

Université de Montréal

**Effet de l'insuffisance rénale chronique sur les enzymes du cytochrome
P450 dans le cerveau de rat**

**par
Jessica Harding**

**Département de Pharmacologie
Faculté de Médecine**

**Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de maître en pharmacologie**

avril, 2010

© Jessica Harding, 2010

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Effet de l'insuffisance rénale chronique sur les enzymes du cytochrome
P450 dans le cerveau de rat**

Présenté par :

Jessica Harding

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Dr. Patrick DuSouich
Président Rapporteur

Dr. Vincent Pichette
Directeur de Recherche

Dr. Pierre Beaulieu
Membre du Jury

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Dr Vincent Pichette, qui a accepté d'être mon Directeur de recherche. J'ai été particulièrement sensible aux remarques et questions qu'il a bien voulu formuler. Celles-ci m'ont permis de clarifier constamment ma réflexion et la justesse des idées présentées.

Je remercie également toutes les personnes qui ont rendu ce travail possible.

Ma reconnaissance à toute l'équipe du laboratoire qui a manifesté un intérêt pour mes travaux et a participé à une réflexion de groupe.

Ensuite, j'exprime mes plus vifs remerciements à l'ensemble des membres du jury qui interrompent leurs horaires chargés et prennent le temps d'évaluer les travaux des étudiants du département.

RÉSUMÉ

Introduction: Nous avons déjà montré que l'insuffisance rénale chronique (IRC) entraîne une régulation négative du cytochrome P450 (CYP450) dans le foie et l'intestin de rat. La présente étude cherche à déterminer l'effet de l'IRC sur l'expression des enzymes du CYP450 dans le cerveau de rat. L'expression génique, protéique ainsi que l'activité des isoenzymes du CYP450 ont été analysées dans différentes régions du cerveau (hippocampe, cervelet, cortex et parenchyme cérébral) afin de déterminer l'effet de l'insuffisance rénale chronique sur le métabolisme cérébral des médicaments par le CYP450.

Méthodes: Le cerveau entier de rats atteints d'IRC (induite par une néphrectomie sub-totale 5/6) et de rats témoins (laparotomie blanche) a été disséqué en 4 parties (cortex, cervelet, hippocampe et parenchyme cérébral). L'expression protéique et celle de l'ARNm des isoformes 1A, 2C11, 2D, 3A et 4A du cytochrome P450 a été étudiée respectivement par immunobuvardage de type Western et PCR en Temps Réel. L'activité du CYP3A a été mesurée par le métabolisme du DFB en DFH sur des préparations de microsomes de cerveau. Une technique de culture cellulaire d'astrocytes a été mise au point et a permis d'évaluer l'expression des enzymes dans ces cellules suite à l'incubation des astrocytes avec le sérum de rats atteints d'insuffisance rénale chronique.

Résultats: Chez les rats atteints d'IRC, les niveaux géniques de CYP1A, 2C et 3A sont diminués d'au moins 40% ($p < 0,05$) dans presque toutes les parties étudiées. Les niveaux d'ARNm du CYP2D demeurent inchangés. De plus, une diminution significative d'au moins 45% ($p < 0,05$) de l'expression protéique des CYP1A, 2C et 3A est observée dans presque toutes les structures étudiées. L'activité enzymatique de CYP3A est diminuée significativement dans le cerveau de rats IRC, ainsi que l'expression des enzymes du CYP2C11 dans les astrocytes en culture lorsqu'incubés avec du sérum de rat urémique.

Conclusions: Ces études démontrent que le cerveau est également affecté par l'IRC. Ceci se traduit par une diminution de l'expression protéique, génique, ainsi que de l'activité des enzymes du CYP450. Cette diminution pourrait expliquer une augmentation des effets secondaires dans le système nerveux central en IRC.

Mots-clés : Insuffisance rénale chronique, métabolisme des médicaments, Cytochrome P450, cerveau de rat, néphrectomie, astrocytes de rat.

ABSTRACT

Background: It has been shown that chronic renal failure (CRF) is associated with a downregulation of liver and intestinal cytochrome P450 (CYP450) in the rat. The present study aimed to investigate the repercussions of CRF on Brain. CYP450 isoenzymes mRNA and protein expression, as well as activity in different brain regions (cortex, cerebellum, hippocampus, and rest of brain parenchyma), have been studied in order to determine the effects of CRF on cerebral drug metabolism by CYP450.

Methods: The entire brain of CRF rats (induced by 5/6th nephrectomy) and control rats (sham laparotomy) was dissected into 4 parts (cortex, cerebellum, hippocampus, and rest of brain parenchyma). Protein and mRNA expression of CYP1A, CYP2C, CYP2D, CYP3A, and CYP4A were assessed by Western Blot assay and Real Time PCR, respectively. CYP3A activity was assessed using DFB metabolism into DFH in brain microsomal preparation. Protein and mRNA expression were also assessed in cultured astrocytes incubated with serum from CRF rats.

Results: In CRF rats, mRNA levels of CYP1A, CYP2C, and CYP3A were decreased significantly by at least 40% ($p < 0.05$) in almost all studied brain regions. Protein expression of these isoforms was decreased by at least 45% ($p < 0.05$) in almost all structures. A significant decrease in CYP3A activity was observed in the brain. The incubation of astrocytes with CRF sera induced a decrease in the protein and mRNA expression of the CYP2C11.

Conclusions: CRF is associated with a decrease in some major drug-metabolizing enzymes, which could explain an increase in bioavailability of drugs in the brain.

Key words: Chronic renal failure, drug metabolism, Cytochrome P450, rat brain, nephrectomy, rat astrocytes.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT	v
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES SIGLES ET ABBRÉVIATIONS	x
1. INTRODUCTION	11
1.1 Insuffisance rénale chronique (IRC)	11
Définitions et description	11
Étiologie	12
Conséquences systémiques de l'IRC	14
Traitement de l'insuffisance rénale chronique	18
1.2 Pharmacocinétique des médicaments	20
Absorption	20
Distribution	20
Élimination	21
1.3 Métabolisme de Phase I	21
1.4 Métabolisme de Phase II	23
Métabolisme hépatique	23
Métabolisme intestinal	25
1.5 Cerveau	35
Histologie cérébrale	35
Cerveau et P450	36
Cerveau humain	38

Cerveau de rat.....	40
Métabolisme endogène et homéostasie médiés par les P450 dans le cerveau.....	43
Neurotransmetteurs.....	45
1.6 Hypothèse de la régulation des enzymes du CYP450 dans le cerveau de rats atteints d'insuffisance rénale chronique	47
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	49
Modèle expérimental.....	49
Immunoabsorption de la PTH des sérums de rats urémiques	50
Isolation et culture d'astrocytes.....	51
Préparation de microsomes à partir d'homogénats de cerveau	52
Immunobuvardage de type Western.....	53
Isolation d'ARN et analyse par réaction de polymérisation en chaîne en temps réel.....	53
Mesure de l'activité de CYP3A	55
Analyse biochimique du sang et d'urine.....	55
Analyse statistique	56
3. RÉSULTATS	57
1. Expression protéique <i>in vivo</i> des enzymes du cytochrome P450 dans le cerveau de rat.....	57
2. Expression génique <i>in vivo</i> des enzymes du cytochrome P450 dans le cerveau de rat.....	58
3. Activité enzymatique <i>in vitro</i> de l'isoforme 3A dans les microsomes de cerveau de rat.....	60

4. Effet du sérum de rats atteints d'insuffisance rénale chronique sur les enzymes du cytochrome P450 <i>in vitro</i> sur les astrocytes de rat	60
5. Effet de la PTH sur l'expression des enzymes du cytochrome P450 dans le cerveau de rat	61
4. Discussion	73
4.1 Interprétation des résultats obtenus	73
Effet de l'IRC sur l'expression des enzymes du CYP450	73
Effet du sérum de rats urémiques sur l'expression astrocytaire des enzymes du CYP450	76
4.2 Comparaison des résultats avec les données de la littérature.....	77
Effet de l'IRC sur l'expression des enzymes du CYP450	77
Effet du sérum de rats urémiques sur l'expression astrocytaire des enzymes du CYP450	80
Effet <i>in vitro</i> de la PTH sur les enzymes du CYP450 dans les astrocytes en culture.....	82
4.3 Implications des résultats obtenus	83
Effet de l'IRC sur l'expression des enzymes du CYP450	83
Effet du sérum de rats urémiques sur l'expression astrocytaire des CYP450	83
Effet <i>in vivo</i> de la PTH sur les enzymes du CYP450	84
5. CONCLUSION	86
6. RÉFÉRENCES	88

LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 1A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat. 62
- Figure 2** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 1A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat. 63
- Figure 3** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 2C11 dans les microsomes de cerveau de rat. 64
- Figure 4** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 2C11 dans les microsomes de cerveau de rat. 65
- Figure 5** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 2C11 dans les astrocytes de rat incubés en présence de sérum de rats urémiques. 66
- Figure 6** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 3A dans les microsomes de cerveau de rat. 67
- Figure 7** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 3A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat. 68
- Figure 8** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'activité enzymatique de l'isoforme 3A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat. 69
- Figure 9** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 1A dans les microsomes de cerveau de rat. 70
- Figure 10** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 2C dans les microsomes de cerveau de rat. 71
- Figure 11** : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 3A dans les microsomes de cerveau de rat. 72

LISTE DES SIGLES ET ABBRÉVIATIONS

ARNm	acide ribonucléique messenger
CYP450	cytochrome P450
DFB	3-[(3,4-difluorobenzyl)oxy]-5,5-diméthyl-4-[4-méthylsulfonylphényl]furan-2(5H)-one
CAR	<i>constitutive androstane receptor</i>
CNS	système nerveux central
EPO	érythropoïétine
DHEA	<i>déhydroépiandrostérone</i>
DMEM/F-12	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium Nutrient Mixture F-12</i>
GAPDH	glycéraldéhyde 3-phosphate déhydrogénase
GFAP	<i>glial fibrillary acidic protein</i>
IgA	immunoglobuline A
IL-1β	interleukine 1 bêta
IRC	insuffisance rénale chronique
L-DOPA	<i>L-3,4-dihydroxyphenylalanine</i>
LPS	endotoxine lipopolysaccharide
MRP2	<i>multidrug resistance related protein</i> de type 2
NADPH	<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
PgP	p-glycoprotéine
pH	potentiel d'hydrogène
PPAR	<i>peroxisome proliferator activated receptor</i>
PTH	hormone parathyroïdienne
PTHrP	<i>PTH-related peptide</i>
PTX	parathyroïdectomie
PXR	<i>pregnane X receptor</i>
qPCR	<i>quantitative polymerase chain reaction</i>
RT-PCR	<i>reverse transcriptase – polymerase chain reaction</i>
TNF-α	facteur de nécrose tumorale alpha
VDR	<i>vitamin D receptor</i>

INTRODUCTION

Insuffisance rénale chronique (IRC)

Définitions et description

Pathophysiologie

L'insuffisance rénale chronique est caractérisée par une diminution de la fonction rénale empêchant l'homéostasie des fluides et des électrolytes par le rein. L'incapacité de concentrer l'urine survient tôt dans le processus pathologique et est suivie par une diminution d'excrétion des cations et des anions. Les concentrations plasmatiques de créatinine et d'urée augmentent alors que le taux de filtration glomérulaire chute progressivement. Le rein réussit à s'adapter en augmentant temporairement le taux de filtration des néphrons fonctionnels. Il s'agit de l'hyperfiltration adaptative. Initialement bénéfique, cette hyperfiltration endommage au long cours les glomérules des néphrons restants. Ce dommage se manifeste par une protéinurie et une insuffisance rénale progressive.

Classification et prévalence

La classification de l'insuffisance rénale permet de quantifier la sévérité de la pathologie rénale. Au total, 30 000 Canadiens et 26 millions d'Américains souffrent d'une atteinte rénale. [1] Ce chiffre signifie que plus de 15% de la population américaine est atteinte d'insuffisance rénale. D'après le *National Kidney Foundation* des États-Unis, l'IRC se classe en 5 stades :

Stade 1 : Taux de filtration glomérulaire normal ($> 90 \text{ mL/min/1,73 m}^2$) accompagné d'une albuminurie persistante ou d'un risque d'atteinte rénale.

Stade 2 : Taux de filtration glomérulaire de $60 \text{ à } 89 \text{ mL/min/1,73 m}^2$.

Stade 3 : Taux de filtration glomérulaire de $30 \text{ à } 59 \text{ mL/min/1,73 m}^2$.

Stade 4 : Taux de filtration glomérulaire de $15 \text{ à } 29 \text{ mL/min/1,73 m}^2$.

Stade 5 : Taux de filtration glomérulaire de $< 15 \text{ mL/min/1,73 m}^2$.

Étiologie

Actuellement, les causes les plus fréquentes d'insuffisance rénale chronique sont le diabète de type 2, l'hypertension artérielle et l'athérosclérose.

D'autres causes sont également reconnues comme responsables d'insuffisance rénale chronique :

Néphropathie tubulointerstitielle chronique

Glomérulopathie primaire (ex. glomérulosclérose focale, glomérulonéphrite à croissants, néphropathie à IgA, glomérulonéphrite membranoproliférative, néphropathie membraneuse).

Glomérulopathie associée à une pathologie (ex. Amyloïdose, syndrome hémolytique-urémique, glomérulonéphrite post-infectieuse, granulomatose de Wegener).

Néphropathie héréditaire (ex. néphrite héréditaire, (syndrome de Alport), maladie médulaire cystique, maladie du rein polycystique)

Uropathie obstructive (ex. hyperplasie bénigne de la prostate, valves urétrales postérieures, fibrose rétro-péritonéale, obstruction urétrale (congénitale, calcul), reflux vésico-urétral)

Vasculopathie des veines et artères rénales (ex. sténose artérielle rénale causée par l'athérosclérose ou dysplasie fibromusculaire)

Conséquences systémiques de l'IRC

Hypertension artérielle

L'équilibre sodique et l'équilibre du volume intravasculaire sont maintenus par les mécanismes homéostatiques jusqu'à ce que le taux de filtration glomérulaire atteigne environ 20 mL/min. Par la suite la pression du compartiment intra-vasculaire s'élève menant à l'hypertension. Le traitement consiste à restreindre l'apport de sodium en concomitance avec une thérapie quotidienne par des diurétiques de l'anse. D'après certaines données récentes, les restrictions quand à l'apport sodique permettraient même de freiner la progression de l'insuffisance rénale par la diminution de la pression intraglomérulaire. [2]

Acidose métabolique

Caractérisée par un pH sanguin artériel sous les 7,35, l'acidose métabolique résulte de la rétention d'ions hydrogénés et une diminution de l'acidité titrable chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique. Le traitement recommandé est une thérapie alcaline lorsque les bicarbonates sont ≤ 22 mmol/L.

Atteinte osseuse

Tôt dans le développement de l'insuffisance rénale, la rétention de phosphate débute, suite à la diminution de son excrétion, ce qui stimule l'hormone parathyroïdienne (PTH). La principale anomalie demeure l'hyperparathyroïdie

secondaire. L'activation de la vitamine D en sa forme active, 1-25 dihydroxyvitamine D ou calcitriol, est faite par l'enzyme 1 α hydroxylase rénale. En raison de la diminution de la masse fonctionnelle rénale en insuffisance rénale, on observe une diminution des niveaux circulants de calcitriol. Cette réduction de vitamine D active entraîne une diminution de l'absorption intestinale de calcium ionisé et ainsi une hypocalcémie qui stimule la sécrétion de PTH par les glandes parathyroïdiennes. La PTH cherche à rétablir les concentrations de calcium en favorisant la résorption osseuse. On assiste à l'hyperplasie des glandes parathyroïdiennes. Il s'agit de l'hyperparathyroïdie secondaire à l'insuffisance rénale. [3]

L'augmentation des niveaux circulants de PTH entraînent une résorption osseuse qui conduit à diverses maladies osseuses. Les pathologies osseuses liées à l'insuffisance rénale incluent l'ostéite fibreuse et l'ostéomalacie. L'ostéite fibreuse résulte directement de l'hyperparathyroïdie secondaire. Bien que le processus causal ne soit pas clairement établi, les niveaux de PTH semblent s'élever quand la clairance de la créatinine est inférieure à 70 mL/min. La prévention et le traitement des désordres osseux débute par une restriction de la consommation de phosphate et l'administration orale de chélateurs de phosphate. Aussi, l'administration de calcitriol, le métabolite actif de la vitamine D, permet d'inhiber l'hypersécrétion de PTH. L'administration de calcimimétiques, tel que le cinacalcet, est également indiquée en présence d'hyperparathyroïdie tertiaire. Les calcimimétiques sont des agents

allostériques, conçus pour mimer les effets du calcium et ainsi inhiber la sécrétion de PTH. [4]

Atteinte neurologique : encéphalopathie urémique

L'urémie correspond à l'aboutissement final de la progression de l'insuffisance rénale. Cet aboutissement inclut également l'insuffisance d'autres organes, résultant de l'accumulation de métabolites secondairement à la diminution des processus cataboliques, métaboliques et endocrinologiques par le rein.

L'encéphalopathie urémique constitue une des maintes manifestations de l'insuffisance rénale terminale. [5]

La cause précise de l'encéphalopathie urémique demeure inconnue. Les métabolites de protéines et d'acides aminés s'accumulant affectent le système nerveux. Les concentrations d'autres substances organiques s'élèvent, tels que les composés guanidine, l'acide urique, l'acide hippurique, les conjugués phénols, l'acide indolique, l'acide glucuronique, la carnitine, le myoinositol et les phosphates, pour ne nommer que celles-là. [6]

Les atteintes métaboliques pouvant être associées à l'encéphalopathie urémique incluent l'acidose métabolique, l'hyponatrémie, l'hyperkaliémie, l'hypocalcémie, l'hypermagnésie ainsi que les troubles d'hydratation. Aucune anomalie n'est jugée responsable à elle seule des signes cliniques de

l'encéphalopathie urémique. Chez le rat souffrant d'insuffisance rénale, les niveaux cérébraux de phosphate de créatinine, d'adénosine triphosphate et de glucose sont augmentés, alors que les niveaux d'adénosine monophosphate, d'adénosine diphosphate et de lactate sont diminués. Ces données suggèrent que le cerveau du sujet urémique utilise moins d'ATP, et produit moins d'AMP et d'ADP, corroborant une diminution de la fonction métabolique générale. [7]

L'encéphalopathie urémique résulte aussi de l'implication de plusieurs hormones, dont les niveaux sont élevés, telles que la PTH, l'insuline, l'hormone de croissance, le glucagon, la thyrotrophine, la prolactine, l'hormone lutéinisante et la gastrine. Chez le chien sain, des niveaux anormalement élevés de PTH induisent des changements dans le CNS comparables à ceux retrouvés en urémie. La PTH semblerait promouvoir l'entrée de calcium dans les neurones, ce qui entraînerait les effets observés.

