,25(OH)_2D_3$ à des niveaux considérés physiologiques puisque ces derniers se situent entre 40 et 150pmol.L^{-1} . En absence de la masse rénale fonctionnelle, cette augmentation des concentrations sériques suggère que la $1,25(OH)_2D_3$ nouvellement formée, provient d'une synthèse extrarénale de l'hormone en présence de concentrations élevées de $25OHD_3$, d'autant plus que la demi-vie de l'hormone dans l'organisme n'est que de 4 à 8 heures (24). D'autre part, les animaux atteints d'IRC voient leurs concentrations de $1,25(OH)_2D_3$ s'élever de 63 à 1038pmol.L^{-1} comparativement aux concentrations observées chez les animaux témoins. Cette observation suggère, en plus de la production de la $1,25(OH)_2D_3$ par 1/6 de la masse restante, la présence de la production de l'hormone par des sites extra-rénaux. En effet, il a déjà été rapporté que la 1α -hydroxylase est présente dans de nombreux sites extra-rénaux (section 3.3) et comme nous l'avons montré dans notre laboratoire, dans la peau et le poumon (179). Toutefois, la participation de la portion du rein restant est bien illustrée, par l'abolition de l'augmentation des concentrations observées en IRC par l'ablation du rein restant chez

les animaux Nx5/6 et ce, malgré une augmentation importante de l'expression du *CYP27B1* hépatique.

Afin d'évaluer la contribution extra-rénale dans la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en insuffisance rénale, la contribution du foie a été évaluée en absence ou quasi-absence de masse rénale fonctionnelle. L'hépatectomie au 2/3 ou à 90% (165) influence significativement les concentrations sériques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. En effet, l'hépatectomie au 2/3 réduit de 3 fois la concentration de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ alors que l'hépatectomie à 90% la réduit de 8 fois. De plus, la sur-imposition d'une néphrectomie bilatérale à l'hépatectomie 2/3 ou à 90% abolit complètement l'élévation modeste observés chez les animaux bi-néphrectomisés alors qu'une hépatectomie au 2/3 la réduit de 3 à 4 fois chez l'animal néphrectomisés au 5/6. Tous ces résultats appuient l'hypothèse de la participation du foie dans la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou d'une influence négative de l'hépatectomie sur la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ par le rein, du moins chez le rat Ca-D- et souffrant d'hyperparathyroïdie secondaire. Outre la participation du foie dans la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, celui-ci peut également jouer un rôle significatif dans la clairance de l'hormone. D'autre part, l'hépatectomie au 2/3 ou à 90% diminue la capacité du foie à hydroxyler en C-25 la vitamine D_3 via l'enzyme *CYP27A1*. Malgré une hépatectomie au 2/3, des animaux atteints d'IRC ou d'IRA administrés en vitamine D_3 , synthétisent, quoique de façon diminuée, la vitamine D_3 en 25-hydroxyvitamine D_3 comme nous le démontrent les concentrations moyennes sériques de 25OHD_3 sériques chez ces animaux. De plus, Dubé et coll. ont démontré qu'une hépatectomie partielle n'avait pas d'incidence sur l'activation de la vitamine D_3 et que la séquestration cellulaire de la D_3 dans les hépatocytes, n'était pas perturbée chez des rats hépatectomisés au 2/3 (180). De plus, Theodoropoulos et coll. ont montré qu'il existait d'autres sites tels que l'intestin capables d'activer la vitamine D_3 en 25-hydroxyvitamine D_3 (19). En outre, les concentrations physiologiques de 25OHD_3 se situent chez de nombreux mammifères, entre 50 et 125 nmol.L^{-1} et la 25OHD_3 se retrouve dans la circulation systémique à des concentrations 500 à 1000 fois supérieures à celles de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Ainsi, les hépatectomies partielles (2/3 ou 90%) qui ont été pratiquées chez les animaux atteints d'IRA ou d'IRC, suggèrent que le foie joue un rôle important dans l'homéostasie de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

De nombreuses hypothèses peuvent être émises quant à l'effet d'une hépatectomie partielle sur les concentrations diminuées de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ comme 1) l'augmentation de la clairance métabolique via la sur-expression de la 24-hydroxylase (CYP24) ; 2) la diminution du substrat soit la 25OHD_3 , or notre étude démontre que ce n'est pas le cas ; 3) une clairance hépatique de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 4) une clairance rénale or il semblerait que ce n'est pas possible car nous observons que l'effet de l'hépatectomie partielle est présent non seulement en IRA et IRC mais également chez l'animal normal ; 5) l'injection d'un nutriment comme la vitamine D_3 peut exercer des changements homéostatiques sur les concentrations sériques de calcium et de phosphore mais également sur l'hormone de croissance ; et 6) l'augmentation des fragments carboxy-terminaux de la PTH (10,181,182). Il est bien documenté que la PTH est extraite par le foie et le rein (183-186) et fait intéressant, une étude préliminaire de notre laboratoire (résultats non montrés) a montré qu'une hépatectomie partielle augmentait de 100% les concentrations de parathormone 5 heures après l'injection d'une dose aiguë de vitamine D_3 à des animaux Ca-D-. Il est postulé qu'en présence d'une fonction rénale altérée, la réduction importante de la masse hépatique mène à une élévation significative des fragments carboxy-terminaux, lesquels sont décrits comme des toxines de l'insuffisance rénale. L'augmentation de ces toxines urémiques entraîne une baisse relative du ratio de la PTH intact/fragments carboxy-terminaux, qui pourra contribuer à la baisse de l'effet tropique de la PTH intact sur l'expression du CYP27B1 rénal. Une autre étude préliminaire effectuée par notre laboratoire (résultats non montrés) indique que l'administration de certains fragments carboxy-terminaux de la PTH inhibe l'expression du CYP27B1 rénal.

Nous postulons que cette capacité de synthèse de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hépatique s'amorce lorsque la fonction rénale est fortement diminuée. Cette hypothèse repose sur les résultats obtenus au niveau de l'expression génique du CYP27B1. En effet, ce dernier est fortement induit en IRA suite à l'administration de vitamine D_3 ou en IRC lorsque les animaux ont subi l'exérèse du 1/6 de la masse rénale restante. L'IRC via une néphrectomie au 5/6 est donc un bon modèle animal d'IRC. Nos résultats indiquent que le 1/6 de masse rénale restante contribue à la synthèse systémique de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chez le rat. Nous avançons l'hypothèse que le foie possède la capacité de synthèse extra-

rénale de l'hormone en insuffisance rénale. Certes, la capacité importante du rein à synthétiser de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, chez le modèle animal d'IRC, semble plus importante que prévue mais la capacité du foie dans la synthèse extra-rénale de l'hormone est faible, mais non négligeable notamment chez des animaux avec une absence totale de la masse rénale (NxBi).

