

ANR PARKA - Mécanisme d'action du phosphate dans la formation des calcifications vasculaires médiales lors de l'insuffisance rénale chronique

Contexte socioéconomique et scientifique :

La mortalité cardiovasculaire est la première cause de décès dans l'insuffisance rénale chronique. Ce risque de mortalité - accru d'un facteur x30 par rapport à la population générale - provient essentiellement du développement de calcifications vasculaires favorisées par l'hyperphosphatémie chronique des patients insuffisants rénaux. Cette concentration élevée de phosphate (Pi) sérique entraîne une rigidification locale du système artériel, tout en stimulant la sécrétion de l'hormone phosphaturique FGF23 par l'os, ce qui contribue à l'aggravation des paramètres cardiovasculaires aux stades avancés de la maladie. Paradoxalement, l'absorption intestinale de Pi ne diminue pas pour compenser l'hyperphosphatémie, et les stratégies thérapeutiques visant à contrôler l'absorption transcellulaire n'ont pas été concluantes jusqu'alors.

Le projet de recherche ANR auquel est associé cette thèse comporte 3 axes qui visent à i) identifier les mécanismes d'action locaux et endocrines du Pi sur les calcifications vasculaires au cours de la maladie rénale chronique, ii) évaluer la part de l'absorption paracellulaire de Pi par l'intestin dans ces conditions, iii) identifier des cibles thérapeutiques chez l'homme pour diminuer la formation des calcifications vasculaires.

Hypothèses et questions posées :

Pour permettre d'identifier les rôles du Pi dans la formation de calcifications vasculaires et trouver des moyens de contrecarrer leurs effets délétères, nous pensons que seule une approche intégrée - englobant l'ensemble du spectre de régulation du Pi, de son absorption intestinale à ses effets vasculaires locaux et à son rôle endocrine - peut permettre des avancées significatives. Dans ce but, le projet associe 4 équipes françaises (Lyon, St Etienne et Nantes) et divers collaborateurs nationaux et internationaux.

À Nantes, nous nous focaliserons sur le rôle local et systémique du Pi au travers de l'étude des fonctions de la protéine PIT2 dont nous avons montré qu'elle contrôle la sécrétion de FGF23 en réponse à des variations de la concentration sérique de Pi, quelle est déterminante pour la minéralisation physiologique de l'os, et qu'elle est susceptible d'être impliquée directement dans la formation de calcifications vasculaires au travers de sa fonction de transporteur de Pi.

Grandes étapes de la thèse :

Pour étudier le rôle local du Pi sur les calcifications vasculaires, le.a doctorant.e travaillera avec des souris comportant une délétion tissu-spécifique de PIT2/SLC20a2 dans les vaisseaux (*sm22^{Cre/+};PIT2^{lox/lox}*), sur lesquelles une néphrectomie sub-totale sera pratiquée (partenaire 4, Lyon) pour reproduire l'insuffisance rénale. Les altérations éventuelles de la morphologie et du métabolisme osseux qui sont traditionnellement associés à l'insuffisance rénale seront explorées par histomorphométrie osseuse. En fin de protocole le cœur et les vaisseaux seront prélevés et analysés par histologie et microtomographie (partenaire 3, Lyon) et par scRNAseq (notre équipe). La pertinence physiologique des molécules identifiées lors du scRNAseq sera réalisée en invalidant ces molécules dans des modèles organotypiques d'aorte.

Le rôle systémique du Pi sera évalué par l'utilisation de souris comportant une délétion tissu-spécifique de PIT2 dans les os (*Osx^{Cre/+};PIT2^{lox/lox}*), qui permet d'empêcher l'élévation de FGF23 lors d'une hyperphosphatémie. Après induction d'une insuffisance rénale, le.a doctorant.e évaluera la régulation de l'homéostasie du Pi dans ce modèle, ainsi que le phénotype osseux et vasculaire (en lien avec le partenaire 3, Lyon). Des expériences *in vitro* complémentaires seront aussi réalisées pour s'affranchir d'éventuels effets endocrines présents *in vivo*.

Enfin, pour évaluer l'impact de l'absorption paracellulaire du Pi dans la formation des calcifications vasculaires lors de l'insuffisance rénale, le partenaire 2 (St Etienne) a développé un modèle approprié (souris BSP KO). L'implication du doctorant.e de notre équipe sera de mesurer la perméabilité trans-intestinale au Pi dans ce modèle, avec ou sans insuffisance rénale.

Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat :

Le.a doctorant.e devra être à l'aise et maîtriser l'utilisation de la souris ; avoir une connaissance de base de la physiologie du squelette et des vaisseaux ; maîtriser les techniques de biologie cellulaire et moléculaire courantes (culture de cellules, transfection, western blot, RT-qPCR etc). Par-dessus tout, cette thèse requiert un très fort dynamisme, de l'enthousiasme et une motivation sans faille, un fort appétit d'apprendre et une réelle motivation pour la science fondamentale.

Collaborations établies sur ce projet :

Pr David Magne (Université de Lyon 1) ; Pr Denis Fouque (Université de Lyon 1) ; Pr Marie-Hélène Lafage-Proust (Université Jean Monnet, St Etienne) ; Dr Luc Malaval (Université Jean Monnet, St Etienne) ; Pr Marc G Vervloet (Amsterdam University Medical Center, Pays-Bas) ; Dr Aline Martin (Northwestern University, Chicago, USA) ; Pr Mariano Rodriguez (University of Cordoba, Espagne)

Contact :

Laurent BECK : 02 40 41 29 20, laurent.beck@inserm.fr