Hyperkaliémie

La capacité de maintenir l'excrétion de potassium à des niveaux quasi normaux est conservée pourvu que la sécrétion d'aldostérone et le flot tubulaire distal demeurent inchangés. L'hyperkaliémie se développe généralement chez le patient oligurique, chez celui qui présente une diète riche en potassium ou chez le patient atteint d'hypoaldostéronisme. Cette dernière situation pourrait être causée par l'administration d'inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou des bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine.

Anémie

L'anémie rencontrée en insuffisance rénale chronique est généralement normochrome et normocytaire. Ceci signifie que le décompte de globules rouges est bas, mais qu'ils ont une taille et une concentration d'hémoglobine normales. L'anémie résulte principalement de la diminution de production d'érythropoïétine par le rein, en raison de la perte de masse fonctionnelle rénale. La durée de vie des érythrocytes est ainsi écourtée. Le traitement consiste en une thérapie d'agents érythropoïétiques tel que l'époïétine α ou le darbepoïétine α .

Dyslipidémie

Un métabolisme anormal des lipides est fréquemment rencontré chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique. La première manifestation est une hypertriglycéridémie malgré des concentrations de lipoprotéines normales.

Traitement de l'insuffisance rénale chronique

La dialyse est une thérapie qui permet le remplacement artificiel de la fonction rénale. Cette thérapie rétablit ainsi l'équilibre électrolytique et aqueux par un principe d'osmose et de diffusion à travers une membrane semi-perméable. Par contre, la dialyse est une thérapie imparfaite, ne corrigeant pas la fonction endocrinienne telle que la production d'érythropoïétine et de vitamine 1-25 dihydroxy vitamine D. En 2008, 350 000 Américains ont reçu un traitement de dialyse.

Ultimement, la transplantation rénale permet de rétablir la fonction rénale par le remplacement du rein. Aux États-Unis, 70 000 Américains sont en attente d'un greffe rénale.

Pharmacocinétique des médicaments

Absorption

La portion d'un médicament qui atteindra la circulation sanguine du patient, également nommée biodisponibilité, dépend de plusieurs facteurs. Les facteurs qui peuvent influencer l'absorption d'un médicament à administration orale comprennent : le pH gastrique et la vidange gastrique, le phénomène de premier passage intestinal et l'extrusion des médicaments par des protéines membranaires de transport intestinal, la perfusion sanguine splanchnique, la motilité intestinale ainsi que la surface d'absorption intestinale.

Distribution

La distribution d'un médicament correspond au processus de répartition de la substance dans les divers tissus et organes. Plusieurs facteurs modifient le phénomène de distribution, ainsi que le volume de distribution. Entre autres, la distribution dépend de la liaison aux protéines plasmatiques, du volume d'eau, ainsi que de facteurs tissulaires tels que le débit sanguin local, la présence de barrières physiologiques et le stockage tissulaire. Les transporteurs membranaires peuvent favoriser l'entrée des médicaments dans les cellules-cibles ou faciliter leur extrusion. Par exemple, à la barrière hémato-encéphalique, la présence abondante de P-glycoprotéine limite l'accès au système nerveux central à de nombreux médicaments.

Élimination

L'élimination des médicaments se produit par le rein dans l'urine ou par le foie dans la bile. L'élimination rénale dépend du débit sanguin rénal, ainsi que du taux de filtration glomérulaire. Les composés sont éliminés par filtration ou par sécrétion tubulaire grâce aux transporteurs situés dans le tubule proximal. Pour les composés à masse moléculaire de moins de 70 kDa, la diffusion se fait passivement et est plus facile pour les molécules non-ionisées.

L'élimination métabolique, quant à elle, a lieu par le foie et d'autres organes en rendant le composé hydrophile pour élimination dans la bile. Le corps humain possède un système enzymatique afin d'éliminer une multitude de substrats. Ces enzymes de biotransformation reçoivent une attention accrue en raison de leur rôle important dans la réponse thérapeutique et la toxicité. Le cytochrome P450 possède un rôle prédominant dans le métabolisme oxydatif et de la biotransformation. [8]

Métabolisme de Phase I

Les enzymes du cytochrome P450 constituent une superfamille d'enzymes monooxygénases contenant un groupement hème, impliqués dans le métabolisme oxydatif de substrats endogènes et exogènes, tel que le métabolisme de xénobiotiques, la synthèse de cholestérol et de stéroïdes.

Les monooxygénases du CYP450 sont retrouvées principalement dans la fraction microsomiales des cellules, mais leur activité a également été mesurée dans la fraction mitochondriale. [9-11] Le système enzymatique des CYP450 au niveau des microsomes comporte trois éléments fonctionnels primordiaux : le groupement hème, la flavoprotéine NADPH-réductase et les phospholipides. [12-14] La réaction enzymatique a lieu quand la NADPH-réductase transfère deux électrons au CYP450, réduisant la charge du fer au cœur du groupement hème et permettant ainsi la réduction de l'oxygène et la formation de produits de catalyse. [15]

Bien que le foie demeure le principal site de métabolisme des médicaments, plusieurs sites extra-hépatiques sont maintenant reconnus, tel que le cerveau, le poumon et l'intestin. Les conséquences pharmacologiques et toxicologiques du métabolisme *in situ* ont été démontrées chez l'humain et l'animal. C'est en raison de ces conséquences pharmacologiques et toxicologiques que le métabolisme cérébral par les CYP450 constitue un sujet d'intérêt croissant.

La nomenclature régissant la numérotation des isoformes du CYP450 se base sur les caractéristiques de la position où agit l'enzyme. À titre d'exemple, l'isoforme catalysant l'hydroxylation du cholestérol en position 21 sera nommée CYP21A1. Autrement, la numérotation se fait séquentiellement. La superfamille des CYP450 comprend 60 gènes qui se divisent en familles où les séquences géniques sont homologues à plus de 40%. Les familles sont elles-

mêmes groupées en sous-familles, identifiées par des lettres, qui ont une homologie de séquence d'acides aminés de plus de 55%. [16-18]

Largement acceptée par la communauté scientifique est l'implication des récepteurs nucléaires en tant que facteurs de transcription importants dans la régulation des enzymes du CYP450. Plus particulièrement, le *constitutive androstane receptor* (CAR), le *pregnane X receptor* (PXR) et le *peroxisome proliferator activated receptor* (PPAR) constituent des cibles largement étudiées. Une étude récente démontre l'implication de 43 récepteurs nucléaires, incluant VDR, PXR, CAR, PPAR α , PPAR δ , AhR, Arnt, RXR et PPAR γ , dans la régulation de l'expression des sous-familles CYP2B, CYP3A et CYP4A dans le cerveau. [19]

Métabolisme de Phase II

Le métabolisme de phase II consiste en une réaction de conjugaison d'un composé, dans le but de rendre ce composé hydrosoluble. Il existe différentes réactions de conjugaison : la glucuronidation, la sulfatation, l'acétylation et la méthylation. Les médicaments conjugués rendus hydrosolubles seront donc éliminés plus facilement dans la bile ou dans l'urine.

Métabolisme hépatique

Il est essentiel d'apprécier l'importance du foie dans le métabolisme des xénobiotiques. L'humain possède un système hépatique de CYP450 comportant

un grand nombre d'isoformes, dont les CYP1A1, CYP1A2, CYP2C6, CYP2C11, CYP2D, CYP2E1, CYP3A1 et CYP3A2. [20]

Dans le foie humain adulte, le CYP3A, sous-famille principale responsable du métabolisme des médicaments, démontre une distribution hétérogène. D'après la littérature, son expression suivrait un profil à concentration plus élevée dans les hépatocytes de la région péri-veineuse des lobes central et péri-central. Il semblerait que les cellules hépatiques de la zone péri-portale n'expriment pas du tout le CYP3A. [21, 22] Cette distribution hétérogène et variée du CYP3A dans le foie a été confirmée pour l'ARNm par hybridation *in situ* [21] et résulterait d'une fonction biologique en lien avec l'apport sanguin. En d'autres termes, l'hypothèse avancée suggère que les hépatocytes exprimant le CYP3A en quantité élevée sont les derniers à être perfusés par le flot sanguin unidirectionnel et ils ajustent les concentrations de substances livrées dans la circulation systémique [21]

Aussi rapportées sont la relation inverse entre le nombre d'hépatocytes exprimant le CYP3A et l'âge, ainsi que les variations intraindividuelles d'expression génique du CYP3A. [23]

À l'extérieur des hépatocytes, le CYP3A se trouve aussi au niveau de l'épithélium des canaux biliaires intra-hépatiques [21]. Parmi la sous-famille du

CYP3A, l'isoforme CYP3A4 forme la majeure partie de ses constituants dans le foie. [24, 25]

Il s'agit du large spectre de substrats que possède le CYP3A qui lui confère l'importance clinique tant étudiée. Cette grande variété cause une susceptibilité accrue aux interactions médicamenteuses. Aussi, l'inhibition du CYP3A par plusieurs substances, tel que le jus de pamplemousse en raison de sa teneur en furanocoumarine bergamotine et en flavonone naringin, peut nuire au traitement thérapeutique, voire entraîner des retombées cliniques graves. [26]

Métabolisme intestinal

L'intestin constitue également un site important de métabolisme des médicaments. Au niveau intestinal, la biotransformation a lieu principalement par les enzymes du cytochrome CYP450. On identifie dans l'intestin plusieurs isoformes du CYP450 des sous-familles CYP1A, CYP2B, CYP2C, CYP2D et CYP3A. [27-31]

L'expression du CYP3A, démontrée dans l'épithélium intestinal par immunobuvardage de type Western, ainsi que l'activité enzymatique mesurée à l'apex des villi entérocytaires de la muqueuse jéjunale indiquent que les niveaux de CYP3A sont comparables sinon supérieurs à ceux retrouvés au sein de l'hépatocyte. [32] Des études indiquent que les enzymes du CYP3A

constituent dans l'intestin la sous-famille prédominante du CYP450. [30, 32, 33]

Confirmée par immunohistochimie, l'expression du CYP3A se concentre à l'apex des entérocytes matures, exclusivement. [31, 34, 35]

En utilisant des marqueurs spécifiques, l'expression de CYP3A4 a été démontrée par hybridation *in situ* tout au long du petit intestin, avec des niveaux plus élevés aux régions proximales. [31]

L'importance relative de la biotransformation intestinale par rapport au métabolisme hépatique réside dans le phénomène de premier passage. En effet, l'absorption des xénobiotiques administrés par voie orale dépend du métabolisme ayant lieu dans la cellule du petit intestin. Ainsi, toute modification du métabolisme intestinal, et des enzymes du CYP450 par exemple, pourrait modifier la biodisponibilité de xénobiotiques administrés par voie. [25]

Répercussions de l'IRC sur la pharmacocinétiques des médicaments

Les conséquences pharmacocinétiques de l'insuffisance rénale chronique, ou de toute atteinte à l'excrétion urinaire des médicaments, sont importantes. La diminution du nombre de néphrons fonctionnels, et du coup la diminution du taux de filtration glomérulaire et de la sécrétion tubulaire, réduit l'élimination de médicaments et métabolites à élimination rénale. Les concentrations plasmatiques s'en trouvent ainsi augmentées puisque les taux circulants demeurent élevés plus longtemps. Heureusement, les cliniciens obéissent à de strictes lignes directrices visant à éviter ces taux élevés de médicaments plasmatiques, et ainsi diminuer les risques de toxicité et d'effets indésirables que ceux-ci entraînent. [36-40]

Absorption

D'abord, certaines études rapportent l'augmentation du pH dans l'estomac en insuffisance rénale. Ceci pourrait occasionner une diminution de la solubilité des médicaments, puisque ces derniers sont généralement conçus avec une dissolution optimale en milieu acide. De façon plus importante encore est le phénomène de premier passage qui se produit dans l'intestin. Ce phénomène implique la diffusion passive ou active à travers l'épithélium intestinal, où les enzymes de biotransformation, du CYP450 en l'occurrence, métabolisent le composé thérapeutique. Tel que mentionné plus haut, le CYP3A4 chez l'humain compte pour la majorité du métabolisme entérocytaire. Il a d'ailleurs été observé que la muqueuse jéjunale possède des niveaux de CYP3A

comparables sinon supérieurs à ceux retrouvés dans les hépatocytes. [32] Il a été démontré chez le rat que l'altération de l'expression de ces enzymes de biotransformation dans l'intestin peut moduler la quantité de médicament atteignant le sang portal avant d'entrer dans la circulation systémique. [41]

Certaines protéines membranaires limitent l'entrée des composés thérapeutiques. Ces protéines de transport se situent à la membrane apicale de la muqueuse intestinale. Nommons les plus importantes au passage, telles que la P-glycoprotéine (Pgp), la *multi-drug associated protein type 2* (MRP2), qui se retrouvent à la fois au niveau de l'entérocyte, mais également dans le foie et le cerveau. Le rôle de la Pgp en est un de protection de l'organisme contre l'absorption de substances et composés. Pour ce faire, le transporteur membranaire effectue la sortie de médicaments vers la lumière intestinale.

Certaines études mettent en lumière l'implication de l'IRC dans la diminution de l'expression de la Pgp dans l'intestin. Le groupe de Kunihara [42] et celui de Veau [43] ont démontré une réduction de l'activité de la Pgp chez les animaux atteints d'IRC. Nous avons démontré une diminution de l'activité de MRP2 et Pgp secondaire à une diminution de l'expression protéique. [44] Ces données suggèrent donc qu'en insuffisance rénale, une diminution de sortie des médicaments vers la lumière pourrait entraîner une élévation des concentrations plasmatiques, augmentant les risques de toxicité.

Distribution

La liaison aux protéines plasmatiques peut être altérée dans un contexte d'insuffisance rénale chronique, augmentant la fraction libre des médicaments, et favorisant ainsi des concentrations totales libres supra-thérapeutiques.

L'albumine représente la protéine plasmatique la plus abondante, constituant environ 60% de toutes les protéines plasmatiques. En plus de son rôle majeur dans le transport de médicaments dans le sang, l'albumine contribue également à la pression oncotique et au contrôle de l'équilibre hydrique. Il s'agit surtout des médicaments acides liposolubles qui se fixent à des sites spécifiques de l'albumine. [45]

Quatre mécanismes expliquent la diminution de l'accès aux sites de liaisons sur l'albumine. Le premier mécanisme rencontré en IRC est la réduction de ces sites de liaison puisqu'ils se trouvent en compétition de liaison avec les toxines urémiques. [36] En insuffisance rénale chronique, les toxines urémiques et l'urée sont abondantes dans le sang. Le second mécanisme est la présence accrue de cyanate, un produit de dégradation de l'urée, qui peut entraîner la carbamylation de l'albumine. La carbamylation résulte en une diminution des sites disponibles pour le transport de médicaments. Le troisième mécanisme rencontré dans un contexte d'IRC est l'hypoalbuminémie. Pour certains médicaments à effet sur le système nerveux central, la phénytoïne en l'occurrence, une augmentation de la fraction libre a été remarquée en raison, entre autre, d'une hypoalbuminémie. [46]

Le dernier mécanisme qui explique une augmentation des concentrations plasmatiques libres de médicaments est la présence des α -1 glycoprotéines acides qui fixent les médicaments basiques, mais avec moins de spécificité et un plus grand nombre de sites que l'albumine. Les concentrations d' α -1 glycoprotéines acides sont élevées chez les patients urémiques, ce qui augmenterait la liaison des médicaments basiques. Bien qu'elles soient sans grande importance, d'autres protéines participent à la fixation des médicaments : les gamma globulines et les lipoprotéines. [45]

Élimination

En insuffisance rénale chronique, le nombre de néphrons fonctionnels étant diminué, le taux de filtration glomérulaire et de sécrétion tubulaire sont aussi diminués. Dans l'élimination urinaire des médicaments, il existe une corrélation entre le taux de filtration glomérulaire et la clairance urinaire des médicaments. Ainsi, la réduction de la filtration glomérulaire diminue la clairance urinaire des médicaments.

Chez l'humain, l'accumulation des médicaments est très importante en insuffisance rénale chronique. [47-49] Les concentrations de médicaments sont augmentées même pour les médicaments n'étant pas éliminés par le rein. Ceci suggère que d'autres voies d'élimination soient compromises dans un contexte d'IRC. Effectivement, les études animales ont démontré que le métabolisme par les CYP450 est diminué chez les sujets atteints d'insuffisance rénale chronique.