Takeyama et coll. et Gascon-Barre et coll. ont montré que la régulation du gène du *CYP27B1* est dépendante du VDR (29,187). Le foie normal chez le rat possède une faible concentration du récepteur nucléaire à la vitamine D (188). Cependant, il a été rapporté que le VDR est inductible dans le foie. En effet, les oestrogènes induisent l'apparition du récepteur dans le foie de rats mâles castrés (189). Chez l'animal Ca-D-, nous montrons que l'IRC et l'IRA induisent le *VDR* hépatique. Ces résultats sont en concordance avec des études effectuées dans notre laboratoire chez des animaux normaux. En effet, nous avons montré que l'expression génique du *VDR* est augmentée chez des rats normaux *NxBi* et que l'administration de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ potentialise l'effet de la néphrectomie bi-latérale (résultats non-montrés). Paradoxalement, nous constatons que l'administration de D_3 semble sous-réguler le gène du *VDR*. Cependant, nous devons relativiser ce résultat car le *VDR* est généralement exprimé à des concentrations relativement faibles *in vivo*. De plus, nous avons constaté par des études préliminaires effectuées dans notre laboratoire que l'expression génique du *VDR* chez les animaux Ca-D- était relativement plus élevée comparativement aux résultats observés chez des animaux normaux. Toutes ces observations suggèrent la nécessité d'une co-expression *VDR-CYP27B1* dans la régulation de la synthèse hépatique de la 1α -hydroxylase chez l'animal en insuffisance rénale. Ainsi, en insuffisance rénale, l'expression génique augmentée du *VDR* et du *CYP27B1* hépatique indique que le foie active les mécanismes moléculaires nécessaires à une synthèse hépatique de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

10. CONCLUSION

L'influence de l'insuffisance rénale affecte l'expression des cytochromes P450 responsables du métabolisme des médicaments et de la vitamine D. En effet, nous avons observé une diminution significative de l'expression génique du *CYP3A4* chez des animaux atteints d'insuffisance rénale aiguë ou chronique. Cette diminution du *CYP3A4* contribue, en partie, à notre compréhension de la diminution du métabolisme des médicaments chez des malades souffrant d'insuffisance rénale. Par ailleurs, le système endocrinien de la vitamine D est également perturbé en insuffisance rénale. En effet, l'expression génique du *CYP27A1* hépatique est augmentée en IR ; celle du *CYP27B1* rénal n'est pas affectée par l'IRC. Toutefois, les conditions d'hypocalcémie et de déficience en vitamine D appliquées aux animaux mènent à une expression maximale du *CYP27B1*, stimulés par l'hypocalcémie et l'hyperparathyroïdie secondaire. Toutes ces observations démontrent que le processus enzymatique de bioactivation de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ est altéré en raison de la baisse de la masse rénale. Par ailleurs, nous avons constaté l'effet bénéfique d'une dose aiguë de vitamine D_3 sur les concentrations sériques de 25OHD_3 et de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, même chez des animaux en insuffisance rénale. La sur-imposition d'une hépatectomie partielle à l'insuffisance rénale abolit complètement l'élévation modeste de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ notamment chez les animaux bi-néphrectomisés. Cette dernière observation appuie l'hypothèse de la participation du foie dans la production de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou bien du facteur limitant d'une réduction hépatique sur la production systémique de l'hormone. Il est toutefois possible que la production hépatique de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ne soit significative qu'après l'expression de la protéine, l'évaluation de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, ayant été évaluée qu'à 2 heures et 5 heures après l'administration de vitamine D_3 . Cependant, nous avons également mis en évidence que le foie était capable de sur-exprimer les gènes du *CYP27A1*, *CYP27B1* et du *VDR* indiquant que la perturbation de l'expression des gènes liée au métabolisme de la vitamine D, résulte d'une modulation de la synthèse de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en insuffisance rénale et plus spécialement lors d'une absence totale de la masse rénale. Nous avons clairement montré, qu'en insuffisance rénale, le foie élabore les mécanismes cellulaires nécessaires à une synthèse extra-rénale de l'hormone et que cette synthèse est dépendante de la sur-expression du gène *CYP27B1*. Cependant, nous ne savons pas, à ce

jour si le maintien de cette synthèse de l'hormone repose uniquement sur la production hépatique de la vitamine D. En effet, d'autres tissus comme la peau et le poumon, ont montré qu'ils possèdent les enzymes capables de bioactiver la vitamine D mais leur contribution dans la synthèse systémique de l'hormone n'a pas, à ce jour, été élucidée.

CHAPITRE V

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

11. RÉFÉRENCES

1. **Ordre professionnels des diététistes du Québec.** Insuffisance rénale aiguë. Dans : *Manuel de nutrition clinique-OPDQ*, Tome 1. Chapitre 9.1, pages 1-3. 1998.
2. **Leblanc M., et Gagné E.R.** Insuffisance rénale aiguë. Dans : *Physiopathologie des maladies du rein et des voies urinaires* par Serge Quérin et Luc Valiquette, édité par EDISEM Maloine, 2000. Chap 9, p101 à 112.
3. **Ordre professionnel des diététistes du Québec.** Insuffisance rénale chronique. Dans : *Manuel de nutrition clinique-OPDQ*, Tome 1. Chapitre 9.2, pages 1-9. 1998.
4. **Nash K., Hafeez A., Hou S.** Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis.* **39** : 930-936, 2002.
5. **United States Renal Data System.** *USRDS 1999. Annual Data Report.* Bethesda, MD : National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 1999.
6. **Pennell J.P.** Optimizing medical management of patients with pre-end-stage renal disease. *Am J Med.* **111**(7) : 559-68, 2001.
7. **Mailloux L.U., Levey AS.** Hypertension in patients with chronic renal disease. *Am J Kidney Dis.* **32**(Suppl 3) : S120-S141, 1998.
8. **Charbonneau R., et Quérin S.** Insuffisance rénale chronique. Dans : *Physiopathologie des maladies du rein et des voies urinaires* par Serge Quérin et Luc Valiquette, édité par EDISEM Maloine. Chap 10, p113 à 124, 2000.
9. **May R.C., and Mitch W.E.** "Pathophysiology of Uremia" in : Brenner and Rector : *The Kidney*, fifth edition. Edited by Barry M. Brenner, M.D, WB Saunders Company, Philadelphia. chap 49, p2148-2169, 1996.

10. **Brossard J.H., Yamamoto L.N., D'Amour P.** Parathyroid hormone metabolites in renal failure: bioactivity and clinical implications. *Semin Dial.* **15**(3) : 196-201, 2002.
11. **St-Arnaud R., Glorieux F.H.** 24,25-Dihydroxyvitamin D, active metabolite or inactive catabolite? *Endocrinology.* **139**(8) : 3371-3374, 1998.
12. **Holick M.F., Frommer J.E., McNeill S.C., Richtand N.M., Henley J.W., Potts J.T., Jr.** Photometabolism of 7-dehydrocholesterol to previtamin D3 in skin. *Biochem Biophys Res Commun.* **76**(1) : 107-114, 1977.
13. **Okano T.J., Yasumura M., Mizuno K., Kobayashi T.** Photochemical conversion of 7-dehydrocholesterol into vitamin D3 in rat skins. *Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* ; **23**(2) : 165-168, 1977.
14. **Hanewald, K.H., Rappoldt M.P., and Roborgh J.R.** The antirachitic activity of previtamin D3. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas Belg.* **80** : 1063-1069, 1961.
15. **Sutton A.L., MacDonald P.N.** Vitamin D: More Than a "Bone-a-Fide" Hormone. *Mol Endocrinol.* **17**(5) : 777-91, 2003.
16. **Nelson D.R., Koymans L., Kamataki T., Stegeman J.J., Feyereisen R., Waxman D.J., Waterman M.R., Gotoh O., Coon M.J., Estabrook R.W., Gunsalus I.C., Nebert D.W.** P450 superfamily : update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics.* **6**(1) : 1-42, 1996.
17. **Gascon-Barré M.** The Vitamin D 25-hydroxylase. In : Vitamin D edited by D., Feldman, F.H., Glorieux, and J.W., Pike. San Diego, CA : chap.4, p.41-55, 1997.