Cette diminution de métabolisme est secondaire à la présence d'un facteur circulant retrouvé dans le sérum des personnes atteintes d'insuffisance rénale chronique. [50]

Les répercussions de l'IRC sur l'élimination métabolique impliquent des altérations dans l'expression et l'activité des enzymes du CYP450 hépatique. Plusieurs études, dont les plus probantes sont issues du laboratoire du Dr Pichette, mettent en lumière l'effet de l'insuffisance rénale chronique sur le métabolisme des médicaments. Les données obtenues démontrent une diminution du métabolisme hépatique secondairement à une régulation à la baisse de l'expression de certains enzymes du métabolisme : les CYP450. Initialement, les recherches ont établi une diminution des niveaux totaux de CYP450, sans s'attarder individuellement aux isoformes. Cependant, il est maintenant accepté que l'identification des isoformes spécifiques modulés dans un contexte d'IRC permette de cerner les médicaments à risque d'accumulation. D'après la littérature, l'expression hépatique des isoformes CYP2C6, CYP2C11 et CYP3A2 [51] et CYP3A1 [52] sont régulés à la baisse chez le rat atteint d'insuffisance rénale expérimentale. Cette diminution de l'expression protéique des enzymes du CYP450 résulte d'une synthèse de protéines réduite, expliquée par la diminution de l'expression d'ARNm. Pour faire suite à ces expériences, l'analyse de l'activité enzymatique du CYP3A2 a permis de démontrer par la N-déméthylation de l'érythromycine une diminution d'activité de l'enzyme de

50% dans les microsomes hépatiques de rats atteints d'IRC lorsque comparés au groupe témoin. [52]

Bien que les mécanismes sous-jacents à la régulation observée demeurent peu élucidés, quelques candidats potentiels ont été analysés pour guider la voie vers la découverte d'un facteur responsable de la diminution de l'activité des CYP450 dans le foie. Parmi les facteurs étudiés, la PTH est partiellement responsable de la diminution observée chez le rat atteint d'IRC. En effet, la théorie acceptée implique un ou des facteurs plasmatiques circulants chez le rat atteint d'IRC. D'abord, l'hypothèse de l'implication de la PTH comme modulateur plasmatique de l'expression des CYP450 est supportée par la fréquence significative de l'hyperparathyroïdie secondaire chez les patients souffrants d'IRC.[3] De plus, il est connu que cette hormone régule l'expression génique d'autres protéines dans divers organes, tel que le cœur. [53] [54] Finalement, l'hypothèse corrobore la découverte de corrélations significatives entre les niveaux de PTH circulants et la diminution du CYP450 induite par le sérum de patients. [50] La preuve irréfutable réside dans l'expérience de déplétion de PTH du sérum de rats urémiques, qui a permis de prévenir la régulation à la baisse des CYP450 dans les hépatocytes de rat *in vitro*. [55]

Effet de l'IRC sur le métabolisme intestinal

Tel que discuté précédemment, le foie constitue le principal site de métabolisme des xénobiotiques. Cependant, l'intérêt grandissant pour l'étude des sites de biotransformation extra-hépatiques témoigne de l'importance de ceux-ci. Pour les médicaments administrés par voie orale, la forme pharmaceutique la plus répandue, l'intestin demeure un site de métabolisme important. Les enzymes du CYP450 médient largement ce métabolisme intestinal. Ainsi, toute modification de l'activité des CYP450 dans l'intestin entraînerait potentiellement d'importantes répercussions sur la quantité de médicament absorbé dans la circulation systémique. D'après la littérature, les CYP450 seraient responsables de près de 50% du métabolisme de premier passage observé pour un médicament donné. [56]

Des études menées chez le rat atteint d'IRC indiquent une diminution de certaines isoformes du CYP450 dans les microsomes d'intestin. Ces études analysent l'activité O-dééthylase du 7-éthoxyrésorufine par le CYP1A1 ainsi que la N-déméthylation de l'érythromycine par le CYP3A. Elles rapportent une diminution significative de l'ordre de 25% de l'activité enzymatique des deux isoformes régulées, secondairement à une régulation à la baisse considérable de leur expression protéique. [41] De plus, en appréciant le rôle important des enzymes de la famille du CYP3A dans le métabolisme des xénobiotiques, il est aisé de comprendre l'étendue de l'implication de ces observations. En effet, les protéines du CYP3A sont impliquées dans le métabolisme de 45 à 60% des médicaments couramment utilisés de nos jours. [57]

Tel qu'avancé plus tôt, une diminution du métabolisme intestinal causerait potentiellement des variations dans la quantité de médicament absorbé, à la condition que la substance nécessite un passage à travers la membrane épithéliale intestinale. L'IRC constituerait donc une cause probable aux différences dans la biodisponibilité attendue et la véritable quantité de médicaments atteignant la circulation sanguine.

Cerveau

Le cerveau humain constitue sans doute l'organe le plus complexe de l'organisme, tant d'un point de vue anatomique que fonctionnel.

Histologie cérébrale

Le système nerveux central comporte une variété de types cellulaires qui participent à la transmission nerveuse et à l'homéostasie cérébrale.

Neurones : Les neurones constituent l'unité fonctionnelle du système nerveux, permettant la transmission de l'influx.

Astrocytes : Bien que les enzymes du cytochrome CYP450 aient été identifiées dans les neurones, les astrocytes, exprimant aussi le CYP450, sont d'un intérêt particulier en raison de leur facilité de culture *in vitro*, de leur abondance et de la grande variété de fonctions qu'ils remplissent. Ces cellules de forme étoilée entourent les cellules endothéliales pour former la barrière hémato-encéphalique, participent au stockage de nutriments pour le tissu nerveux et à la réparation de tissu dans le cerveau. Dans la littérature, les astrocytes sont classiquement identifiés par l'expression du *glial fibrillary acidic protein* (GFAP). Les astrocytes représentent le type cellulaire le plus abondant de cellules gliales. Ils régulent l'environnement chimique des neurones en supprimant les ions excédentaires, notamment le potassium, et en recyclant les neurotransmetteurs relâchés au cours de la transmission synaptique. Par le métabolisme de l'acide arachidonique en métabolites vasoactifs, les astrocytes

régulent la vasodilatation et la vasoconstriction cérébrale. La signalisation entre les astrocytes est médiée par la relâche de calcium. Les jonctions gap entre les astrocytes permettent le passage de l'inositol triphosphate, une molécule messagère qui diffuse d'un astrocyte à l'autre. Cette molécule active les canaux calciques situés sur les organelles cellulaires, menant à la relâche de calcium dans le cytoplasme. Deux types d'astrocytes sont reconnus : les astrocytes protoplasmiques avec des processus hautement ramifiés situés dans la matière grise, ainsi que les astrocytes fibreux peu ramifiés retrouvés dans la matière blanche.

Oligodendrocytes : Les oligodendrocytes sécrètent la myéline entourant les axones qui permet la conduction saltatoire.

Cerveau et CYP450

Il est intéressant de noter que les enzymes du CYP450, ainsi que les récepteurs nucléaires régulant leur expression, sont présents dans le cerveau. Récemment, un groupe a démontré la présence de l'ARNm codant le facteur nucléaire CAR dans le cortex, le cervelet, le striatum, l'hippocampe et l'hypothalamus, chez le lapin. Le récepteur PXR, quant à lui, n'était présent que dans le cortex. [58] Quoique la piste semble prometteuse, suggérant une régulation *in situ* de l'expression des CYP450, les différences inter-espèces ne sont pas à négliger.

De plus, l'expression protéique de ces facteurs de transcription reste à être démontrée. [59]

Les enzymes du cytochrome CYP450 se situent dans le reticulum endoplasmique, dans le cytosol et au niveau de la membrane intérieure des mitochondries. [60]

Initialement identifiées dans le cerveau de rat en quantité très limitée par rapport aux quantités présentes dans le foie, les enzymes du CYP450 contribuent à la biotransformation de divers composés, dont les xénobiotiques qui traversent la barrière hémato-encéphalique. La littérature rapporte une concentration microsomale de CYP450 de 30 pmol/mg de protéines, ce qui correspond à 3% des niveaux hépatiques. [60] Cependant, ces études évaluent le cerveau en tant qu'organe homogène, fait démenti dans le cadre d'études plus récentes. [61] En raison de cette importante hétérogénéité régionale et cellulaire dans le cerveau, les variations de distribution des enzymes du CYP450 dans les régions spécifiques du cerveau confèrent une vulnérabilité particulière aux effets médiés par ces enzymes. Les données récentes permettent d'affirmer que 41 des 57 isoformes identifiées ont été détectées dans le cerveau humain. Les techniques utilisées dans la littérature permettant d'arriver à de telles conclusions incluent la PCR en temps-réel, la RT-PCR, les immunobuvardages de types Northern et Southern, le *dot blot* d'ARN, l'hybridation *in situ*, l'immunobuvardage de type Western et l'immunomarquage. [60]

Cerveau humain

Parmi les 41 isoformes identifiées dans le cerveau humain, 20 isoformes (CYP1A1, 1A2, 1B1, 2B6, 2C8, 2D6, 2E1, 3A4, 3A5, 8A1, 11A1, 11B1, 11B2, 17A1, 19A1, 21A2, 26A1, 26B1, 27B1 et 46A1) ont démontré une localisation précise dans diverses régions du CNS. Les isoformes les plus étudiées dans le cerveau sont le CYP1A1, 1A2, 2B6, 2D6, 2E1 et 46A1. [56, 60, 62-71]

Malgré l'abondance de données dans la littérature quant à ces enzymes, il demeure quelques discordances entre les résultats, reflétant des difficultés de spécificité et de sensibilité des amorces et anticorps en raison de la grande homologie entre les protéines. [61] Le CYP1A1 se trouve de façon prédominante dans les neurones du cortex cérébral, les cellules de Purkinje du cervelet et dans les cellules de l'hippocampe. D'un point de vue subcellulaire, le CYP1A1 est présent à la fois dans la fraction microsomale et mitochondriale. [67] Pour sa part, l'ARNm du CYP1A2 a été détecté dans presque toutes les régions étudiées. [65]

L'isoforme 2A6, présente dans les cellules cérébrales, participe au métabolisme endogène en produisant les acides époxyeicosatriénoïques. [72]

Le CYP2B est présent au niveau des cellules du lobe temporal, du putamen et de la barrière hémato-encéphalique. Plus précisément, la présence du CYP2B6 fut démontrée dans le cerveau humain, et sa distribution est localisée à des niveaux plus élevés dans le cervelet, le ganglion basal et l'hippocampe. CYP2B6 produit également les acides époxyeicosatriénoïques par le métabolisme de l'acide arachidonique. [72]

La famille des CYP2C est exprimée constitutivement dans les cerveaux d'humains et de rongeurs. CYP2C13 se retrouve parmi plusieurs structures cérébrales telles que le cortex, l'hippocampe, le ganglion basal et les régions olfactives. [60] Les preuves d'expression protéique de CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 et CYP2C19 dans le cerveau sont limitées, sans doute en raison d'un manque de spécificité d'anticorps. Cependant, les résultats de RT-PCR obtenus sont probants : l'ARNm des différentes isoformes est présent dans le cerveau humain. [56] On a également cerné leur participation dans le métabolisme des eicosanoïdes. [72]

Le CYP2D6, également identifié dans le cerveau humain, se trouve dans les neurones du cortex cérébral, de l'hippocampe et au niveau des cellules de Purkinje du cervelet.

Le CYP2E1, responsable entre autres du métabolisme de l'éthanol, est exprimé constitutivement dans le cerveau humain. Cette expression est cependant

hétérogène et prédominante dans les neurones corticaux, du gyrus dentelé, de l'hippocampe et des cellules de Purkinje du cervelet.

Au niveau du cerveau humain, l'activité métabolique du CYP2J2 a été démontrée par la biotransformation de l'acide arachidonique. [72]

Les membres de la sous-famille du CYP3A, bien qu'impliqués dans le métabolisme de près de 50% des médicaments à usage thérapeutique, connaissent une distribution peu élucidée. Le CYP3A5 a été retrouvé dans les cellules pituitaires, où on le croit impliqué dans la régulation de la sécrétion de l'hormone de croissance.

Au cours des dernières années, l'étude du CYP4F a permis d'associer ces enzymes à un rôle à fois dans le métabolisme de xénobiotiques et dans la régulation des concentrations d'eicosanoïdes. [73] L'activité du CYP4F2 dans le cerveau humain a été démontrée par la production abondante d'acides hydroxyeicosatetraénoïques. [72, 74]

Cerveau de rat

L'expression du CYP1A1 est localisée fortement au niveau des méninges, avec une expression constitutive faible dans le parenchyme cérébral. [75, 76]

Les isoformes CYP2A1 et CYP2B1, chez le rat, ont été détectées dans le cerveau en utilisant la méthode du RT-PCR. La participation du CYP2B1 dans le métabolisme de l'acide arachidonique, par la production d'acides époxyeicosatriénoïques, témoigne de son activité catalytique dans le cerveau. [72] Les CYP2C11 et CYP2C23 sont présents dans le cerveau de rat, détectés en utilisant les méthodes du RT-PCR et immunobuvardage de type Western. Le CYP2C23 métabolise l'acide arachidonique. [72, 77] Chez les rongeurs, l'expression génique et protéique du CYP2D est localisée à plus forte concentration dans les régions du cervelet, de l'hippocampe et du bulbe olfactif, tant dans les neurones que les cellules gliales. De plus, les membres de la sous-famille CYP2D (CYP2D1-6;18) possèdent un patron de distribution individuel par rapport aux régions cérébrales. [61] L'activité catalytique du CYP2D1, dont l'équivalent chez l'humain, le CYP2D6 issu d'un gène polymorphique, a été démontrée par la biotransformation de l'imipramine et du dextrométorphan dans les microsomes de cerveau de rat. [68, 71, 78-80]

Les études destinées à démontrer la présence de CYP3A dans le cerveau ont révélé une expression constitutive d'ARNm et de protéine de CYP3A1. Les résultats indiquent également des niveaux d'activité catalytique inégaux dans le CNS : l'hypothalamus démontrant la plus forte activité catalytique, suivi du cortex frontal et du cervelet. L'activité catalytique a été évaluée par la déméthylation de l'érythromycine. La présence importante de CYP3A1 a été notée dans l'hypothalamus et l'hippocampe. Puisque ces régions sont la cible

d'hormones stéroïdiennes, les résultats suggèrent que les isoenzymes du CYP3A soient impliqués non seulement dans le processus de détoxification de xénobiotiques, mais également dans le métabolisme de substrats endogènes dans le cerveau. [81]

Les enzymes des sous-familles CYP4A et CYP4F ont été identifiées dans le cerveau de rongeurs et démontrent une distribution différente dans les diverses structures cérébrales. [82] L'enzyme CYP4X1, possédant entre 41 et 51 % d'homologie de séquence nucléotidique avec les CYP4A, CYP4B et CYP4F, est exprimée de façon spécifique et en quantité abondante dans le cerveau de rat, tel que déterminé par immunobuvardage de type Northern. L'hybridation *in situ* situe l'enzyme dans les neurones du tronc cérébral, de l'hippocampe, du cervelet, du cortex ainsi que dans les cellules endothéliales. Le rôle précis de cette isoforme n'est pas encore élucidé, mais les hypothèses récentes lui attribuent une fonction neurovasculaire. [83] Le CYP4F1, détecté dans le cerveau de rat par RT-PCR, possède une activité catalytique importante comme en témoigne la production efficace d'acides hydroxyeicosatétraénoïques. [72] D'après plusieurs groupes de recherche, la présence de CYP4F dans le cerveau de rat impliquerait des conséquences importantes dans la modulation de l'inflammation neuronale, ainsi que dans le métabolisme de substances exogènes psychoactives, telles que la chlorpromazine, la benzphétamine, l'éthylmorphine et l'imipramine. [73, 84-86]

Métabolisme endogène et homéostasie médiés par les CYP450 dans le cerveau

Longtemps considérés comme ayant un rôle circonscrit au métabolisme hépatique de xénobiotiques, les enzymes du CYP450 se révèlent depuis peu comme des enzymes ubiquitaires hydroxylant maints substrats de divers processus et voies métaboliques. Les isoformes appartenant aux trois premières familles de CYP450 (i.e. CYP1, CYP2 et CYP3) participent principalement à la biotransformation des xénobiotiques, mais également à la réactivité vasculaire. Les autres familles sont impliquées dans le métabolisme des endobiotiques et de composés endogènes, notons au passage le cholestérol, les stéroïdes, l'acide arachidonique et la vitamine D₃.

Bien que le métabolisme cérébral ne constitue qu'une faible proportion du métabolisme total de l'organisme, des variations du métabolisme *in situ*, dans un organe aussi sensible, s'ajoutent à la diminution d'activité métabolique des enzymes hépatiques et intestinaux de la famille du CYP450, ainsi qu'à une diminution de l'excrétion des médicaments, tel que précédemment publié. [42-45]

Cholestérol et acides gras

La cascade de catalyse de l'acide arachidonique, et plus particulièrement le rôle qu'y joue le CYP450, connaît un intérêt grandissant. En effet, plusieurs études soulève l'importance des CYP2 et CYP4 dans le métabolisme de l'acide

arachidonique, une chaîne d'acides gras polyinsaturés estérifiés aux phospholipides membranaires. L'acide arachidonique est métabolisé par les cyclooxygénases en une variété de produits dont les plus connus sont les prostaglandines et les leucotriènes. Cependant, les CYP450 catalysent la conversion de l'acide arachidonique en acides hydroeicosatétraénoïques et époxyeicosatriénoïques. [87-91] Les acides époxyeicosatriénoïques sont produits dans les astrocytes associés aux microvaisseaux et plusieurs proposent leur implication dans la modulation du flot sanguin. [92-94]

De plus, les acides époxyeicosatriénoïques sont synthétisés dans la glande pituitaire et dans l'hypothalamus, où ils favorisent la relâche de neuropeptides. [95]

Principalement issus du métabolisme par la sous-famille du CYP4A, les acides hydroeicosatétraénoïques constituent des agents vasoconstricteurs puissants. [82, 94, 96] Ils auraient dans le cerveau un effet important sur l'apport sanguin à l'organe, affectant les fonctions cérébrales et les pathologies cérébro-vasculaires. [82, 94]

Stéroïdes et hormones

Il est depuis longtemps reconnu que les hormones stéroïdiennes possèdent une influence importante sur la croissance et le développement du cerveau. Aussi, il fut aisément démontré que celles-ci traversent sans difficulté la barrière hémato-

encéphalique en raison de leur lipophilicité. La synthèse de ces hormones a lieu principalement dans les glandes surrénales et les gonades. Cependant, le cerveau participe également à cette synthèse de stéroïdes par la production de neurostéroïdes. [97-100] Dans le cerveau humain, il a été démontré que des enzymes du CYP450 participent à la modulation de la voie androgène par le métabolisme du 17- β -estradiol par le CYP1A. [24] Le métabolisme du pregnenolone et du déhydroépiandrosterone (DHEA) par le CYP1A présent dans les microsomes de cerveau de souris suggère l'implication du CYP450 dans le métabolisme des dérivés stéroïdiens. [101]

Neurotransmetteurs

○ Sérotonine

Au niveau du cerveau, le CYP2D6 catalyse la réaction de biotransformation de 5-méthoxytryptamine en sérotonine, un neurotransmetteur. [60]

○ Dopamine

La dopamine résulte de l'hydratation de l'acide aminé L-tyrosine en L-DOPA par l'activité enzymatique de la tyrosine hydroxylase. Pourtant, cette catécholamine peut également être formée par l'hydroxylation de tyramine via le CYP2D6. [60] Cependant, il est à noter que CYP2D6 ne joue pas un rôle de premier plan dans la synthèse de dopamine, mais aurait plutôt un effet modulateur du métabolisme de ce neurotransmetteur. [61] L'isoenzyme CYP2E1 a également été identifiée dans les cellules dopaminergiques du

cerveau et est proposé comme participant au métabolisme de la dopamine.

[102]

Hypothèse de la régulation des enzymes du CYP450 dans le cerveau de rats atteints d'insuffisance rénale chronique

L'expression démontrée des enzymes du CYP450 dans les cellules du cerveau de rat ainsi que des données préliminaires quant à la régulation de ces enzymes dans diverses situations pathologiques nous incitent à vérifier si l'insuffisance rénale chronique affecte l'expression des enzymes dans le cerveau de rats atteints d'insuffisance rénale chronique.

Peu de groupes d'études se sont penchées sur les répercussions d'une atteinte rénale sur l'expression des enzymes du CYP450 dans le cerveau de rat.

Certaines étudient l'impact de facteurs immunologiques ou de cellules du système immunitaire sur l'expression de divers isoformes du CYP450. [103]

Les concepts précités et les données de la littérature permettent la formulation de l'hypothèse qu'une diminution de la fonction de filtration rénale, donc l'insuffisance rénale en l'occurrence, entraîne une modification de l'activité des protéines fonctionnelles chez le rat. Les protéines étudiées, appartenant à la famille du cytochrome CYP450, possèdent un rôle de premier plan dans le métabolisme des médicaments. Sachant que cette modification dans l'activité fonctionnelle des enzymes du CYP450 se produit dans certains organes tels le foie et l'intestin, nous avançons le questionnement suivant : L'expression des enzymes du CYP450 est-elle modulée dans d'autres organes de l'organisme dans un contexte d'insuffisance rénale chronique? Ceci nous incite à évaluer

l'expression et l'activité enzymatique des CYP450 dans le cerveau de rat atteint d'insuffisance rénale chronique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Modèle expérimental

Des rats mâles Sprague-Dawley (Charles River, Saint-Charles, Qué, Canada), de poids entre 200 et 300 g ont été conservés au Centre animalier du centre de recherche et nourris de granules pour rats Purina et d'eau *ad libitum*. Une période d'acclimatation de 7 jours a précédé toute expérimentation. Toutes les expérimentations se sont déroulées conformément aux lignes directrices du Conseil Canadien de Protection des Animaux pour les soins et traitements des animaux de laboratoire.

L'insuffisance rénale chronique a été induite par une néphrectomie sub-totale effectuée en deux temps, tel que publié précédemment. En résumé, les rats ont subi une néphrectomie de 5/6 du rein gauche et 7 jours plus tard, une néphrectomie totale du rein droit. Les rats du groupe témoin ont subis deux laparotomies blanches. Suite à la chirurgie, les rats atteints d'insuffisance rénale chronique ont reçu une diète de granules pour rats Purina et d'eau *ad libitum*. Les rats du groupe témoin, ayant subi deux laparotomies blanches, aux jours 1 et 8, ont reçu la même quantité de nourriture Purina qu'avaient consommés les rats atteints d'insuffisance rénale chronique le jour précédent. Au jour 41 après la néphrectomie, les rats ont été placés en cage métabolique où l'urine a pu être récoltée pendant une durée de 24 heures. Ceci a permis de déterminer la clairance

de créatinine. Les rats ont été sacrifiés par décapitation au jour 42. Le sang recueilli suite à la décapitation a été gardé à la température ambiante pour coagulation. Suite à la coagulation, le sérum a été recueilli par centrifugation (600 g pour 10 minutes à 4°C). Les échantillons ont été analysés afin de mesurer la créatinine sanguine et l'urée. Le sérum résiduel a été conservé à -80°C. Les échantillons de sérum utilisés pour les d'expérimentations d'incubation ont été obtenus de rats des groupes IRC (insuffisance rénale chronique), IRC-PTX (insuffisance rénale chronique et parathyroïdectomie), CTL (témoin) et CTL-PTX (témoin et parathyroïdectomie) au moment du sacrifice.

La parathyroïdectomie totale (PTX) consiste en l'ablation des glandes parathyroïdes. Brièvement, la parathyroïdectomie chirurgicale s'effectue sous microscope, en évitant d'endommager les tissus adjacents de la thyroïde. Une parathyroïdectomie réussie est confirmée par une diminution significative des taux de calcium suite à la chirurgie. Afin d'éviter l'hypocalcémie, les animaux ayant subi une PTX ont été supplémenté en calcium par l'ajout de gluconate de calcium dans l'eau. Une période de récupération d'une semaine a suivi la chirurgie avant que les animaux ne subissent la néphrectomie sub-totale. Les rats du groupe témoin ont subi une incision au niveau du cou.

Immunoabsorption de la PTH des sérums urémiques

La déplétion en PTH des sérums de rats atteints d'insuffisance rénale

chronique a été préparée grâce aux billes de polystyrène (8,4 mm) sur lesquelles se trouvent des anticorps de chèvre spécifiques à la région N-terminale (1-34) de la PTH de rat. (Alpco Diagnostics, Windham, NH). Chaque bille possède la capacité de lier plus de 400 pg de PTH. Les sérums de rat ont été incubés à 4°C pendant 16 heures avec les billes (7 billes/ml de sérum). Suite à la déplétion en PTH, les sérums traités ont été ajoutés au milieu de culture (10%) et filtrés sur un filtre de 0,22 µm. Les échantillons de sérum déplétés ont été conservés à des fins de quantification de la PTH suite à la déplétion. Les échantillons non-déplétés de sérums des rats du groupe témoin et du groupe atteint d'insuffisance rénale chronique ont été incubés et traités de la même manière.

Isolation et culture d'astrocytes

Les astrocytes ont été isolés de 10 rats nouveau-nés âgés de 2 jours selon une version modifiée de la méthode publiée par McCarthy et al. [104]. Brièvement, les cortex des animaux ont été digérés mécaniquement de manière à obtenir une suspension cellulaire. Les cellules ont ensuite été transférées en flasques de culture cellulaire de 75 mm² en utilisant du DMEM/F12 contenant 10% de FBS, 1% de glutamine et 1% d'antibiotiques (pénicilline/streptomycine). Les cellules ont été incubées dans 10 ml de milieu de culture à 37°C dans un incubateur humidifié contenant 5% de CO₂ et 95% d'air atmosphérique. Les milieux ont été renouvelés toutes les 48 à 72 heures. Entre 7 et 9 jours ont été nécessaires pour obtenir la confluence des cellules. Les cellules ont été agitées horizontalement à

350 rpm à 35°C pendant 6 heures afin de séparer les oligodendrocytes des astrocytes. Suite à une pré-incubation, le milieu de culture a été changé avec 10 ml de milieu William E contenant 10% de sérum de rat IRC, IRC-PTX ou de rat du groupe témoin. Le sérum d'un rat a servi à une seule expérimentation. Ensuite, les astrocytes ont été incubés pour une période supplémentaire de 24 heures. Les astrocytes ont été récoltés par râclage dans du tampon phosphate-saline. Pour les échantillons destinés à l'analyse d'ARNm, le tampon RLT (Qiagen, Mississauga, Ont, Canada) a été utilisé. Tous les échantillons ont été entreposés à -80°C jusqu'au moment de l'analyse.

Préparation de microsomes à partir d'homogénats de cerveau

Les microsomes de cerveau ont été isolés par centrifugations différentielles. En résumé, 0,5 g de cerveau de rat auquel ont été ajoutés 2,5 ml de solution de sucrose 0,25 M. Le potter teflon-verre a été utilisé pour l'homogénéisation. La première centrifugation s'est faite à 600 x g pendant 8 minutes. Le surnageant a été centrifugé à 12 000 x g pendant 10 minutes. Le nouveau surnageant a été ajouté à 225 µl de CaCl₂-2H₂O 1 M puis centrifugé de nouveau à 27 000 x g pendant 15 minutes. Cette fois-ci, le culot ont été conservé et un total de 2,5 ml de KCl 1,15% a été ajouté à celui-ci et homogénéisé à l'aide du potter téflon-verre. le tout a été centrifugé de nouveau à 27 000 x g pendant 15 minutes. Le culot contenant les microsomes a été resuspendu dans une solution saline à 0,9% NaCl et entreposé à -80°C jusqu'au moment de l'analyse.

Immunobuvardage de type Western

Bien que plus d'une isoforme du cytochrome P450 prennent part au métabolisme des médicaments, nos études tentent de déterminer les quantités relatives des CYP1A, CYP2C11 et CYP3A puisque ceux-ci sont modulés dans le foie et l'intestin secondairement à l'insuffisance rénale chronique, tel que rapporté précédemment [41, 52]. Les isoenzymes du cytochrome P450 ont été détectées par l'utilisation des anticorps anti-1A1, 2C11 et 3A de rat, provenant de la chèvre (Gentest Corporation, Woburn, MA). Les protéines de glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) furent détectées par l'utilisation d'un anticorps anti-GAPDH de poulet fabriqué chez la souris (Neo-Markers, Fremont, CA). Les complexes immuns furent révélés par des anticorps secondaires (anticorps anti-IgG de chèvre fabriqué chez le porc couplé à la peroxydase de Biosource International ou anticorps anti-IgG de souris fabriqué dans la chèvre couplé à la peroxydase de Sigma) ainsi que les dérivés Luminol des substrats Lumi-Light pour immunobuvardage de type Western (Roche Diagnostics). L'intensité des réactions immunes fut évaluée par densitométrie assistée par ordinateur sur l'appareil Fuji LAS-3000 LCD à l'aide du programme MultiGauge (Fuji Film).

Isolation d'ARN et analyse par réaction de polymérisation en chaîne en temps réel

L'ARN total du cerveau fut isolée par la méthode du Trizol (Invitrogen).

Un μg de l'ARN total fut utilisé pour la préparation de l'ADNc suite à la transcription inverse faite grâce aux réactifs et colonnes Omniscript RT de Qiagen et les amorces aléatoires de Invitrogen (Burlington, Ont, Canada). Les réactifs Platinum SYBR green qPCR (Invitrogen) ont permis de quantifier la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) sur l'appareil iCycler Real-Time Detection System (Bio-Rad Laboratories, Mississauga, Ont, Canada). Des amorces spécifiques à tous les ARNm testés (*CYP1A*, *CYP2C11*, *CYP3A* et *GAPDH*) ont été obtenues grâce aux séquences génétiques publiées et au programme informatique Jellyfish. Le gène rapporteur fut celui de la GAPDH. Toutes les amorces furent fournies par Sigma et leur spécificité fut confirmée par séquençage des produits de PCR obtenus grâce à l'appareil d'analyse ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, Foster City, CA). Les conditions de PCR furent optimisées à 95°C pendant 15 secondes, 59°C pendant 30 secondes et 72°C pendant 60 secondes. Les produits de PCR furent clonés dans le vecteur pCr 2.1 en utilisant le TA Cloning Kit (Invitrogen). Les plasmides ainsi obtenus furent purifiés par le Hispeed Plasmid Midi Kit de Qiagen, quantifiés à 260 nm et dilués de sorte à obtenir une courbe d'étalonnage.

Mesure de l'activité de CYP3A

Afin de mesurer l'activité enzymatique de l'isoforme CYP3A dans les microsomes d'astrocytes traités ou de cerveau entier, nous avons eu recours à une sonde fluorescente. Tel que publié précédemment, le 3-[(3,4-difluorobenzyl)oxy]-5,5-diméthyl-4-[4-méthylsulfonylphényl]furan-2(5H)-one (DFB) est un substrat métabolisé spécifiquement par l'isoforme CYP3A2 du rat. [105] Afin de déterminer l'activité de CYP3A dans les microsomes, 200 µg de protéines ont été incubés avec le substrat. Le métabolite fluorescent formé (DFH) a été analysé grâce au cytofluoromètre (Cytofluor 4000/TR, Perspective Biosystems, Framingham, MA) en utilisant les paramètres de longueur d'onde appropriés (filtre d'excitation: 360/40 nm; filtre d'émission: 460/40 nm). Une courbe d'étalonnage avait été préalablement préparée grâce à des dilutions connues de DFH. Pour les astrocytes, le DFB a été ajouté directement au milieu de culture en remplacement du milieu de culture ajouté de tampon Krebs contenant 12,5 mM d'acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique (HEPES).

Analyse biochimique du sang et d'urine

L'analyse des concentrations sanguines d'urée, de créatinine et de calcium, ainsi que les concentrations urinaires de créatinine furent effectuées grâce à l'autoanalyseur Hitachi 717 (Roche). La PTH fut mesurée en utilisant un test ELISA pour PTH intacte de rat (Alpco Diagnostics), mesurant la 1-84

PTH. 15 pg/ml représente le niveau détecté le plus faible.

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm la dérivation standard de la moyenne. La différence entre les groupes fut analysée par un test *t* de Student non pairé ou un test ANOVA. Un résultat significatif d'ANOVA fut suivi d'une analyse post-hoc de Scheffe. Le seuil de significativité fut $p < 0,05$.

RÉSULTATS

1. Expression protéique *in vivo* des enzymes du cytochrome P450 dans le cerveau de rat

Expression de l'isoforme 1A1/2 du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

Dans les différentes parties du cerveau, c'est-à-dire au niveau du cortex, du parenchyme cérébral, du cervelet et de l'hippocampe, l'expression protéique des isoformes 1A1/2 est significativement diminuée de respectivement 69, 35, 61 et 41% chez les rats atteints d'insuffisance rénale chronique par rapport aux rats témoins (Figure 1).

Expression de l'isoforme 2C11 du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

Au niveau du cortex, du parenchyme cérébral, du cervelet et de l'hippocampe, l'expression protéique de l'isoforme 2C11 est significativement diminuée de respectivement près de 80, 50, 70 et 55% par rapport aux rats témoins (Figure 3).

Expression de l'isoforme 3A1/2 du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

Dans les différentes parties du cerveau, c'est-à-dire au niveau du cortex, du parenchyme cérébral, du cervelet et de l'hippocampe, l'expression protéique des isoformes 3A1/2 est diminuée de respectivement 55, 40, 61 et 84% par rapport aux rats témoins (Figure 6).

Expression des sous-familles 2D et 4A du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

Pour les sous-familles 2D et 4A, l'expression protéique est décelée dans les échantillons obtenus des rats atteints d'insuffisance rénale chronique, mais demeure inchangée par rapport aux rats témoins.

2. Expression génique *in vivo* des enzymes du cytochrome P450 dans le cerveau de rat

Expression de l'isoforme 1A1/2 du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

Chez le rat atteint d'insuffisance rénale chronique, l'expression génique de l'isoforme 1A1/2 est quant à elle diminuée de 52, 49, 28 et 37% dans le cortex,

le parenchyme cérébral, le cervelet et l'hippocampe, respectivement, par rapport au niveau d'ARNm des échantillons provenant des rats témoins (Figure 4).

Expression de l'isoforme 2C11 du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

L'expression génique de l'isoforme 2C11 est quant à elle diminuée significativement de 63 et 68% dans le parenchyme cérébral et le cervelet, respectivement, des rats atteints d'insuffisance rénale chronique par rapport aux rats témoins. Au niveau du cortex et de l'hippocampe, l'expression génique demeure inchangée par rapport au niveau d'ARNm des échantillons provenant des rats témoins (Figure 5).

Expression de l'isoforme 3A1/2 du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

L'expression de l'ARNm de l'isoforme 3A1/2 est quant à elle diminuée de respectivement 70, 35, 34 et 45% dans le cortex, le parenchyme cérébral, le cervelet et l'hippocampe par rapport au niveau d'ARNm des échantillons provenant des rats témoins (Figure 7).

Expression des sous-familles 2D et 4A du cytochrome P450 dans les différentes parties du cerveau de rat

Pour les sous-familles 2D et 4A, l'expression génique est décelée dans toutes les structures cérébrales étudiées, mais demeure inchangée entre les rats témoins et les rats atteints d'insuffisance rénale chronique.

3. Activité enzymatique *in vitro* de la sous-famille 3A dans les microsomes de cerveau de rat

La quantification de l'activité enzymatique de l'isoforme CYP3A par le métabolisme du 3-[(3,4-difluorobenzyl)oxy]-5,5-diméthyl-4-[4-méthylsulfonylphényl]furan-2(5H)-one en DFH démontre une diminution d'activité de 40% dans les microsomes de rats atteints d'insuffisance rénale chronique par rapport aux rats témoins (Figure 8).

4. Effet du sérum de rats atteints d'insuffisance rénale chronique sur les enzymes du cytochrome P450 *in vitro* sur les astrocytes de rat

Effet sur l'expression génique des enzymes du cytochrome P450

L'expression génique de l'isoforme 2C11 a également été analysée dans des astrocytes de rat en culture incubés avec du sérum de rats urémiques.

L'expression d'ARNm de l'isoforme 2C11 représente une diminution de près de 70% par rapport à l'expression dans les astrocytes incubés en présence de sérum de rats témoins (Figure 4).

5. Effet de la PTH sur l'expression des enzymes du cytochrome P450 dans le cerveau de rat

Effet de la PTX sur l'expression *in vivo* des enzymes du cytochrome P450

Les résultats obtenus de l'étude de la parathyroïdectomie chirurgicale sur l'expression des enzymes du cytochrome P450 démontrent une récupération partielle dans l'expression protéique des enzymes chez les animaux PTX par rapport aux animaux témoins. Aucun des résultats ne démontre une différence statistiquement significative d'avec les rats témoins. Ainsi, même les résultats obtenus avec des échantillons issus de rats atteints d'insuffisance rénale chronique ne sont pas statistiquement différents de l'expression protéique des isoformes 1A1/2 (Figure 9), 2C11 (Figure 10) et 3A1/2 (Figure 11) effectués lors de ces expériences, résultats différents de ceux précédemment obtenus.