18. **Vlahcevic Z.R., Jairath S.K., Heuman D.M., Stravitz R.T., Hylemon P.B., Avadhani N.G., Pandak W.M.** Transcriptional regulation of hepatic sterol 27-hydroxylase by bile acids. *Am. J. Physiol.* **270**(4 Pt 1): G646-G652, 1996.
19. **Théodoropoulos C., Demers C., Mirshahi A., Gascon-Barré M.** 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) downregulates the rat intestinal vitamin D(3)-25-hydroxylase CYP27A. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **281**(2) : E315-325, 2001.
20. **Araya Z., Tang W., Wikvall K.** Hormonal regulation of the human sterol 27-hydroxylase gene CYP27A1. *Biochem. J.* **372**(Pt 2) : 529-534, 2003.
21. **Twisk J., Hoekman M.F., Lehmann E.M., Meijer P., Mager W.H., Princen H.M.** Insulin suppresses bile acid synthesis in cultured rat hepatocytes by down-regulation of cholesterol 7 alpha-hydroxylase and sterol 27-hydroxylase gene transcription. *Hepatology.* **21**(2) : 501-510, 1995.
22. **Axen E., Postlind H., Wikvall K.** Effects on CYP27 mRNA expression in rat kidney and liver by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3, a suppressor of renal 25-hydroxyvitamin D3 1 alpha-hydroxylase activity. *Bioch. Biophys. Res. Comm.* **215**(1) : 136-141, 1995.
23. **Theodoropoulos C., Demers C., Petit J.L., Gascon-Barre M.** High sensitivity of rat hepatic vitamin D3-25 hydroxylase CYP27A to 1,25-dihydroxyvitamin D3 administration. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **284**(1) : E138-147, 2003.
24. **Ronald L., Horst and Timothy A., Reinhardt.** Vitamin D Metabolism. In : *Vitamin D* edited by D. Feldman, F.H Glorieux and J.W. Pike. San Diego, CA : academic, 1997 chap.2, p.13-31.
25. **Holick M.F.** The cutaneous photosynthesis of previtamin D3: a unique photoendocrine system. *J. Invest. Dermat.* **77**(1) : 51-58, 1981.

26. **Stravitz R.T., Vlahcevic Z.R., Russell T.L., Heizer M.L., Avadhani N.G., Hylemon P.B.** Regulation of sterol 27-hydroxylase and an alternative pathway of bile acid biosynthesis in primary cultures of rat hepatocytes. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* **57**(5-6) : 337-347, 1996.
27. **Holick M.F., Schnoes H.K., DeLuca H.F., Suda T., Cousins R.J.** Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry.* **10**(14) : 2799-2804, 1971.
28. **Fu G.K., Lin D., Zhang M.Y., Bikle D.D., Shackleton C.H., Miller W.L., Portale A.A.** Cloning of human 25-hydroxyvitamin D-1 alpha-hydroxylase and mutations causing vitamin D-dependent rickets type 1. *Molec. Endocrinology.* **11**(13) : 1961-1970, 1997.
29. **Takeyama K., Kitanaka S., Sato T., Kobori M., Yanagisawa J., Kato S.** 25-Hydroxyvitamin D₃ 1alpha-hydroxylase and vitamin D synthesis. *Science.* **277**(5333) : 1827-1830, 1997.
30. **St-Arnaud R., Messerlian S., Moir J.M., Omdahl J.L., Glorieux F.H.** The 25-hydroxyvitamin D 1-alpha-hydroxylase gene maps to the pseudovitamin D-deficiency rickets (PDDR) disease locus. *Journal of Bone and Mineral Research.* **12**(10) : 1552-1559, 1997.
31. **Fraser D.R., Kodicek E.** Unique biosynthesis by kidney of a biological active vitamin D metabolite. *Nature.* **228**(273) : 764-766, 1970.
32. **Henry H.L., Midgett R.J., Norman A.W.** Regulation of 25-hydroxyvitamin D₃-1-hydroxylase in vivo. *J. Biol. Chem.* **249**(23) : 7584-7592, 1974.
33. **Warner M., Tenenhouse A.** Regulation of renal vitamin D hydroxylase activity in vitamin D deficient rats. *Can. J. Physiol.* **63**(8) : 978-982, 1985.

34. **Garabedian M., Holick M.F., Deluca H.F., Boyle I.T.** Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **69**(7) : 1673-1676, 1972.
35. **Haussler M.R., Baylink D.J., Hughes M.R., Brumbaugh P.F., Wergedal J.E., Shen F.H., Nielsen R.L., Counts S.J., Bursac K.M., McCain T.A.** The assay of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃: physiologic and pathologic modulation of circulating hormone levels. *Clin. Endocr.* **5**(suppl) : 151S-165S, 1976.
36. **Bland R., Walker E.A., Hughes S.V., Stewart P.M., Hewison M.** Constitutive expression of 25-hydroxyvitamin D₃-1alpha-hydroxylase in a transformed human proximal tubule cell line: evidence for direct regulation of vitamin D metabolism by calcium. *Endocrinology.* **140**(5) : 2027-34, 1999
37. **Hughes M.R., Brumbaugh P.F., Hussler M.R., Wergedal J.E., Baylink D.J.** Regulation of serum 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ by calcium and phosphate in the rat. *Science.* **190**(4214) : 578-580, 1975
38. **Tanaka Y., Deluca H.F.** The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch. Bioch. Biophys.* **154**(2) : 566-574, 1973
39. **Lee S.W., Russell J., Avioli L.V.** 25-hydroxycholecalciferol to 1,25 dihydroxycholecalciferol: conversion impaired by systemic metabolic acidosis. *Science* **195**(4282) : 994-996, 1977
40. **Wong M.S., Sriussadaporn S., Tembe V.A., Favus M.J.** Insulin-like growth factor I increases renal 1,25(OH)₂D₃ biosynthesis during low-P diet in adult rats. *Am. J. Physiol.* **272**(6 Pt 2) : F698-703, 1997.