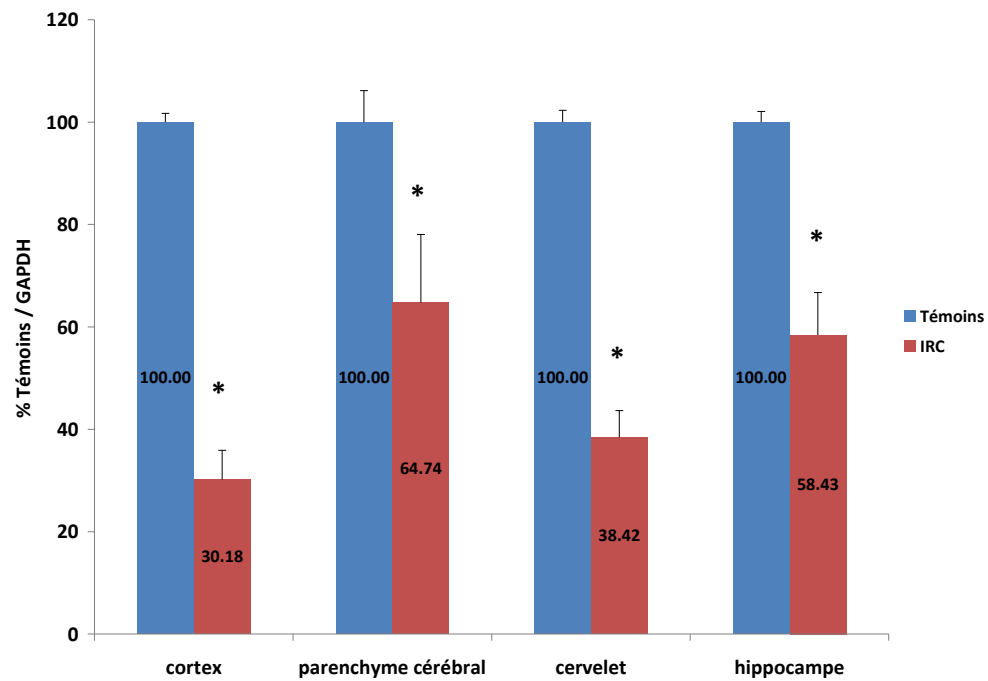


Figure 1 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 1A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat.

Un homogénat de microsomes de chaque partie de cerveau (75 µg) et un contrôle positif commercial ont été analysés par immunobuvardage de type Western. Des anticorps spécifiques pour l'isoforme 1A1/2 de rat et pour une protéine constitutive, la GAPDH, ont été utilisés. L'intensité des bandes protéiques est exprimée en unités normalisées densitométriques. *p < 0,05 par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes ± SEM, n = 9 par groupe.

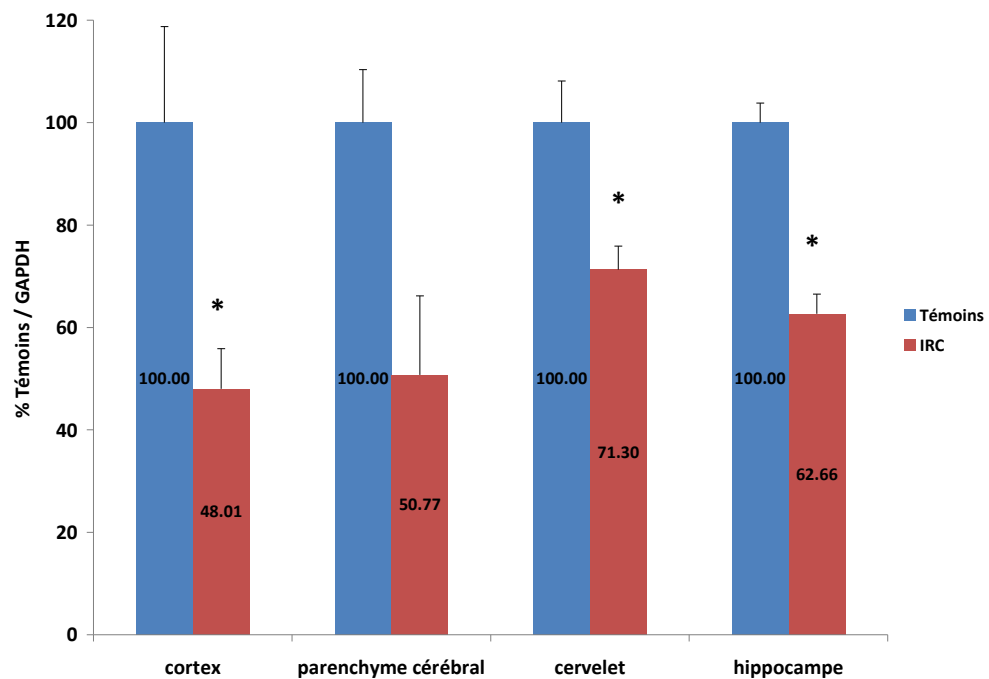


Figure 2 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 1A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat. Un μg de l'ARN total fut utilisé pour la préparation de l'ADNc. La réaction de polymérisation en chaîne fut quantifiée sur l'appareil iCycler Real-Time Detection System grâce à des amorces spécifiques. Le gène rapporteur fut celui de la GAPDH. * $p < 0,05$ par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes \pm SEM, $n = 6$ par groupe.

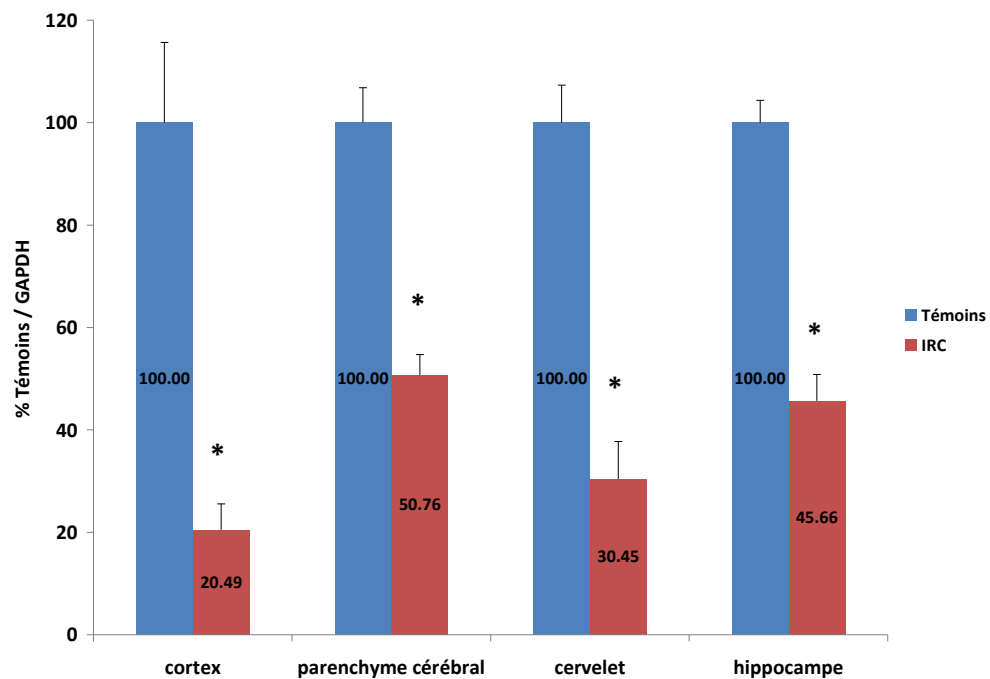


Figure 3 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 2C11 dans les microsomes de cerveau de rat. Un homogénat de microsomes de chaque partie de cerveau (75 µg) et un contrôle positif commercial ont été analysés par immunobuvardage de type Western. Des anticorps spécifiques pour l'isoforme 2C11 de rat et pour une protéine constitutive, la GAPDH, ont été utilisés. L'intensité des bandes protéiques est exprimée en unités normalisées densitométriques. * $p < 0,05$ par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes \pm SEM, $n = 6$ par groupe.

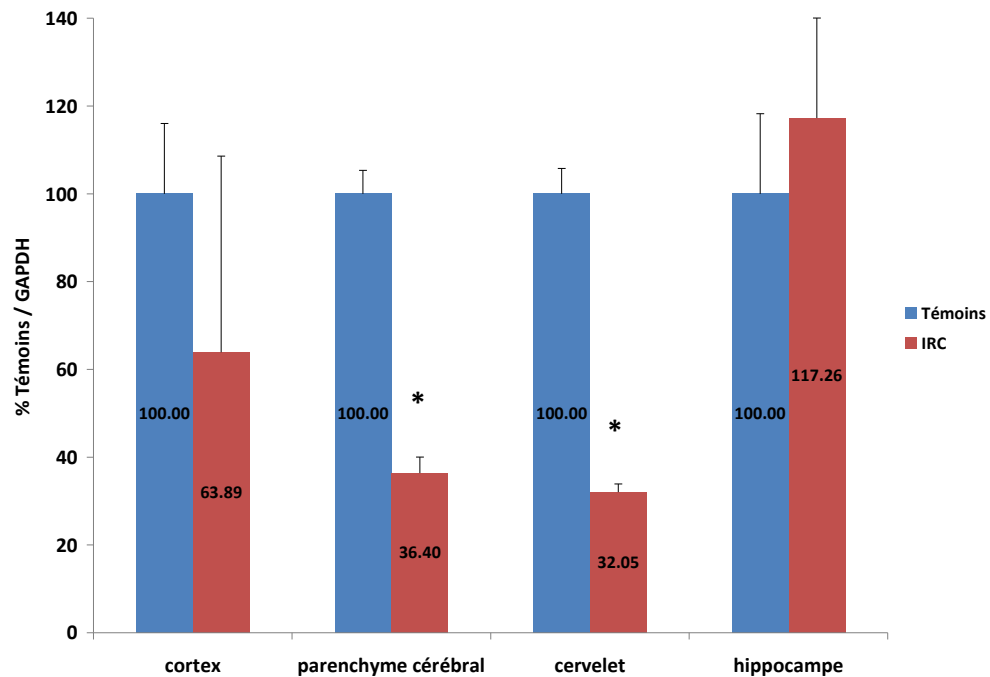


Figure 4 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 2C11 dans les microsomes de cerveau de rat. Un μg de l'ARN total fut utilisé pour la préparation de l'ADNc. La réaction de polymérisation en chaîne fut quantifiée sur l'appareil iCycler Real-Time Detection System grâce à des amorces spécifiques. Le gène rapporteur fut celui de la GAPDH. * $p < 0,05$ par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes \pm SEM, $n = 6$ par groupe.

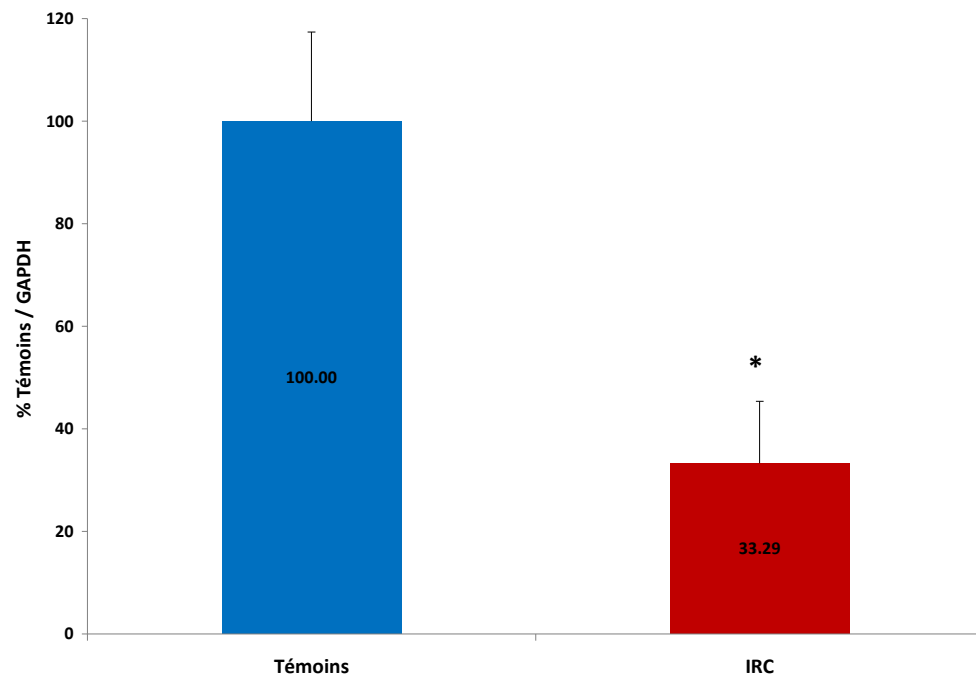


Figure 5 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 2C11 dans les astrocytes de rat incubés en présence de sérum de rats urémiques. Un μg de l'ARN total fut utilisé pour la préparation de l'ADNc. La réaction de polymérisation en chaîne fut quantifiée sur l'appareil iCycler Real-Time Detection System grâce à des amorces spécifiques. Le gène rapporteur fut celui de la GAPDH. * $p < 0,05$ par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes \pm SEM, $n = 6$ par groupe.

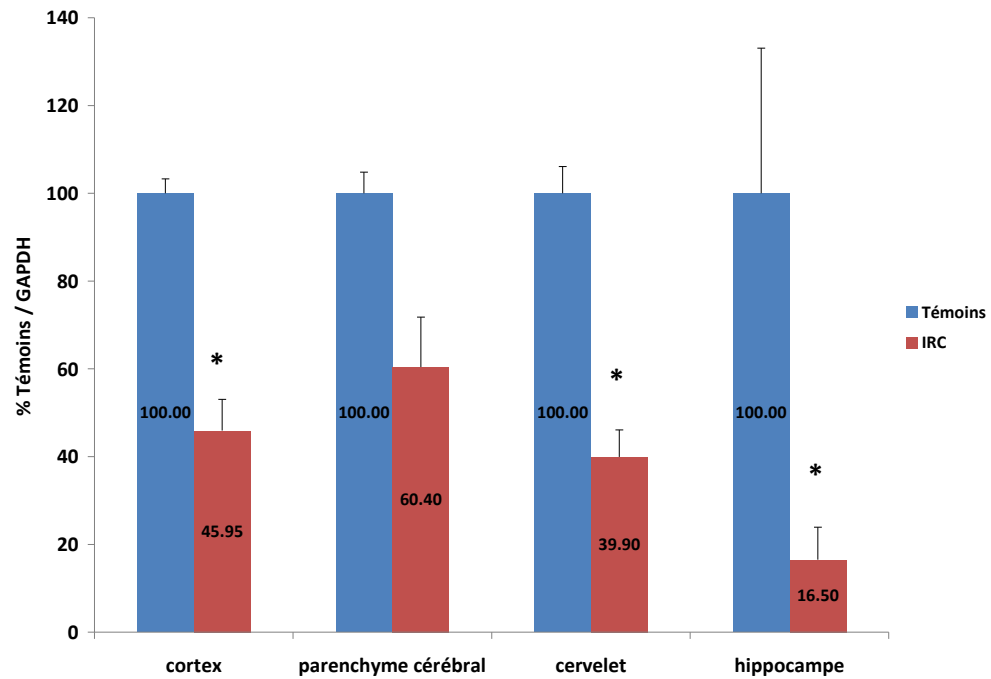


Figure 6 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 3A dans les microsomes de cerveau de rat. Un homogénat de microsomes de chaque partie de cerveau (75 µg) et un contrôle positif commercial ont été analysés par immunobuvardage de type Western. Des anticorps spécifiques pour l'isoforme 3A1/2 de rat et pour une protéine constitutive, la GAPDH, ont été utilisés. L'intensité des bandes protéiques est exprimée en unités normalisées densitométriques. *p < 0,05 par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes ± SEM, n = 6 par groupe.

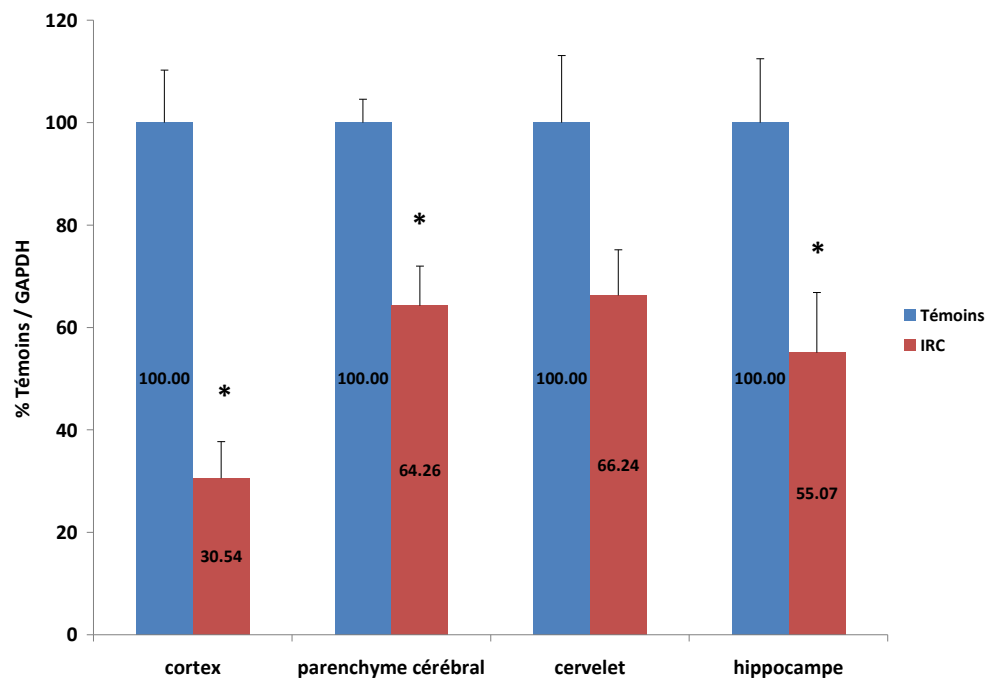


Figure 7 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression génique de l'isoforme 3A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat. Un μg de l'ARN total fut utilisé pour la préparation de l'ADNc. La réaction de polymérisation en chaîne fut quantifiée sur l'appareil iCycler Real-Time Detection System grâce à des amorces spécifiques. Le gène rapporteur fut celui de la GAPDH. * $p < 0,05$ par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes \pm SEM, $n = 7$ par groupe.