41. **Burgos-Trinidad M., Brown A.J., DeLuca H.F.** Solubilization and reconstitution of chick renal mitochondrial 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase. *Biochemistry*. **25**(9): 2692-2696, 1986
42. **Knutson J.C., DeLuca H.F.** 25-Hydroxyvitamin D3-24-hydroxylase. Subcellular location and properties. *Biochemistry*. **13**(7) : 1543-1548, 1974.
43. **Makin G., Lohnes D., Byford V., Ray R., Jones G.** Target cell metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D3 to calcitroic acid. Evidence for a pathway in kidney and bone involving 24-oxidation. *Bioch. J.* **262**(1) : 173-180, 1989.
44. **Reddy G.S., Tserng K.Y.** Calcitroic acid, end product of renal metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D3 through C-24 oxidation pathway. *Biochemistry*. **28**(4) : 1763-1769, 1989.
45. **Ohyama Y., Okuda K.** Isolation and characterization of a cytochrome P-450 from rat kidney mitochondria that catalyzes the 24-hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D3. *JBC.* **266**(14) : 8690-8695, 1991.
46. **Ohyama Y., Noshiro M., Eggertsen G., Gotoh O., Kato Y., Bjorkhem I., Okuda K.** Structural characterization of the gene encoding rat 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase. *Biochemistry*. **32**(1) : 76-82, 1993.
47. **Kumar R.** Metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Physiol. Rev.* **64**(2) : 478-504, 1984.
48. **Omdahl J., and May B.** The 25-hydroxyvitamin D 24-Hydroxylase. In : *Vitamin D* edited by D. Feldman, F.H Glorieux and J.W. Pike. San Diego, CA : academic, 1997 chap.6, p.69-85.

49. **Haussler M.R., Norman A.W.** Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite. *Proc Natl. Acad. Sc. USA.* **62**(1) : 155-162, 1969.
50. **Evans R.M.** The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* **240**(4854) : 889-895, 1988.
51. **McDonnell D.P., Mangelsdorf D.J., Pike J.W., Haussler M.R., O'Malley B.W.** Molecular cloning of complementary DNA encoding the avian receptor for vitamin D. *Science.* **235**(4793) : 1214-1217, 1987.
52. **Baker A.R., McDonnell D.P., Hughes M., Crisp T.M., Mangelsdorf D.J., Haussler M.R., Pike J.W., Shine J., O'Malley B.W.** Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA.* **85**(10) : 3294-3298, 1988.
53. **Kamei Y., Kawada T., Fukuwatari T., Ono T., Kato S., Sugimoto E.** Cloning and sequencing of the gene encoding the mouse vitamin D receptor. *Gene.* **152**(2) : 281-282, 1995.
54. **Burmester J.K., Maeda N., DeLuca H.F.** Isolation and expression of rat 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA.* **85**(4) : 1005-1009, 1988.
55. **Brown A.J., Dusso A., Slatopolsky E.** Vitamin D. *Am. J. Physiol.* **277**(2 Pt 2) : F157-75, 1999.
56. **Akutsu N., Lin R., Bastien Y., Bestawros A., Enepekides D.J., Black M.J., White J.H.** Regulation of gene Expression by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and Its analog EB1089 under growth-inhibitory conditions in squamous carcinoma Cells. *Mol. Endocr.* **15**(7) : 1127-1139, 2001.

57. **Brumbaugh P.F. and Haussler M.R.** 1 Alpha,25-dihydroxycholecalciferol receptors in intestine. I. Association of 1 alpha,25-dihydroxycholecalciferol with intestinal mucosa chromatin. *JBC* . **249**(4) : 1251-1257, 1974.
58. **Mellon W.S. and DeLuca H.F.** An equilibrium and kinetic study of 1,25-dihydroxyvitamin D3 binding to chicken intestinal cytosol employing high specific activity 1,25-dehydroxy[3H-26, 27] vitamin D3. *Arch Biochem. Biophys.* **197**(1) : 90-95, 1979.
59. **Haussler M.R., Haussler C.A., Jurutka P.W., Thompson P.D., Hsieh J.C., Remus L.S., Selznick S.H., Whitfield G.K.** The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *Journal of Endocr.* **154** (Suppl) : S57-S73, 1997.
60. **Haussler M.R., Whitfield G.K., Haussler C.A., Hsieh J.C., Thompson P.D., Selznick S.H., Dominguez C.E., Jurutka P.W.** The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J. Bone . Min. Res.* **13**(3) : 325-349, 1998.
61. **Darwish H.M. and DeLuca H.F.** Analysis of binding of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor to positive and negative vitamin D response elements. *Arch. Biochem. Biophys.* **334**(2) : 223-234, 1996.
62. **Blanco J.C., Wang I.M., Tsai S.Y., Tsai M.J., O'Malley B.W. Jurutka P.W., Haussler M.R., Ozato K.** Transcription factor TFIIB and the vitamin D receptor cooperatively activate ligand-dependent transcription. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA.* **92**(5) : 1535-1539, 1995.
63. **Nykjaer A., Dragun D., Walther D., Vorum H., Jacobsen C., Herz J., Melsen F., Christensen E.I., Willnow T.E.** An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell.* **96**(4) : 507-515, 1999.

64. **Costa E.M. and Feldman D.** Homologous up-regulation of the 1,25 (OH)₂ vitamin D₃ receptor in rats. *Bioch. Biophys. Res. Comm.* **137(2)** : 742-747, 1986.
65. **Pols H.A., van Leeuwen J.P., Schilte J.P., Visser T.J., Birkenhager J.C.** Heterologous up-regulation of the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor by parathyroid hormone (PTH) and PTH-like peptide in osteoblast-like cells. *Biophys. Res. Comm.* **156(1)** : 588-594, 1988.
66. **Boyle I.T., Boyle I.T., Miravet L., Gray R.W., Holick M.F., Deluca H.F., Wasserman R.H.** The response of intestinal calcium transport to 25-hydroxy and 1,25-dihydroxy vitamin D in nephrectomized rats. *Adv. Exp. Med. Biol.* **249(3)** : 45-65, 1989.
67. **Wasserman R.H., Fullmer C.S.** Vitamin D and intestinal calcium transport: facts, speculations and hypotheses. *J Nutr.* 1995 Jul ; 125(7 Suppl) : 1971S-1979S.
68. **Wasserman R.H., Fullmer C.S.** On the molecular mechanism of intestinal calcium transport. *Adv. Exp. Med. Biol.* **249** : 45-65, 1989
69. **Wilz D.R., Gray R.W., Dominguez J.H., Lemann J., Jr.** Plasma 1,25-(OH)₂-vitamin D concentrations and net intestinal calcium, phosphate, and magnesium absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **32(10)** : 2052-2060, 1979.
70. **Raisz L.G., Trummel C.L., Holick M.F., DeLuca H.F.** 1,25-dihydroxy-cholecalciferol: a potent stimulator of bone resorption in tissue culture. *Science.* **175(23)** : 768-769, 1972.
71. **Stern P.H.** In : *Vitamin D* edited by D. Feldman, F.H. Glorieux and J.W. Pike. San Diego, CA : academic, 1997 chap.22, p.341-352.

72. **Brenza H.L., Kimmel-Jehan C., Jehan F., Shinki T., Wakino S., Anazawa H., Suda T., DeLuca H.F.** Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase gene promoter. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA.* **95**(4) : 1387-1391, 1998.
73. **Cantley L.K., Russell J., Lettieri D., Sherwood L.M.** 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ suppresses parathyroid hormone secretion from bovine parathyroid cells in tissue culture. *Endocrinology.* **117**(5) : 2114-2119, 1985.
74. **Manolagas S.C., Hustmyer F.G., Yu X.P.** Immunomodulating properties of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Kydney Int.* **29** : S9-S16, 1990.
75. **Brown A.J.** Vitamin D analogues. *Am. J. Kid. Dis.* **32**(2 Suppl 2) : S25-S39, 1998.
76. **Norman A.W.** Rapid Biological Responses Mediated by 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃. In : *Vitamin D* edited by D. Feldman, F.H Glorieux and J.W. Pike. San Diego, CA : academic, 1997 chap.15, p.233-256.
77. **Barsony J., Marx S.J.** Rapid accumulation of cyclic GMP near activated vitamin D receptors. *Proc. Natl. Acad. Sc.* **88**(4) : 1436-1440, 1991.
78. **Slatoposky E.S., Brown A.J.** Vitamin D and Renal Failure. In : *Vitamin D* edited by D. Feldman, F.H Glorieux and J.W. Pike. San Diego, CA : academic, 1997 chap.52, p.849-865.
79. **Szabo A., Ritz E., Schmidt-Gayk H., Reichel H.** Abnormal expression and regulation of vitamin D receptor in experimental uremia. *Nephron.* **73**(4) : 619-28, 1996.
80. **Shvil Y., Naveh-Many T., Barach P., Silver J.** Regulation of parathyroid cell gene expression in experimental uremia. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1990 : **1**(1) : 99-104.

81. **Denda M., Finch J., Brown A.J., Nishii Y., Kubodera N., Slatopolsky E.** 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and 22-oxacalcitriol prevent the decrease in vitamin D receptor content in the parathyroid glands of uremic rats. *Kidney Int.* **50**(1) : 34-39, 1996.
82. **Sawaya B.P., Koszewski N.J., Qi Q., Langub M.C., Monier-Faugere M.C., Malluche H.H.** Secondary hyperparathyroidism and vitamin D receptor binding to vitamin D response elements in rats with incipient renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* **8**(2) : 271-8, 1997.
83. **Sela-Brown A., Russell J., Koszewski N.J., Michalak M., Naveh-Many T., Silver J.** Calreticulin inhibits vitamin D's action on the PTH gene in vitro and may prevent vitamin D's effect in vivo in hypocalcemic rats. *Mol. Endocr.* **12**(8) : 1193-1200, 1998.
84. **Patel S.R., Ke H.Q., Vanholder R., Koenig R.J., Hsu C.H.** Inhibition of calcitriol receptor binding to vitamin D response elements by uremic toxins. *J. Clin. Invest.* **96**(1) : 50-59, 1995.
85. **Takemoto F., Shinki T., Yokoyama K., Inokami T., Hara S., Yamada A., Kurokawa K., Uchida S.** Gene expression of vitamin D hydroxylase and megalin in the remnant kidney of nephrectomized rats. *Kidney Int.* **64**(2) : 414-420, 2003.
86. **Justin Silver and Tally Naveh-Many.** Vitamin D and the Parathyroid glands . In : *Vitamin D* edited by D. Feldman, F.H Glorieux and J.W. Pike. San Diego, CA : academic, 1997 chap.23, p.353-367.
87. **Barbour G.L., Coburn J.W., Slatopolsky E., Norman A.W., Horst R.L.** Hypercalcemia in an anephric patient with sarcoidosis: evidence for extrarenal generation of 1,25-dihydroxyvitamin D. *N. England J. Med.* **305**(8) : 440-443, 1981.

88. **Taylor R.L., Lynch H.J., Jr., Wysor W.G., Jr.** Seasonal influence of sunlight on the hypercalcemia of sarcoidosis. *Am. J. Med.* **34** : 221-227, 1963.
89. **Papapoulos S.E., Clemens T.L., Fraher L.J., Lewin I.G., Sandler L.M., O'Riordan J.L.** 1,25-dihydroxycholecalciferol in the pathogenesis of the hypercalcaemia of sarcoidosis. *Lancet.* **1**(8117) : 627-630, 1979.
90. **Zehnder D., Bland R., Williams M.C., McNinch R.W., Howie A.J., Stewart P.M., Hewison M.** Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin d(3)-1 alpha-hydroxylase. *J. Clin. End. and Metab.* **86**(2) : 888-894, 2001.
91. **Tanaka Y., Halloran B., Schnoes H.K., DeLuca H.F.** In vitro production of 1,25-dihydroxyvitamin D3 by rat placental tissue. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA.* **76**(10) : 5033-5035, 1979.
92. **Gray T.K., Lester G.E., Lorenc R.S.** Evidence for extra-renal 1 alpha-hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D3 in pregnancy. *Science.* **204**(4399) : 1311-1313, 1979.
93. **Mawer E.B., Hayes M.E., Still P.E., Davies M., Lumb G.A., Palit J., Holt P.J.** Evidence for nonrenal synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D in patients with inflammatory arthritis. *J. Bone Min. Res.* **6**(7) : 733-739, 1991.
94. **Bell N.H., Shary J., Shaw S., Turner R.T.** Hypercalcemia associated with increased circulating 1,25 dihydroxyvitamin D in a patient with pulmonary tuberculosis. *Calcif. Tissue Int.* **37**(6) : 588-591, 1985.
95. **Mercier R.J., Thompson J.M., Harman G.S., Messerschmidt G.L.** Recurrent hypercalcemia and elevated 1,25-dihydroxyvitamin D levels in Hodgkin's disease. *Am. J. Med.* **84**(1) : 165-168, 1988.

96. **Breslau N.A., McGuire J.L., Zerwekh J.E., Frenkel E.P., Pak C.Y.** Hypercalcemia associated with increased serum calcitriol levels in three patients with lymphoma. *Annu. Intern. Med.* **100**(1) : 1-7, 1984.
97. **Dusso A.S., Finch J., Brown A., Ritter C., Delmez J., Schreiner G., Slatopolsky E.** Extrarenal production of calcitriol in normal and uremic humans. *J. Clin. Endocr. Metab.* **72**(1) : 157-164, 1991.
98. **Dusso A., Lopez-Hilker S., Rapp N., Slatopolsky E.** Extra-renal production of calcitriol in chronic renal failure. *Kidney Int.* **34**(3) : 368-375, 1988.
99. **Hayes M.E., O'Donoghue D.J., Ballardie F.W., Mawer E.B.** Peritonitis induces the synthesis of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ in macrophages from CAPD patients. *FEBS Lett.* **220**(2) : 307-310, 1987.
100. **Xie Z., Munson S.J., Huang N., Portale A.A., Miller W.L., Bikle D.D.** The mechanism of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ autoregulation in keratinocytes. *J. Biol. Chem.* **277**(40) : 36987-90, 2002.
101. **Schwartz G.G., Whitlatch L.W., Chen T.C., Lokeshwar B.L., Holick M.F.** Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D₃ from 25-hydroxyvitamin D₃. *Cancer Epidemio. Biomarkers Prev.* **7**(5) : 391-395, 1998.
102. **Howard G.A., Turner R.T., Sherrard D.J., Baylink D.J.** Human bone cells in culture metabolize 25-hydroxyvitamin D₃ to 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and 24,25-dihydroxyvitamin D₃. *JBC.* **256**(15) : 7738-7740, 1981.
103. **Cadranel J., Garabedian M., Milleron B., Guillozo H., Akoun G., Hance A.J.** 1,25(OH)₂D₂ production by T lymphocytes and alveolar macrophages recovered by lavage from normocalcemic patients with tuberculosis. *J. Clin. Invest.* **85**(5) : 1588-1593, 1990.