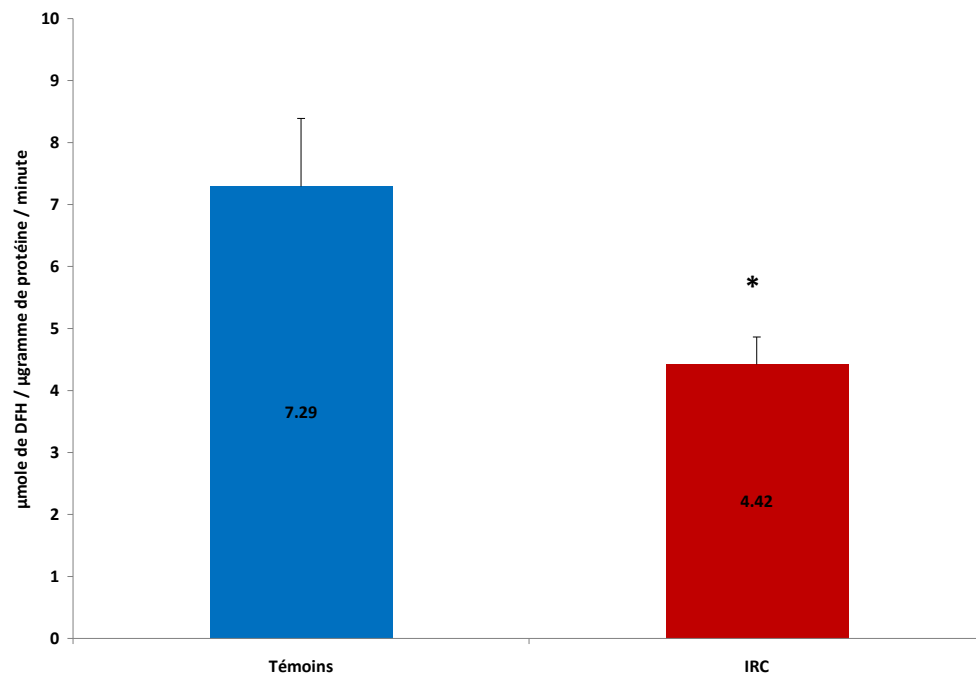


Figure 8 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'activité enzymatique de l'isoforme 3A1/2 dans les microsomes de cerveau de rat.

L'activité enzymatique dans les microsomes du parenchyme cérébral (100 μ g) ont été analysés par métabolisme du DFB en DFH. La production de DFH est évaluée en μ mole de DFH produit par μ gramme de protéines par minute. * $p < 0,05$ par rapport aux rats témoins. Les données sont des moyennes \pm SEM, $n = 11$ par groupe.

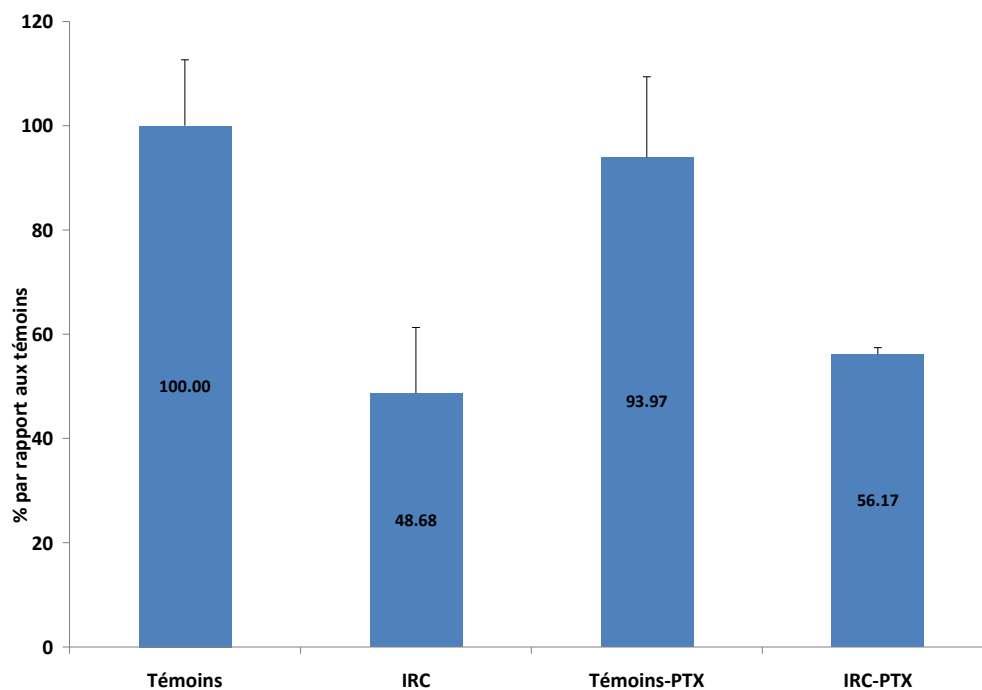


Figure 9 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 1A dans les microsomes de cerveau de rat. Un homogénat de microsomes du cerveau de rat de chaque groupe (IRC, CTL, PTX et IRC-PTX) (75 µg) et un contrôle positif commercial ont été analysés par immunobuvardage de type Western. Des anticorps spécifiques pour l'isoforme 1A1/2 de rat et pour une protéine constitutive, la GAPDH, ont été utilisés. L'intensité des bandes protéiques est exprimée en unités normalisées densitométriques. Les données sont des moyennes \pm SEM, n = 5 par groupe.

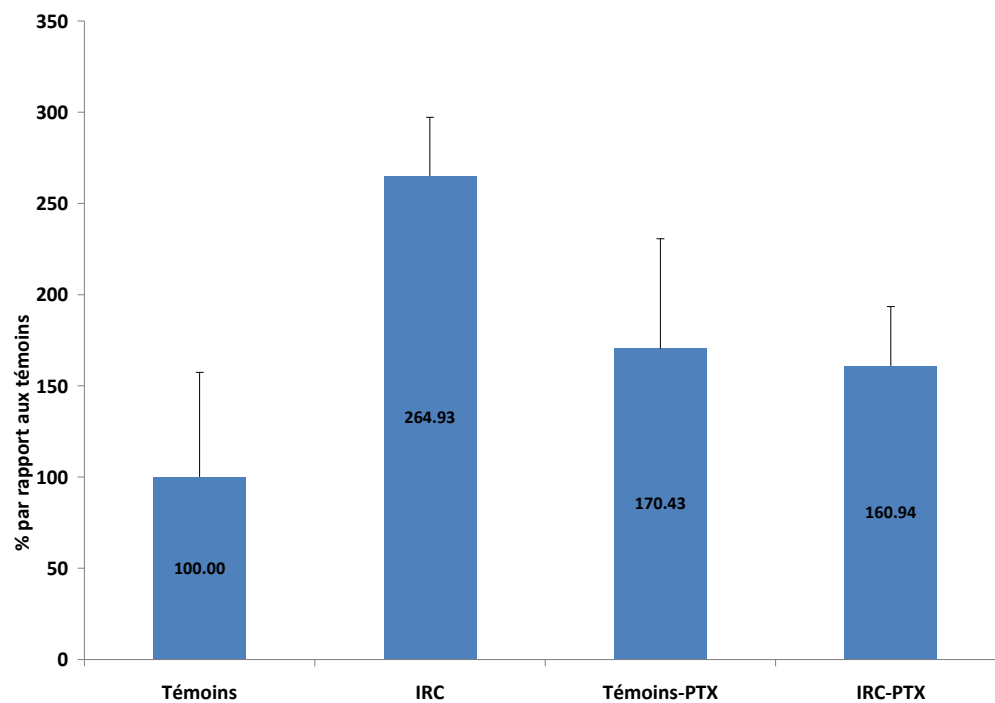


Figure 10 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 2C dans les microsomes de cerveau de rat. Un homogénat de microsomes du cerveau de rat de chaque groupe (IRC, CTL, PTX et IRC-PTX) (75 µg) et un contrôle positif commercial ont été analysés par immunobuvardage de type Western. Des anticorps spécifiques pour l'isoforme 2C11 de rat et pour une protéine constitutive, la GAPDH, ont été utilisés. L'intensité des bandes protéiques est exprimée en unités normalisées densitométriques. Les données sont des moyennes \pm SEM, n = 5 par groupe.

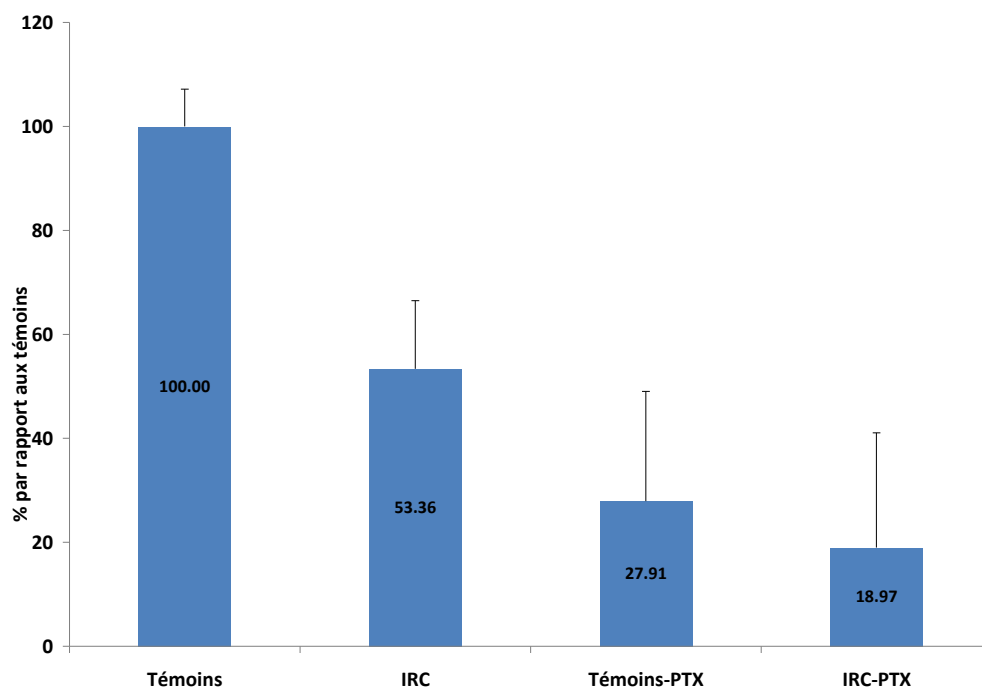


Figure 11 : Effet de l'insuffisance rénale chronique (IRC) sur l'expression protéique de l'isoforme 3A dans les microsomes de cerveau de rat. Un homogénat de microsomes du cerveau de rat de chaque groupe (IRC, CTL, PTX et IRC-PTX) (75 μ g) et un contrôle positif commercial ont été analysés par immunobuvardage de type Western. Des anticorps spécifiques pour l'isoforme 3A1/2 de rat et pour une protéine constitutive, la GAPDH, ont été utilisés. L'intensité des bandes protéiques est exprimée en unités normalisées densitométriques. Les données sont des moyennes \pm SEM, n = 5 par groupe.

Discussion

Interprétation des résultats obtenus

Effet de l'IRC sur l'expression des enzymes du CYP450

L'objectif principal de cette étude consistait en l'analyse des répercussions de l'insuffisance rénale chronique expérimentale sur l'expression et l'activité des enzymes du CYP450 dans le cerveau de rat. Basée sur des résultats obtenus par l'étude des enzymes hépatiques et intestinales chez le rat, l'hypothèse avancée propose une diminution des enzymes du cerveau causée par un facteur circulant présent dans le sérum des rats atteints d'insuffisance rénale chronique. L'étude du cerveau de rat atteint d'IRC démontre une diminution de l'expression génique et protéique de plusieurs sous-familles du CYP450. Celles-ci sont les CYP1A, CYP2C et CYP3A. L'expression protéique diminuée s'est traduite en une diminution d'activité catalytique de CYP3A, évaluée par le métabolisme du DFB. D'autres sous-familles ont été décelées dans le cerveau de rat : CYP2D et CYP4A. L'expression protéique des CYP2D et CYP4A ne semble pas être modifiée chez les rats atteints d'insuffisance rénale chronique. Puisque les isoformes CYP1A, CYP2C11 et CYP3A jouent un rôle majeur dans le métabolisme des xénobiotiques, la diminution de leur expression et de leur activité peut avoir d'importantes répercussions sur le métabolisme cérébral des médicaments chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique. Dans le but de cibler les facteurs responsables de l'effet observé de l'IRC sur les enzymes du CYP450, l'expression des enzymes a été mesurée dans le

modèle de rat PTX, c'est-à-dire chez des rats ayant subi une parathyroïdectomie chirurgicale. Les résultats obtenus permettent d'affirmer que la chirurgie, consistant en l'ablation des glandes parathyroïdes, permet de rétablir presque complètement l'expression des enzymes de la famille des CYP450. Bien que la parathyroïdectomie ne rétablisse pas complètement l'expression des enzymes du CYP450, cette démonstration identifie clairement l'hormone parathyroïdienne (PTH) comme un des responsables de la régulation à la baisse des enzymes dans le cerveau.

Le fait que l'expression des enzymes ne revienne pas au niveau du groupe témoin peut être expliqué par plusieurs hypothèses. D'abord, il est possible que l'ablation des parathyroïdes ne soit pas entière et qu'une partie de la glande poursuive la sécrétion. Cependant, cette hypothèse est rapidement écartée puisque les niveaux de PTH diminuent. Aussi, il est possible que des facteurs autres que la PTH soient responsables de la diminution des CYP450. De ces facteurs, mentionnons le *parathyroid hormone related peptide* (PTHrP), les cytokines, ainsi que le *fibroblast growth factor-23* (FGF-23) responsable d'inhiber l'activité de la 1α -hydroxylase.

Le PTHrP est une prohormone sécrétée par presque tous les tissus normaux, et participe à la régulation du tonus musculaire lisse, du transport calcique transépithélial ainsi que du développement, de la prolifération et de la

différenciation de tissus et d'organes. Le PTHrP se lie au récepteur de la PTH de type 1 avec autant d'affinité que la PTH elle-même. [106] Des souris mutantes pour le gène du PTHrP ou pour le récepteur de PTH de type 1 meurent à la naissance ou *in utero*, soulignant l'importance de ce facteur dans les fonctions physiologiques. [107]

Le PTHrP demeure indétectable dans le sang de sujets normaux. Il agit de manière paracrine ou autocrine durant le développement fœtal et adulte dans les cellules et tissus sains, incluant l'épithélium, les tissus mésenchymateux, les glandes endocrines ainsi que le système nerveux central. Le rôle précis du PTHrP dans le système nerveux central demeure inconnu. Une étude démontre que le récepteur de la PTH/PTHrP se situe à la membrane des astrocytes et que l'activation du récepteur permettrait la différenciation astrocytaire. Il a également été avancé que le PTHrP pourrait constituer un médiateur de l'inflammation du système nerveux central. Induit par le TNF- α , le PTHrP induit à son tour l'expression de la cytokine pro-inflammatoire IL-6 dans les astrocytes. [108]

Quant aux cytokines, plusieurs groupes de recherche ont soulevé le rôle des cytokines pro-inflammatoires dans la régulation de l'expression des enzymes du métabolisme des médicaments [109] Le rôle joué par les cytokines dans un contexte inflammatoire peut donc être considéré comme un facteur qui, tout comme la PTH, serait responsable de la diminution de l'expression du CYP450

dans le cerveau. Puisque la PTH, le PTHrP ainsi que les cytokines traversent la barrière hémato-encéphalique, ils constituent des candidats potentiels à la régulation des enzymes du CYP450 dans le système nerveux central.

Effet du sérum de rat urémique sur l'expression astrocytaire des enzymes du CYP450

L'objectif de l'utilisation d'astrocytes en culture est de confirmer que les facteurs responsables de la régulation à la baisse des enzymes du CYP450 se retrouvent dans le sérum de rats urémiques. Ainsi, le modèle de culture d'astrocytes a été sélectionné dans le but de vérifier si la présence d'un facteur circulant dans le sérum de rats urémiques pourrait être responsable de la diminution de l'expression des enzymes du CYP450 observée dans les échantillons d'homogénat de cerveau de rats atteints d'IRC. Les astrocytes expriment les enzymes des CYP450 et constituent un modèle largement accepté et utilisé dans la littérature. L'incubation pendant 48 heures d'astrocytes sains en présence de milieu contenant 10% de sérum de rats atteints d'IRC a permis de confirmer l'hypothèse d'un facteur circulant diminuant l'expression génique du CYP2C11 de près de 70%. L'expression des protéines du CYP2C11 démontre une diminution de 35%. Ainsi, l'effet du sérum sur l'expression des enzymes dans les astrocytes en culture confirme notre hypothèse que le ou les facteurs responsables de cette diminution se retrouvent dans le sérum urémique.

Comparaison des résultats avec les données de la littérature

Effet de l'IRC sur l'expression des enzymes du CYP450

Tout d'abord, les isoformes du cytochrome P450 retrouvées dans le cerveau des rats confirment les résultats précédemment publiés. Les isoformes CYP1A, CYP2C11, CYP2D, CYP3A et CYP4A avaient été précédemment identifiés dans le cerveau des rongeurs. Ces isoformes ont été détectés à la fois par PCR et par immunobuvardage de type Western. L'activité des CYP1A, CYP2C11, CYP3A et CYP4A a également été démontrée par d'autres groupes de recherche dans des modèles de rongeurs. Puisque nous avons mesuré l'activité catalytique du CYP3A dans les microsomes obtenus à partir du cerveau de rat, nos résultats confirment la présence d'enzymes fonctionnelles dans le cerveau de rat.