104. **Adams J.S., Gacad M.A.** Characterization of 1 alpha-hydroxylation of vitamin D3 sterols by cultured alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. *Exp Med.* **161**(4) : 755-765, 1985.
105. **Negrea L.A., Slatopolsky E., Dusso A.S.** 1,25-Dihydroxyvitamin D synthesis in rat liver microsomes. *Horm. Metab. Res.* **27**(10) : 461-464, 1995.
106. **Llach F., Yudd M.** Pathogenic, clinical, and therapeutic aspects of secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* **32**(2suppl. 2) : S3-S12, 1998.
107. **Coburn J.W., Elangovan L.** Prevention of metabolic bone disease in the pre-end-stage renal disease setting. *J Am Soc Nephrol.* **9**(suppl 4) : S71-S77, 1998.
108. **Pennell J.P.** Optimizing medical management of patients with pre-end-stage renal disease. *Am J Med.* **111**(7) : 559-68, 2001.
109. **Fukugawa M., and Kitaoka M., and Kurokawa K.** Renal Failure and Hyperparathyroidism. In : *Vitamin D* edited by D. Feldman, F.H Glorieux and J.W. Pike. San Diego, CA : academic, 1997 chap.73, p.1227-1229.
110. **Takeyama K., Masuhiro Y., Fuse H., Endoh H., Murayama A., Kitanaka S., Suzawa M., Yanagisawa J., Kato S.** Selective interaction of vitamin D receptor with transcriptional coactivators by a vitamin D analog. *Mol. Cell. Biol.* **19**(2) : 1049-1055, 1999.
111. **Jurutka P.W., Whitfield G.K., Hsieh J.C., Thompson P.D., Haussler C.A., Haussler M.R.** Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Rev. Endoc. Metab. Disor.* **2**(2) : 203-216, 2001.

112. **Rachez C., Freedman L.P.** Mediator complexes and transcription. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **13**(3) : 274-280, 2001.
113. **Rachez C., Freedman L.P.** Mechanisms of gene regulation by vitamin D(3) receptor: a network of coactivator interactions. *Gene.* **246**(1-2) : 9-21, 2000.
114. **Kanis J.A.** Vitamin D analogs: from renal bone disease to osteoporosis. *Calcif. Tissue Int.* **60**(1) : 106-110, 1995.
115. **Drueke T.B.** Control of secondary hyperparathyroidism by vitamin D derivatives. *Am. J. Kidney Dis.* **37**(1) : S58-S61, 2001
116. **Fournier A., Moriniere P.H., Oprisiu R., Yverneau-Hardy P., Westeel P.F., Mazouz H., el Esper N., Ghazali A., Boudailliez B.** 1-alpha-Hydroxyvitamin D3 derivatives in the treatment of renal bone diseases: justification and optimal modalities of administration. *Nephron.* **71**(3) : 254-283, 1995.
117. **Tan A.U., Jr., Levine B.S., Mazess R.B., Kylo D.M., Bishop C.W., Knutson J.C., Kleinman K.S., Coburn J.W.** Effective suppression of parathyroid hormone by 1 alpha-hydroxy-vitamin D2 in hemodialysis patients with moderate to severe secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* **51**(1) : 317-323, 1997.
118. **Llach F., Keshav G., Goldblat M.V., Lindberg J.S., Sadler R., Delmez J., Arruda J., Lau A., Slatopolsky E.** Suppression of parathyroid hormone secretion in hemodialysis patients by a novel vitamin D analogue: 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D2. *Am. J. Kidney Dis.* **32**(2 suppl 2) : S48-S54, 1998.
119. **Fraza J.M., Martins P. Coburn J.W.** The calcimimetic agents : perspectives for treatment. *Kidney. Int. Suppl.* **80** : 149-54, 2002.

120. **Drueke T.B.** Calcimimetics versus vitamin D: what are their relative roles? *Blood Purif.* **22**(1) : 38-43, 2004
121. **Klingberg M.** Pigments of rats liver microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.* **75**(2) : 376-86, 1958.
122. **Honkakoski P., Negishi M.** Regulation of cytochrome P450 (CYP) genes by nuclear receptors. *Bioch. J.* **347**(Pt 2) : 321-37, 2000.
123. **Nelson D.R.** Cytochrome P450 and the individuality of species. *Arch Biochem Biophys.* **369**(1) : 1-10, 1999.
124. **Nelson D.R., Kamataki T., Waxman D.J., Guengerich F.P., Estabrook R.W., Feyereisen R., Gonzalez F.J., Coon M.J., Gunsalus I.C., Gotoh O., et al.** The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell. Biol.* **12**(1) : 1-51, 1993.
125. **Goodwin B., Redinbo M.R., Kliewer S.A.** Regulation of cyp3a gene transcription by the pregnane x receptor. *Annu. Rev. Pharm. Toxic.* **42** : 1-23, 2002.
126. **Araya Z., Wikvall K.** 6alpha-hydroxylation of taurochenodeoxycholic acid and lithocholic acid by CYP3A4 in human liver microsomes. *Bioch. Biophys. Acta.* **1438**(1) : 47-54, 1999.
127. **Xie W., Radominska-Pandya A., Shi Y., Simon C.M., Nelson M.C., Ong E.S., Waxman D.J., Evans R.M.** An essential role for nuclear receptors SXR/PXR in detoxification of cholestatic bile acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**(6) : 3375-80, 2001

128. **Kliewer S.A., Goodwin B., Willson T.M.** The nuclear pregnane X receptor : a key regulator of xenobiotic metabolism. *Endocr. Reviews.* **23**(5) : 687-702, 2002.
129. **Debri K., Boobis A.R., Davies D.S., Edwards R.J.** Distribution and induction of CYP3A1 and CYP3A2 in rat liver and extrahepatic tissues. *Biochem Pharmacol.* **50**(12) : 2047-56, 1995.
130. **Mahnke A., Strotkamp D., Roos P.H., Hanstein W.G., Chabot G.G., Nef P.** Expression and inducibility of cytochrome P450 3A9 (CYP3A9) and other members of the CYP3A subfamily in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* **337**(1) : 62-8, 1997.
131. **Kliewer S.A., Moore J.T., Wade L., Staudinger J.L., Watson M.A., Jones S.A., McKee D.D., Oliver B.B., Willson T.M., Zetterstrom R.H., Perlmann T., Lehmann J.M.** An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway. *Cell.* **92**(1) : 73-82, 1998.
132. **Zhang H., LeCulyse E., Liu L., Hu M., Matoney L., Zhu W., Yan B.** Rat pregnane X receptor: molecular cloning, tissue distribution, and xenobiotic regulation. *Arch Bioch. Biophys.* **368**(1) : 14-22, 1999.
133. **Savas U., Wester M.R., Griffin K.J., Johnson E.F.** Rabbit pregnane X receptor is activated by rifampicin. *Drug Metab. Disp.* **28**(5) : 529-537, 2000.
134. **Lehmann J.M., McKee D.D., Watson M.A., Willson T.M., Moore J.T., Kliewer S.A.** The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions. *J. Clin. Invest.* **102**(5) : 1016-1023, 1998.
135. **Blumberg B., Sabbagh W., Jr., Juguilon H., Bolado J., Jr., van Meter C.M., Ong E.S., Evans R.M.** SXR, a novel steroid and xenobiotic-sensing nuclear receptor. *Genes Dev.* **12**(20) : 3195-3205, 1998.

136. **Bertilsson G., Heidrich J., Svensson K., Asman M., Jendeberg L., Sydow-Backman M., Ohlsson R., Postlind H., Blomquist P., Berkenstam A.** Identification of a human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **95**(21) : 12208-12213, 1998.
137. **Lecluyse E.L.** Pregnane X receptor: molecular basis for species differences in CYP3A induction by xenobiotics. *Chemico-Biological Interactions.* **134**(3) : 283-289, 2001.
138. **Schmiedlin-Ren P., Thummel K.E., Fisher J.M., Paine M.F., Watkins P.B.** Induction of CYP3A4 by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 is human cell line-specific and is unlikely to involve pregnane X receptor. *Drug. Metab. Disp.* **29**(11) : 1446-1453, 2001.
139. **Drocourt L., Ourlin J.C., Pascussi J.M., Maurel P., Vilarem M.J.** Expression of CYP3A4, CYP2B6, and CYP2C9 is regulated by the vitamin D receptor pathway in primary human hepatocytes. *JBC.* **277**(28) : 25125-25132, 2002.
140. **Thummel K.E., Brimer C., Yasuda K., Thottassery J., Senn T., Lin Y., Ishizuka H., Kharasch E., Schuetz J., Schuetz E.** Transcriptional control of intestinal cytochrome P-4503A by 1alpha,25-dihydroxy vitamin D3. *Mol Pharm.* **60**(6) : 1399-1406, 2001.
141. **Pascussi J.M., Gerbal-Chaloin S., Drocourt L., Maurel P., Vilarem M.J.** The expression of CYP2B6, CYP2C9 and CYP3A4 genes: a tangle of networks of nuclear and steroid receptors. *Biochim. et Biophys. Acta.* **1619**(3) : 243-253, 2003.
142. **Kurahashi I., Matsunuma A., Kawane T., Abe M., Horiuchi N.** Dexamethasone enhances vitamin D-24-hydroxylase expression in osteoblastic (UMR-106) and renal (LLC-PK1) cells treated with 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Endocrine.* **17**(2) : 109-18, 2002.

143. **Dusso A.S., Kamimura S., Gallieni M., Zhong M., Negrea L., Shapiro S., Slatopolsky E.** Gamma-Interferon-induced resistance to 1,25-(OH)₂D₃ in human monocytes and macrophages: a mechanism for the hypercalcemia of various granulomatoses. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **82**(7) : 2222-32, 1997.
144. **Kan P.B., Hirst M.A., Feldman D.** Inhibition of steroidogenic cytochrome P-450 enzymes in rat testis by ketoconazole and related imidazole anti-fungal drugs. *J. Steroid Biochem.* **23**(6A) : 1023-9, 1985.
145. **Smogorzewski M.J., Massry S.G.** Liver metabolism in CRF. *Am. J. Kidney Dis.* **41**(S1) : S127-132, 2003.
146. **Klin M., Smogorzewski M., Massry SG.** Chronic renal failure increases cytosolic Ca²⁺ of hepatocytes. *Am. J. Physiol.* **269**(1 Pt 1) : G103-109, 1995.
147. **Massry S.G., Fadda G.Z.** Chronic renal failure is a state of cellular calcium toxicity. *Am. J. Kidney Dis.* **21**(1) : 81-6, 1993.
148. **Klin M., Smogorzewski M., Khilnani H., Michnowska M., Massry S.G.** Mechanisms of PTH-induced rise in cytosolic calcium in adult rat hepatocytes. *Am. J. Physiol.* **267**(5 Pt 1) : G754-63, 1994.
149. **Leblond F.A., Giroux L., Villeneuve J.P., Pichette V.** Decreased in vivo metabolism of drugs in chronic renal failure. *Drug Metab. and Disp.* **28**(11) : 1317-1320, 2000.
150. **Morgan E.T.** Regulation of cytochromes P450 during inflammation and infection. *Drug. Metab. Rev.* **29**(4) : 1129-1188, 1997.
151. **Stenvinkel P.** Inflammation in end-stage renal failure: could it be treated? *Nephrol. Dial. Transplant.* **17**(8) : 33-38, 2002.

152. **Guevin C., Michaud J., Naud J., Leblond F.A., Pichette V.** Down-regulation of hepatic cytochrome p450 in chronic renal failure: role of uremic mediators. *Br. J. Pharmacol.* **137**(7) : 1039-46, 2002.
153. **Pascussi J.M., Gerbal-Chaloin S., Pichard-Garcia L., Daujat M., Fabre J.M., Maurel P., Vilarem M.J.** Interleukin-6 negatively regulates the expression of pregnane X receptor and constitutively activated receptor in primary human hepatocytes. *Bioch. and Biophys. Research. Comm.* **274**(3) : 707-713, 2000.
154. **Jover R., Bort R., Gomez-Lechon M.J., Castell J.V.** Down-regulation of human CYP3A4 by the inflammatory signal interleukin-6: molecular mechanism and transcription factors involved. *FASEB J.* **16**(13) : 1799-801, 2002.
155. **Bleau A.M., Maurel P., Pichette V., Leblond F., du Souich P.** Interleukin-1beta, interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma released by a viral infection and an aseptic inflammation reduce CYP1A1, 1A2 and 3A6 expression in rabbit hepatocytes. *Eur. J. Pharmacol.* **473**(2-3) : 197-206, 2003.
156. **Gibson TP.** Renal disease and drug metabolism: an overview. *Am. J. Kidney Dis.* **8**(1) : 7-17, 1986.
157. **Touchette M.A., Slaughter R.L.** The effect of renal failure on hepatic drug clearance. *DICP.* **25**(11) : 1214-24, 1991.
158. **Dreisbach A.W., Lertora J.J.** The effect of chronic renal failure on hepatic drug metabolism and drug disposition. *Seminars in Dialysis.* **16**(1) : 45-50, 2003.
159. **Leber H.W., Schutterle G.** Oxidative drug metabolism in liver microsomes from uremic rats. *Kidney Int.* **2**(3) : 152-158, 1972.