Dans la littérature, peu d'études traitent de l'effet de l'insuffisance rénale chronique sur les enzymes du métabolisme des médicaments, et encore moins de groupes étudient le cytochrome P450 dans les structures cérébrales de rat. Par contre, au moins un groupe a conduit des études démontrant l'effet de divers facteurs diminuant l'expression des CYP450 dans le cerveau de rats, telle que l'inflammation. [109, 110] Ces études démontrent que l'administration de lipopolysaccharide (LPS) entraîne une réaction inflammatoire susceptible d'être responsable de la diminution de l'expression du CYP1A1, détectée par

immunohistochimie. L'action du LPS au niveau du cerveau résulte en la production de nombreuses cytokines pro-inflammatoires dont le TNF- α , IL-1, IL-2 et IL-6. De plus, l'étude souligne une diminution de l'activité de CYP1A1 dans le cerveau de rats, illustrée par une diminution de l'activité éthoxyrésorufine-O-dééthylase.

En comparant l'expression et l'activité catalytique du CYP450 dans le cerveau avec les résultats obtenus par l'étude des enzymes hépatiques et intestinales, on note quelques discordances. D'abord, l'expression protéique et génique des enzymes de la sous-famille CYP1A demeure inchangée au niveau du foie chez les rats atteints d'IRC. Cependant, la diminution est marquée dans l'intestin du rat atteint d'IRC. On note, dans l'intestin, une expression protéique de CYP1A1 diminuée de 43% par rapport à l'expression dans les animaux témoins. Au niveau du cerveau des rats, on remarque une diminution statistiquement significative d'au moins 35% de la protéine ainsi qu'une diminution de l'ARNm, semblable à la réduction observée dans l'intestin.

L'expression du CYP2C11 est diminuée dans le foie, mais demeure inchangée dans l'intestin. Dans le cerveau, l'expression du CYP2C11 est diminuée de façon similaire au niveau du foie.

Le CYP3A semble être la seule sous-famille étudiée dont à la fois l'expression d'ARNm et l'expression protéique sont diminués dans toutes les structures

étudiées, soit le foie, l'intestin et le cerveau. Bien que la diminution des niveaux d'expression du CYP3A soient plus prononcés dans le foie et l'intestin, la diminution de l'expression protéique dans le cerveau demeure substantielle : près de 50%. Cette diminution protéique pourrait être responsable de l'activité catalytique réduite aussi d'environ 40% du CYP3A, évaluée par métabolisme du DFB.

Effet du sérum de rat urémique sur l'expression astrocytaire des enzymes du CYP450

Les études traitant de l'expression des enzymes du CYP450 dans les astrocytes sont nombreuses. Par rapport aux études publiées, l'expression des enzymes du CYP450 dans les astrocytes est statistiquement diminuée pour le CYP1A1 lors de l'administration de LPS, un agent entraînant une réponse inflammatoire. Il a été démontré que la diminution d'activité catalytique de CYP1A1 dans les astrocytes est médiée par la relâche de cytokines, puisque la pentoxifylline, un inhibiteur de TNF- α , empêche la diminution d'activité de CYP1A1 lorsque co-administrée avec le LPS. [109] Ainsi, le TNF- α semble jouer un rôle dans la diminution de l'expression des enzymes du CYP450.

Des expériences comparables ont été menées, étudiant l'expression du CYP450 dans les hépatocytes en culture incubés avec du sérum provenant de patients et de rats atteints d'IRC. Les résultats obtenus démontrent que le facteur soluble responsable de la régulation à la baisse des enzymes du CYP450 possède un poids moléculaire situé entre 10 kDa et 15 kDa [50]. Ces résultats supportent l'hypothèse que la PTH, ayant un poids moléculaire entre 10 et 15 kDa, pourrait être responsable de l'effet observé. Aussi, plusieurs cytokines de poids moléculaire d'environ 15 kDa sont des inhibiteurs reconnus des enzymes du CYP450. [110, 111]

L'insuffisance rénale chronique est caractérisée par une réponse inflammatoire systémique persistante. Un groupe a démontré le déséquilibre dans la synthèse de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IL-6) et de cytokines anti-inflammatoires (IL-10). [112] Ce même groupe avance la preuve que les niveaux de TNF- α sont supérieurs chez les individus ayant un taux de filtration glomérulaire inférieur à 15 ml par minute par 1,73m² comparativement à ceux ayant une filtration glomérulaire normale.

Un groupe étudiant l'effet des cytokines dans la diminution de l'expression de CYP1A conclut que le traitement d'astrocytes avec l'endotoxine lipopolysaccharide (LPS) conduit à la diminution de l'expression et de l'activité de CYP1A. Puisque le LPS entraîne la relâche des cytokines pro-inflammatoires TNF- α et IL-1 β , celles-ci constituent des candidats potentiels à la régulation négative du CYP450 dans un contexte d'insuffisance rénale chronique. Cependant, ce même groupe remarque que l'incubation des astrocytes avec le TNF- α et IL-1 β n'entraîne pas une diminution aussi importante que celle produite par le LPS. Ces données suggèrent qu'un ou d'autres facteurs, en plus des cytokines TNF- α et IL-1 β , pourraient agir afin d'entraîner la diminution observée de l'activité du CYP1A. [113]

Il est intéressant de noter que les résultats obtenus de l'incubation d'astrocytes de rats en présence de sérum de rats atteints d'insuffisance rénale chronique corroborent les observations faites chez les hépatocytes en culture. Les données

précédemment publiées indiquent une diminution de l'expression et de l'activité catalytique de l'isoforme CYP3A2. [114] Cette étude démontre que l'incubation d'hépatocytes en présence de sérum de rat urémique diminue l'expression des isoformes CYP2C6, CYP2C11, CYP3A1 et CYP3A2 de façon statistiquement significative.

Effet *in vitro* de la PTH sur les enzymes du CYP450 dans les astrocytes en culture

L'incubation d'hépatocytes en présence de la fraction 1-34 de l'hormone parathyroïdienne a permis d'identifier la PTH comme un des facteurs circulants responsables de la régulation à la baisse des enzymes du CYP450 dans les hépatocytes. [55] La diminution observée chez les astrocytes en culture est semblable aux résultats précédemment rapportés par l'étude des hépatocytes en culture incubés en présence de sérum de rat urémique.

À ce jour, aucun autre groupe de recherche ne s'est penché sur l'implication de la PTH ou de la PTHrP dans la diminution de l'expression des CYP450.

Implications des résultats obtenus

Effet de l'IRC sur l'expression des enzymes du CYP450

Responsables à eux seuls du métabolisme de plus de 50% des médicaments commercialisés, les CYP2C et CYP3A hépatiques sont régulés à la baisse dans le modèle expérimental d'insuffisance rénale chronique chez le rat. Cette diminution d'expression et d'activité a aussi été observée dans le cerveau de rats atteints d'IRC. L'implication clinique d'une diminution de métabolisme des médicaments dans le cerveau consiste en l'augmentation de la biodisponibilité des médicaments dans le système nerveux central menant possiblement à une augmentation des effets adverses, voire même une toxicité. Le cerveau est un organe complexe et sensible sur lequel de très faibles concentrations de substance active peuvent avoir d'importantes répercussions.

Effet du sérum de rat urémique sur l'expression astrocytaire des CYP450

Bien que le modèle de culture d'astrocytes soit largement accepté pour l'étude de l'expression des enzymes du cytochrome CYP450, d'autres types cellulaires expriment ces protéines dans le système nerveux central. Les astrocytes constituent le type cellulaire principal des cellules gliales, mais d'autres cellules, tel que la microglie et les oligodendrocytes, pourraient exprimer les enzymes du CYP450.

Les neurones expriment les enzymes du CYP450 et leur culture *in vitro* constitue un modèle de recherche alternatif. Les études publiées qui étudient l'expression des enzymes du CYP450 dans les neurones évaluent principalement le rôle de ces enzymes dans le métabolisme endogène tel que la régulation de neurotransmetteurs, le métabolisme du cholestérol et la synthèse de stéroïdes. À ce jour, aucune étude n'a évalué l'effet de l'incubation de neurones en culture avec du sérum de rat atteint d'insuffisance rénale chronique.

Effet *in vivo* de la PTH sur les enzymes du CYP450

En déterminant que la PTH joue un rôle important dans la diminution de l'expression des enzymes du CYP450, l'hyperparathyroïdie secondaire à l'insuffisance rénale chronique chez les patients pourrait hypothétiquement être traitée afin de rétablir un métabolisme normal.

Le traitement de l'hyperparathyroïdie secondaire le plus commun est la pharmacothérapie constituée de cinacalcet, un agent calcimimétique dont la structure allostérique mime les effets du calcium et inhibe la sécrétion de PTH par les glandes parathyroïdes. De plus, on traite l'hyperparathyroïdie secondaire par une diète restreinte en phosphore et en protéines avec des apports suffisants en calcium sous forme de carbonate. Puisque l'objectif du traitement consiste à

abaisser les taux de PTH et à maintenir l'homéostasie du calcium et du phosphore, l'utilisation de chélateurs de phosphore permet d'obtenir également ce résultat. L'utilisation d'analogues de la vitamine D permet aussi d'atteindre cet objectif.

En extrapolant à l'humain les résultats obtenus dans le modèle expérimental chez le rat, il serait possible de rétablir l'activité métabolique des enzymes du CYP450 en normalisant les niveaux circulants de PTH.

CONCLUSION

Ces études confirment que l'insuffisance rénale chronique affecte la pharmacocinétique des médicaments suite à une diminution de l'expression et de l'activité des enzymes du métabolisme appartenant à la famille des CYP450, plus particulièrement les CYP1A, CYP2C11 et CYP3A.

Un des facteurs qui semble responsable de l'expression réduite du CYP450 est la PTH. La PTH à elle seule ne semble pas responsable de tout l'effet observé et d'autres facteurs pourraient jouer un rôle dans la diminution de l'expression des CYP450. Ainsi, il n'est pas exclu que les cytokines, dont les niveaux sont augmentés dans un contexte d'insuffisance rénale chronique, soient en partie responsables de l'effet observé.

Par une élimination rénale réduite et une diminution du métabolisme des médicaments, l'IRC altère la pharmacocinétique des médicaments. Il serait donc important d'évaluer l'effet de l'IRC sur les autres étapes pharmacocinétiques, tel que l'absorption et la distribution. De récentes études indiquent que plusieurs transporteurs membranaires d'influx ou d'extrusion des médicaments seraient modifiés en IRC ou dans différents contextes inflammatoires. Ces transporteurs sont entre autres la P-glycoprotéine [44, 115] ainsi que le transporteur d'extrusion MRP2. [44]

Puisque le métabolisme cérébral ne représente qu'une faible proportion du métabolisme total de l'organisme, les conséquences d'une diminution quoique significative pourraient être considérées peu importantes pour le métabolisme systémique. Cependant, la diminution du métabolisme cérébral s'ajoute à la diminution d'activité métabolique des enzymes hépatiques et intestinaux de la famille du CYP450, ainsi qu'à une diminution de l'extrusion des médicaments des entérocytes. Ensemble, tous ces facteurs peuvent mener à une augmentation de la biodisponibilité des médicaments, donc à une augmentation des concentrations circulantes des substances actives dans l'organisme, ainsi qu'à une possible augmentation des effets adverses chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique.

En conclusion, l'étude des phénomènes pharmacocinétiques dans un modèle d'insuffisance rénale chronique expérimentale chez le rat permettra une meilleure compréhension des modifications qui ont lieu chez le patient atteint d'insuffisance rénale chronique. Ultimement, cela permettra un meilleur ajustement des doses de médicaments chez ces patients, optimisant le traitement thérapeutique et limitant les risques de toxicité.

RÉFÉRENCES

1. Manns, B.J., D.C. Mendelssohn, and K.J. Taub, *The economics of end-stage renal disease care in Canada: incentives and impact on delivery of care*. Int J Health Care Finance Econ, 2007. 7(2-3): p. 149-69.
2. Weir, M.R. and J.C. Fink, *Salt intake and progression of chronic kidney disease: an overlooked modifiable exposure? A commentary*. Am J Kidney Dis, 2005. 45(1): p. 176-88.
3. Levi, R. and J. Silver, *Pathogenesis of parathyroid dysfunction in end-stage kidney disease*. Pediatr Nephrol, 2005. 20(3): p. 342-5.
4. Silver, J. and R. Levi, *Regulation of PTH synthesis and secretion relevant to the management of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease*. Kidney Int Suppl, 2005(95): p. S8-12.
5. Fraser, C.L. and A.I. Arieff, *Metabolic encephalopathy as a complication of renal failure: mechanisms and mediators*. New Horiz, 1994. 2(4): p. 518-26.
6. Liu, M., Y. Liang, S. Chigurupati, et al., *Acute kidney injury leads to inflammation and functional changes in the brain*. J Am Soc Nephrol, 2008. 19(7): p. 1360-70.
7. Mahoney, C.A., P. Sarnacki, and A.I. Arieff, *Uremic encephalopathy: role of brain energy metabolism*. Am J Physiol, 1984. 247(3 Pt 2): p. F527-32.
8. Katzung, B.G., *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th ed. ed. 2000: Appleton and Lange. 1217.

9. Anandatheerthavarada, H.K., S. Addya, R.S. Dwivedi, et al., *Localization of multiple forms of inducible cytochromes P450 in rat liver mitochondria: immunological characteristics and patterns of xenobiotic substrate metabolism*. Arch Biochem Biophys, 1997. 339(1): p. 136-50.
10. Anandatheerthavarada, H.K., C. Vijayasathya, S.V. Bhagwat, et al., *Physiological role of the N-terminal processed P4501A1 targeted to mitochondria in erythromycin metabolism and reversal of erythromycin-mediated inhibition of mitochondrial protein synthesis*. J Biol Chem, 1999. 274(10): p. 6617-25.
11. Robin, M.A., H.K. Anandatheerthavarada, G. Biswas, et al., *Bimodal targeting of microsomal CYP2E1 to mitochondria through activation of an N-terminal chimeric signal by cAMP-mediated phosphorylation*. J Biol Chem, 2002. 277(43): p. 40583-93.
12. Strobel, H.W., A.Y. Lu, J. Heidema, et al., *Phosphatidylcholine requirement in the enzymatic reduction of hemoprotein P-450 and in fatty acid, hydrocarbon, and drug hydroxylation*. J Biol Chem, 1970. 245(18): p. 4851-4.
13. Coon, M.J., *Enzyme ingenuity in biological oxidations: a trail leading to cytochrome p450*. J Biol Chem, 2002. 277(32): p. 28351-63. Epub 2002 Jun 5.
14. Coon, M.J., *Cytochrome P450: nature's most versatile biological catalyst*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2005. 45: p. 1-25.
15. Strobel, H.W., H. Kawashima, J. Geng, et al., *Expression of multiple forms of brain cytochrome P450*. Toxicol Lett, 1995. 82-83: p. 639-43.

16. Zuber, R., E. Anzenbacherova, and P. Anzenbacher, *Cytochromes P450 and experimental models of drug metabolism*. J Cell Mol Med, 2002. 6(2): p. 189-98.
17. Woodland, C., T.T. Huang, E. Gryz, et al., *Expression, activity and regulation of CYP3A in human and rodent brain*. Drug Metab Rev, 2008. 40(1): p. 149-68.
18. Archakov, A.I. and K.N. Degtyarenko, *Structural classification of the P450 superfamily based on consensus sequence comparison*. Biochem Mol Biol Int, 1993. 31(6): p. 1071-80.
19. Honkakoski, P. and M. Negishi, *Regulation of cytochrome P450 (CYP) genes by nuclear receptors*. Biochem J, 2000. 347(Pt 2): p. 321-37.
20. Wrighton, S.A. and J.C. Stevens, *The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism*. Crit Rev Toxicol, 1992. 22(1): p. 1-21.
21. Lakehal, F., D. Wendum, V. Barbu, et al., *Phase I and phase II drug-metabolizing enzymes are expressed and heterogeneously distributed in the biliary epithelium*. Hepatology, 1999. 30(6): p. 1498-506.
22. Blanco, J.G., P.L. Harrison, W.E. Evans, et al., *Human cytochrome P450 maximal activities in pediatric versus adult liver*. Drug Metab Dispos, 2000. 28(4): p. 379-82.
23. Ratanasavanh, D., P. Beaune, F. Morel, et al., *Intralobular distribution and quantitation of cytochrome P-450 enzymes in human liver as a function of age*. Hepatology, 1991. 13(6): p. 1142-51.
24. Badawi, A.F., E.L. Cavalieri, and E.G. Rogan, *Role of human cytochrome P450 1A1, 1A2, 1B1, and 3A4 in the 2-, 4-, and 16alpha-hydroxylation of 17beta-estradiol*. Metabolism, 2001. 50(9): p. 1001-3.

25. Hall, S.D., K.E. Thummel, P.B. Watkins, et al., *Molecular and physical mechanisms of first-pass extraction*. Drug Metab Dispos, 1999. 27(2): p. 161-6.
26. Evans, A.M., *Influence of dietary components on the gastrointestinal metabolism and transport of drugs*. Ther Drug Monit, 2000. 22(1): p. 131-6.
27. Krishna, D.R. and U. Klotz, *Extrahepatic metabolism of drugs in humans*. Clin Pharmacokinet, 1994. 26(2): p. 144-60.
28. Kaminsky, L.S. and M.J. Fasco, *Small intestinal cytochromes P450*. Crit Rev Toxicol, 1991. 21(6): p. 407-22.
29. Guengerich, F.P., *Human cytochrome P450 enzymes*, in *Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry*, O.d. Montellano, Editor. 1995, Plenum Press: New York. p. 473-536.
30. Kolars, J.C., K.S. Lown, P. Schmiedlin-Ren, et al., *CYP3A gene expression in human gut epithelium*. Pharmacogenetics, 1994. 4(5): p. 247-59.
31. McKinnon, R.A., W.M. Burgess, P.M. Hall, et al., *Characterisation of CYP3A gene subfamily expression in human gastrointestinal tissues*. Gut, 1995. 36(2): p. 259-67.
32. Watkins, P.B., S.A. Wrighton, E.G. Schuetz, et al., *Identification of glucocorticoid-inducible cytochromes P-450 in the intestinal mucosa of rats and man*. J Clin Invest, 1987. 80(4): p. 1029-36.
33. McKinnon, R.A., W.M. Burgess, F.J. Gonzalez, et al., *Metabolic differences in colon mucosal cells*. Mutat Res, 1993. 290(1): p. 27-33.