160. **Chung H.C., Kim S.H., Lee M.G., Kim S.G.** Increase in urea in conjunction with L-arginine metabolism in the liver leads to induction of cytochrome P450 2E1 (CYP2E1): the role of urea in CYP2E1 induction by acute renal failure. *Drug Metab. Dispos.* **30(6)** : 739-46, 2002.
161. **Leblond F., Guevin C., Demers C., Pellerin I., Gascon-Barre M., Pichette V.** Downregulation of hepatic cytochrome P450 in chronic renal failure. *J. Am. Soc. of Nephrol.* **12(2)** : 326-332, 2001.
162. **Teixeira J., Gil G.** Cloning, expression, and regulation of lithocholic acid 6 beta-hydroxylase. *JBC.* **266(31)** : 21030-36, 1991.
163. **Ethier C., Kestekian R., Beaulieu C., Dube C., Havrankova J., Gascon-Barre M.** Vitamin D depletion retards the normal regeneration process after partial hepatectomy in the rat. *Endocrinology.* **126(6)** : 2947-59, 1990.
164. **Olgaard K., Arbelaez M., Schwartz J., Klahr S., Slatopolsky E.** Abnormal skeletal response to parathyroid hormone in dogs with chronic uremia. *Calcif Tissue Int.* **34(4)** : 403-7, 1982.
165. **Higgins E.S., Banks W.L. Jr.** Cognate effects of ethanol, hydrazine and tissue regeneration on hepatic mitochondrial activities. *Biochem Pharmacol.* **20(7)** : 1513-24, 1971.
166. **Chirgwin J.M., Przybyla A.E., MacDonald R.J., Rutter W.J.** Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease. *Biochemistry.* **18(24)** : 5294-5299, 1979.
167. **Usui E., Noshiro M., Okuda K.** Molecular cloning of cDNA for vitamin D3 25-hydroxylase from rat liver mitochondria. *FEBS Lett.* **262(1)** : 135-8, 1990.

168. **Tso J.Y., Sun X.H., Kao T.H., Reece K.S., Wu R.** Isolation and characterization of rat and human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase cDNAs: genomic complexity and molecular evolution of the gene. *Nucleic Acids Res.* **13(7)** : 2485-502, 1985.
169. **Provencher S.J. Demers C., Bastien M.C., Villeneuve J.P., Gascon-Barre M.** Effect of cyclosporine A on cytochrome P-450-mediated drug metabolism in the partially hepatectomized rat. *Drug Met. and Disp.* **27(4)** : 449-455, 1999.
170. **Mailhot G., Petit J.L., Dion N., Deschênes C., Ste-Marie L.G., Gascon-Barré M.** Endocrine and bone consequences of chronic hypocalcemia reversal in the rat. 2003 (*en préparation*).
171. **Uchida N., Kurata N., Shimada K., Nishimura Y., Yasuda K., Hashimoto M., Uchida E., Yasuhara H.** Changes of hepatic microsomal oxidative drug metabolizing enzymes in chronic renal failure (CRF) rats by partial nephrectomy. *Jpn J. Pharmacol.* **68(4)** : 431-439, 1995.
172. **El-Sankary W., Bombail V., Gibson G.G., Plant N.** Glucocorticoid-mediated induction of CYP3A4 is decreased by disruption of a protein: DNA interaction distinct from the pregnane X receptor response element. *Drug Metab Dispos.* **30(9)** : 1029-34, 2002.
173. **Gonzalez F.J., Song B.J., Hardwick J.P.** Pregnenolone 16 alpha-carbonitrile-inducible P-450 gene family: gene conversion and differential regulation. *Mol. Cell. Biol.* **6(8)** : 2969-76, 1986.
174. **Canivenc-Lavier M.C., Bentejac M., Miller M.L., Leclerc J., Siess M.H., Latruffe N., Suschetet M.** Differential effects of nonhydroxylated flavonoids as inducers of cytochrome P450 1A and 2B isozymes in rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **136(2)** : 348-53, 1996.

175. **Gerhold D., Lu M., Xu J., Austin C., Caskey C.T., Rushmore T.** Monitoring expression of genes involved in drug metabolism and toxicology using DNA microarrays. *Physiol. Genomics*. **5**(4) : 161-70, 2001.
176. **Madan A., Graham R.A., Carroll K.M., Mudra D.R., Burton L.A., Krueger L.A., Downey A.D., Czerwinski M., Forster J., Ribadeneira M.D., Gan L.S., LeCluyse E.L., Zech K., Robertson P. Jr, Koch P., Antonian L., Wagner G., Yu L., Parkinson A.** Effects of prototypical microsomal enzyme inducers on cytochrome P450 expression in cultured human hepatocytes. *Drug Metab. Dispos.* **31**(4) : 421-31, 2003.
177. **Klin M., Smogorzewski M., Ni Z., Zhang G., Massry S.G.** Abnormalities in hepatic lipase in chronic renal failure: role of excess parathyroid hormone. *J. Clin. Invest.* **97**(10) : 2167-73, 1996.
178. **Hollis B.W.** 25-Hydroxyvitamin D₃-1 alpha-hydroxylase in porcine hepatic tissue: subcellular localization to both mitochondria and microsomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **87**(16) : 6009-13, 1990
179. **Jaffry, N., Demers C., et Gascon-Barré M.** L'insuffisance rénale altère l'expression de cytochromes P-450 et la production extra-rénale de 1,25(OH)₂D₃ chez le rat. *Med. Sci.*, **19** (suppl 2) p32, 2003.
180. **Dube C., Vallieres S., Ethier C., Benbrahim N., Tremblay C., Gascon-Barre M.** In micronodular cirrhosis, hepatocytes retain a normal C-25 hydroxylation capacity toward vitamin D₃: a study using the rat carbon tetrachloride-induced cirrhotic model. *Hepatology*. **13**(3) : 489-99, 1991.
181. **Silver J.** Pathogenesis of parathyroid dysfunction in end-stage renal disease. *Adv. Ren. Replace Ther.* **9**(3) : 159-67, 2002.

182. **Nguyen-Yamamoto L., Rousseau L., Brossard J.H., Lepage R., Gao P., Cantor T., D'Amour P.** Origin of parathyroid hormone (PTH) fragments detected by intact-PTH assays. *Eur. J. Endocrinol.* **147**(1) : 123-31, 2002.
183. **Catherwood B.D., Friedler R.M., Singer F.R.** Sites of clearance of endogenous parathyroid hormone in the vitamin D-deficient dog. *Endocrinology.* **98**(1) : 228-36, 1976.
184. **Oldham S.B., Finck E.J., Singer F.R.** Parathyroid hormone clearance in man. *Metabolism.* **27**(8) : 993-1001, 1978.
185. **Daugaard H., Egfjord M., Olgaard K.** Metabolism of intact parathyroid hormone in isolated perfused rat liver and kidney. *Am. J. Physiol.* **254**(6 Pt 1) : E740-8, 1988.
186. **D'Amour P., Rousseau L., Rocheleau B., Pomier-Layrargues G., Huet P.M.** Influence of Ca²⁺ concentration on the clearance and circulating levels of intact and carboxy-terminal iPTH in pentobarbital-anesthetized dogs. *J. Bone Miner. Res.* **11**(8) : 1075-85, 1996.
187. **Gascon-Barre M., Demers C., Mirshahi A., Neron S., Zalzal S., Nanci A.** The normal liver harbors the vitamin D nuclear receptor in nonparenchymal and biliary epithelial cells. *Hepatology.* **37**(5) : 1034-42, 2003.
188. **Sandgren M.E., Bronnegard M., DeLuca H.F.** Tissue distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in the male rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **181**(2) : 611-6, 1991.
189. **Duncan W.E., Glass A.R., Wray H.L.** Estrogen regulation of the nuclear 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in rat liver and kidney. *Endocrinology.* **129**(5) : 2318-24, 1991.