34. Kolars, J.C., P. Schmiedlin-Ren, J.D. Schuetz, et al., *Identification of rifampin-inducible P450III_{A4} (CYP3A4) in human small bowel enterocytes*. J Clin Invest, 1992. 90(5): p. 1871-8.
35. Yokose, T., M. Doy, T. Taniguchi, et al., *Immunohistochemical study of cytochrome P450 2C and 3A in human non-neoplastic and neoplastic tissues*. Virchows Arch, 1999. 434(5): p. 401-11.
36. Lam, Y.W., S. Banerji, C. Hatfield, et al., *Principles of drug administration in renal insufficiency*. Clin Pharmacokinet, 1997. 32(1): p. 30-57.
37. Davies, G., C. Kingswood, and M. Street, *Pharmacokinetics of opioids in renal dysfunction*. Clin Pharmacokinet, 1996. 31(6): p. 410-22.
38. Nolin, T.D., R.F. Frye, and G.R. Matzke, *Hepatic drug metabolism and transport in patients with kidney disease*. Am J Kidney Dis, 2003. 42(5): p. 906-25.
39. Levin, A., B. Hemmelgarn, B. Culleton, et al., *Guidelines for the management of chronic kidney disease*. CMAJ, 2008. 179(11): p. 1154-62.
40. Touchette, M.A. and R.L. Slaughter, *The effect of renal failure on hepatic drug clearance*. DICP, 1991. 25(11): p. 1214-24.
41. Leblond, F.A., M. Petrucci, P. Dube, et al., *Downregulation of intestinal cytochrome p450 in chronic renal failure*. J Am Soc Nephrol, 2002. 13(6): p. 1579-85.
42. Kuniyama, M., J. Nagai, T. Murakami, et al., *Renal excretion of rhodamine 123, a P-glycoprotein substrate, in rats with glycerol-*

- induced acute renal failure*. J Pharm Pharmacol, 1998. 50(10): p. 1161-5.
43. Veau, C., C. Leroy, H. Banide, et al., *Effect of chronic renal failure on the expression and function of rat intestinal P-glycoprotein in drug excretion*. Nephrol Dial Transplant, 2001. 16(8): p. 1607-14.
 44. Naud, J., J. Michaud, C. Boisvert, et al., *Down-regulation of intestinal drug transporters in chronic renal failure in rats*. J Pharmacol Exp Ther, 2007. 320(3): p. 978-85. Epub 2006 Nov 29.
 45. Dreisbach, A.W. and J.J. Lertora, *The effect of chronic renal failure on drug metabolism and transport*. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2008. 4(8): p. 1065-74.
 46. Perucca, E., *Plasma protein binding of phenytoin in health and disease: relevance to therapeutic drug monitoring*. Ther Drug Monit, 1980. 2(4): p. 331-44.
 47. Dahaba, A.A., K. Oettl, F. von Klobucar, et al., *End-stage renal failure reduces central clearance and prolongs the elimination half life of remifentanyl*. Can J Anaesth, 2002. 49(4): p. 369-74.
 48. Bailie, G.R. and C.A. Johnson, *Safety of propoxyphene in dialysis patients*. Semin Dial, 2002. 15(5): p. 375.
 49. Conway, B.R., D.G. Fogarty, W.E. Nelson, et al., *Opiate toxicity in patients with renal failure*. BMJ, 2006. 332(7537): p. 345-6.
 50. Michaud, J., P. Dubé, J. Naud, et al., *Effects of serum from patients with chronic renal failure on rat hepatic cytochrome P450*. Br J Pharmacol, 2005. 144(8): p. 1067-77.

51. Uchida, N., N. Kurata, K. Shimada, et al., *Changes of hepatic microsomal oxidative drug metabolizing enzymes in chronic renal failure (CRF) rats by partial nephrectomy*. Jpn J Pharmacol, 1995. 68(4): p. 431-9.
52. Leblond, F., C. Guevin, C. Demers, et al., *Downregulation of hepatic cytochrome P450 in chronic renal failure*. J Am Soc Nephrol, 2001. 12(2): p. 326-32.
53. Massry, S.G. and M. Smogorzewski, *The effects of serum calcium and parathyroid hormone and the interaction between them on blood pressure in normal subjects and in patients with chronic kidney failure*. J Ren Nutr, 2005. 15(1): p. 173-7.
54. Klin, M., M. Smogorzewski, Z. Ni, et al., *Abnormalities in hepatic lipase in chronic renal failure: role of excess parathyroid hormone*. J Clin Invest, 1996. 97(10): p. 2167-73.
55. Michaud, J., J. Naud, J. Chouinard, et al., *Role of parathyroid hormone in the downregulation of liver cytochrome P450 in chronic renal failure*. J Am Soc Nephrol, 2006. 17(11): p. 3041-8.
56. Haining, R.L. and M. Nichols-Haining, *Cytochrome P450-catalyzed pathways in human brain: metabolism meets pharmacology or old drugs with new mechanism of action?* Pharmacol Ther, 2007. 113(3): p. 537-45. Epub 2006 Dec 20.
57. Evans, W.E. and M.V. Relling, *Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics*. Science, 1999. 286(5439): p. 487-91.
58. Marini, S., A. Nannelli, D. Sodini, et al., *Expression, microsomal and mitochondrial activities of cytochrome P450 enzymes in brain regions*

- from control and phenobarbital-treated rabbits. Life Sci, 2007. 80(10): p. 910-7. Epub 2006 Nov 16.*
59. Hedlund, E., J.A. Gustafsson, and M. Warner, *Cytochrome P450 in the brain; a review. Curr Drug Metab, 2001. 2(3): p. 245-63.*
60. Dutheil, F., P. Beaune, and M.A. Lorient, *Xenobiotic metabolizing enzymes in the central nervous system: Contribution of cytochrome P450 enzymes in normal and pathological human brain. Biochimie, 2008. 90(3): p. 426-36. Epub 2007 Oct 22.*
61. Miksys, S.L. and R.F. Tyndale, *Drug-metabolizing cytochrome P450s in the brain. J Psychiatry Neurosci, 2002. 27(6): p. 406-15.*
62. Agarwal, V., R.P. Kommaddi, K. Valli, et al., *Drug metabolism in human brain: high levels of cytochrome P4503A43 in brain and metabolism of anti-anxiety drug alprazolam to its active metabolite. PLoS ONE, 2008. 3(6): p. e2337.*
63. Bhamre, S., H.K. Anandatheerathavarada, S.K. Shankar, et al., *Purification of multiple forms of cytochrome P450 from a human brain and reconstitution of catalytic activities. Arch Biochem Biophys, 1993. 301(2): p. 251-5.*
64. Bhamre, S., H.K. Anandatheerthavarada, S.K. Shankar, et al., *Microsomal cytochrome P450 in human brain regions. Biochem Pharmacol, 1992. 44(6): p. 1223-5.*
65. Farin, F.M. and C.J. Omiecinski, *Regiospecific expression of cytochrome P-450s and microsomal epoxide hydrolase in human brain tissue. J Toxicol Environ Health, 1993. 40(2-3): p. 317-35.*

66. Gervasini, G., J.A. Carrillo, and J. Benitez, *Potential role of cerebral cytochrome P450 in clinical pharmacokinetics: modulation by endogenous compounds*. Clin Pharmacokinet, 2004. 43(11): p. 693-706.
67. Ghersi-Egea, J.F., R. Perrin, B. Leininger-Muller, et al., *Subcellular localization of cytochrome P450, and activities of several enzymes responsible for drug metabolism in the human brain*. Biochem Pharmacol, 1993. 45(3): p. 647-58.
68. Miksys, S. and R.F. Tyndale, *The unique regulation of brain cytochrome P450 2 (CYP2) family enzymes by drugs and genetics*. Drug Metab Rev, 2004. 36(2): p. 313-33.
69. Ravindranath, V., *Metabolism of xenobiotics in the central nervous system: implications and challenges*. Biochem Pharmacol, 1998. 56(5): p. 547-51.
70. Ravindranath, V., R.P. Kommaddi, and H.V. Pai, *Unique cytochromes P450 in human brain: implication in disease pathogenesis*. J Neural Transm Suppl, 2006(70): p. 167-71.
71. Voirol, P., M. Jonzier-Perey, F. Porchet, et al., *Cytochrome P-450 activities in human and rat brain microsomes*. Brain Res, 2000. 855(2): p. 235-43.
72. Imaoka, S., T. Hashizume, and Y. Funae, *Localization of rat cytochrome P450 in various tissues and comparison of arachidonic acid metabolism by rat P450 with that by human P450 orthologs*. Drug Metab Pharmacokinet, 2005. 20(6): p. 478-84.
73. Kalsotra, A. and H.W. Strobel, *Cytochrome P450 4F subfamily: at the crossroads of eicosanoid and drug metabolism*. Pharmacol Ther, 2006. 112(3): p. 589-611.

74. Hardwick, J.P., *Cytochrome P450 omega hydroxylase (CYP4) function in fatty acid metabolism and metabolic diseases*. *Biochem Pharmacol*, 2008. 75(12): p. 2263-75.
75. Morse, D.C., A.P. Stein, P.E. Thomas, et al., *Distribution and induction of cytochrome P450 1A1 and 1A2 in rat brain*. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1998. 152(1): p. 232-9.
76. Renton, K.W., S. Dibb, and T.L. Levatte, *Lipopolysaccharide evokes the modulation of brain cytochrome P4501A in the rat*. *Brain Res*, 1999. 842(1): p. 139-47.
77. Alkayed, N.J., T. Goyagi, H.D. Joh, et al., *Neuroprotection and P450 2C11 upregulation after experimental transient ischemic attack*. *Stroke*, 2002. 33(6): p. 1677-84.
78. Norris, P.J., J.P. Hardwick, and P.C. Emson, *Regional distribution of cytochrome P450 2D1 in the rat central nervous system*. *J Comp Neurol*, 1996. 366(2): p. 244-58.
79. Britto, M.R. and P.J. Wedlund, *Cytochrome P-450 in the brain. Potential evolutionary and therapeutic relevance of localization of drug-metabolizing enzymes*. *Drug Metab Dispos*, 1992. 20(3): p. 446-50.
80. Miksys, S., Y. Rao, E.M. Sellers, et al., *Regional and cellular distribution of CYP2D subfamily members in rat brain*. *Xenobiotica*, 2000. 30(6): p. 547-64.
81. Yadav, S., A. Dhawan, P.K. Seth, et al., *Cytochrome P4503A: evidence for mRNA expression and catalytic activity in rat brain*. *Mol Cell Biochem*, 2006. 287(1-2): p. 91-9. Epub 2006 May 4.

82. Stromstedt, M., M. Warner, and J.A. Gustafsson, *Cytochrome P450s of the 4A subfamily in the brain*. J Neurochem, 1994. 63(2): p. 671-6.
83. Bylund, J., C. Zhang, and D.R. Harder, *Identification of a novel cytochrome P450, CYP4X1, with unique localization specific to the brain*. Biochem Biophys Res Commun, 2002. 296(3): p. 677-84.
84. Kawashima, H., D.J. Sequeira, D.R. Nelson, et al., *Genomic cloning and protein expression of a novel rat brain cytochrome P-450 CYP2D18* catalyzing imipramine N-demethylation*. J Biol Chem, 1996. 271(45): p. 28176-80.
85. Boehme, C.L. and H.W. Strobel, *High-performance liquid chromatographic methods for the analysis of haloperidol and chlorpromazine metabolism in vitro by purified cytochrome P450 isoforms*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998. 718(2): p. 259-66.
86. Cui, X. and H.W. Strobel, *Cloning and characterization of the rat cytochrome P450 4F5 (CYP4F5) gene*. Gene, 2002. 297(1-2): p. 179-87.
87. Fisslthaler, B., R. Popp, L. Kiss, et al., *Cytochrome P450 2C is an EDHF synthase in coronary arteries*. Nature, 1999. 401(6752): p. 493-7.
88. Capdevila, J.H. and J.R. Falck, *Biochemical and molecular characteristics of the cytochrome P450 arachidonic acid monooxygenase*. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2000. 62(3): p. 271-92.
89. Lasker, J.M., W.B. Chen, I. Wolf, et al., *Formation of 20-hydroxyecosatetraenoic acid, a vasoactive and natriuretic eicosanoid*,

- in human kidney. Role of Cyp4F2 and Cyp4A11.* J Biol Chem, 2000. 275(6): p. 4118-26.
90. Zeldin, D.C., *Epoxygenase pathways of arachidonic acid metabolism.* J Biol Chem, 2001. 276(39): p. 36059-62.
91. Xu, F., J.R. Falck, P.R. Ortiz de Montellano, et al., *Catalytic activity and isoform-specific inhibition of rat cytochrome p450 4F enzymes.* J Pharmacol Exp Ther, 2004. 308(3): p. 887-95.
92. Alkayed, N.J., E.K. Birks, A.G. Hudetz, et al., *Inhibition of brain P-450 arachidonic acid epoxygenase decreases baseline cerebral blood flow.* Am J Physiol, 1996. 271(4 Pt 2): p. H1541-6.
93. Amruthesh, S.C., J.R. Falck, and E.F. Ellis, *Brain synthesis and cerebrovascular action of epoxygenase metabolites of arachidonic acid.* J Neurochem, 1992. 58(2): p. 503-10.
94. Gebremedhin, D., A.R. Lange, T.F. Lowry, et al., *Production of 20-HETE and its role in autoregulation of cerebral blood flow.* Circ Res, 2000. 87(1): p. 60-5.
95. Junier, M.P., F. Dray, I. Blair, et al., *Epoxygenase products of arachidonic acid are endogenous constituents of the hypothalamus involved in D2 receptor-mediated, dopamine-induced release of somatostatin.* Endocrinology, 1990. 126(3): p. 1534-40.
96. Simpson, A.E., *The cytochrome P450 4 (CYP4) family.* Gen Pharmacol, 1997. 28(3): p. 351-9.
97. Strobel, H.W., C.M. Thompson, and L. Antonovic, *Cytochromes P450 in brain: function and significance.* Curr Drug Metab, 2001. 2(2): p. 199-214.

98. Warner, M. and J.A. Gustafsson, *Cytochrome P450 in the brain: neuroendocrine functions*. Front Neuroendocrinol, 1995. 16(3): p. 224-36.
99. Tsutsui, K., K. Ukena, M. Takase, et al., *Neurosteroid biosynthesis in vertebrate brains*. Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol, 1999. 124(2): p. 121-9.
100. Stoffel-Wagner, B., *Neurosteroid metabolism in the human brain*. Eur J Endocrinol, 2001. 145(6): p. 669-79.
101. Doostzadeh, J., A.C. Cotillon, and R. Morfin, *Dehydroepiandrosterone 7alpha- and 7beta-hydroxylation in mouse brain microsomes. Effects of cytochrome P450 inhibitors and structure-specific inhibition by steroid hormones*. J Neuroendocrinol, 1997. 9(12): p. 923-8.
102. Nissbrandt, H., F. Bergquist, J. Jonason, et al., *Inhibition of cytochrome P450 2E1 induces an increase in extracellular dopamine in rat substantia nigra: a new metabolic pathway?* Synapse, 2001. 40(4): p. 294-301.
103. Wang, Y., J. Zhao, A. Kalsotra, et al., *CYP4Fs expression in rat brain correlates with changes in LTB4 levels after traumatic brain injury*. J Neurotrauma, 2008. 25(10): p. 1187-94.
104. McCarthy, K.D. and J. de Vellis, *Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue*. J Cell Biol, 1980. 85(3): p. 890-902.
105. Michaud, J., F.A. Leblond, J. Naud, et al., *Use of a fluorescent substrate for the selective quantification of rat CYP3A in the liver and the intestine*. J Pharmacol Toxicol Methods, 2007. 55(2): p. 209-13.

106. Philbrick, W.M., J.J. Wysolmerski, S. Galbraith, et al., *Defining the roles of parathyroid hormone-related protein in normal physiology*. *Physiol Rev*, 1996. 76(1): p. 127-73.
107. Karaplis, A.C., A. Luz, J. Glowacki, et al., *Lethal skeletal dysplasia from targeted disruption of the parathyroid hormone-related peptide gene*. *Genes Dev*, 1994. 8(3): p. 277-89.
108. Funk, J.L., C.R. Trout, H. Wei, et al., *Parathyroid hormone-related protein (PTHrP) induction in reactive astrocytes following brain injury: a possible mediator of CNS inflammation*. *Brain Res*, 2001. 915(2): p. 195-209.
109. Nicholson, T.E. and K.W. Renton, *Modulation of cytochrome P450 by inflammation in astrocytes*. *Brain Res*, 1999. 827(1-2): p. 12-8.
110. Nicholson, T.E., S. Dibb, and K.W. Renton, *Nitric oxide mediates an LPS-induced depression of cytochrome P450 (CYP1A) activity in astrocytes*. *Brain Res*, 2004. 1029(2): p. 148-54.
111. Morgan, E.T., *Regulation of cytochromes P450 during inflammation and infection*. *Drug Metab Rev*, 1997. 29(4): p. 1129-88.
112. Bosutti, A., G. Grassi, N. Fiotti, et al., *Decreased IL-10 mRNA expression in patients with advanced renal failure undergoing conservative treatment*. *Cytokine*, 2007. 40(2): p. 71-4.
113. Nicholson, T.E. and K.W. Renton, *The role of cytokines in the depression of CYP1A activity using cultured astrocytes as an in vitro model of inflammation in the central nervous system*. *Drug Metab Dispos*, 2002. 30(1): p. 42-6.

114. Guevin, C., J. Michaud, J. Naud, et al., *Down-regulation of hepatic cytochrome P450 in chronic renal failure: role of uremic mediators*. Br J Pharmacol, 2002. 137(7): p. 1039-46.
115. Renton, K.W., *Cytochrome p450 regulation and drug biotransformation during inflammation and infection*. Curr Drug Metab, 2004. 5(3): p. 235-43.