

Allocation SFD de Recherche "Jeune Chercheur Francophone" 2015

*«Mieux caractériser le risque rénal du sujet diabétique :
approche biomarqueur combinant fonction et structure rénales ».*

Pierre Jean SAULNIER

Centre d'Investigation Clinique
INSERM CIC1402
CHU Poitiers

D'octobre 2015 à octobre 2016, j'ai réalisé grâce à l'obtention de l'allocation « Jeune Chercheur Francophone » de la SFD une mobilité internationale de 12 mois en tant que Visiting Fellow aux NIH. Le laboratoire d'accueil à Phoenix - Arizona, USA (Phoenix Epidemiology and Clinical Research Branch [PECRB]) du National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK) est dirigé par le Dr C. Bogardus. Ce laboratoire a pour thématique générale d'identifier les déterminants du diabète et de l'obésité pour en améliorer prévention et traitement au travers d'approches épidémiologiques, physiologiques et génétiques. Une expertise internationale de cette problématique a été développée grâce notamment à l'analyse de populations d'Indiens du Sud-Ouest des USA et notamment les Indiens Pimas qui vivent en Arizona. Les membres de cette communauté présentent une des incidences de DT2 et de complications liées au diabète – essentiellement à type de néphropathie diabétique – les plus élevées au monde. En effet plus de la moitié des Indiens Pimas d'Arizona développeront un DT2, parmi lesquels plus de 60 % développeront une néphropathie diabétique. Depuis les années 60, le centre de recherche clinique du NIH à Phoenix AZ a mis en place un suivi de cohorte systématique couplé à des programmes d'exploration physiologique et des programmes interventionnels avec l'aide de cette communauté.

Ma thématique de recherche a été développée en étroite collaboration avec le Dr Robert G. Nelson au sein du Diabetes Epidemiology and Clinical Research Section. Elle était spécifiquement orientée sur l'identification de biomarqueurs de la maladie rénale diabétique et plus spécifiquement des anomalies de la fonction et de la structure rénale.

Lors de ce séjour, en même temps que j'ai poursuivi mes travaux sur l'exploration du déclin de la fonction rénale (chute du DFG et/ou pente annuelle de variation du DFG et de la progression vers l'IRCT [registre de dialyse]), j'ai été initié à l'analyse des lésions histologiques rénales issues de biopsies rénales. Mes travaux se sont basés à la fois sur des données issues d'un essai clinique interventionnel (ClinicalTrials.gov # NCT00340678) ainsi que sur des données issues de suivi de cohortes.

Ce séjour de mobilité a permis, outre l'extension de mon réseau professionnel les publications de 2 articles en tant que 1^{er} (*Diabetes*) et 2^e auteur (*Diabetes Care*) une présentation de travaux à 4 congrès internationaux :

1. ISN Forefronts: Metabolome and Microbiome in Kidney Disease 2016 23-25
Septembre 2016 San Diego, CA, USA (1 poster)
2. 11th Annual NIDDK Scientific Conference 7-8 Avril 2016 Bethesda, MD, USA
(communication orale)
3. 76th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (ADA) June 9-13,
2016 New Orleans, LA, USA (3 posters)
4. Congrès annuel de la Société Américaine de Néphrologie (ASN) 3-8 Novembre
2015-San Diego, CA, USA (communication orale)

Les différents travaux menés ou initiés directement en lien avec l'allocation sont les suivants :

- **Produits de glycation avancée**

L'hyperglycémie chronique induit une glycation non enzymatique de protéines et engendre des produits de glycation avancée (AGE pour Advanced Glycation Endproducts). Ces composés sont extrêmement réactifs et se lient de manière irréversible aux protéines de la matrice extracellulaire ainsi qu'aux autres composants cellulaires. Les AGEs circulants peuvent également induire des dégâts cellulaires en activant, via leur récepteur (RAGE), des cascades inflammatoires et profibrotiques.

Les patients ayant participé à cette étude sont issus de la population amérindienne Pimas et ont été suivis pendant plus de 14 ans. J'ai montré que des concentrations plus élevées d'AGEs mesurées dans le plasma s'associaient a) à un déclin de fonction rénale plus important et b) à des lésions histologiques plus sévères de glomérulopathie diabétique. **(Saulnier et al. *Diabetes* 2016 Dec;65(12):3744-3753.)**

Ce résultat est extrêmement intéressant puisqu'il permet de mettre en avant la valeur prédictive d'un marqueur sanguin vis-à-vis des lésions histologiques intra rénales. Nous nous rapprochons ici de la mécanistique de la physiopathologie de la maladie rénale diabétique.

Ce travail m'a permis d'explorer un peu plus le phénotype des complications rénales en utilisant :

a) des mesures de la fonction rénale par la clairance du iothalamate au lieu, jusque-là, d'estimation du DFG basée sur la concentration plasmatique de créatinine

b) des données histologiques issues de biopsies rénales.

Il m'a également permis de renforcer mes compétences techniques vis-à-vis du logiciel statistique SAS tout en améliorant mes connaissances épidémiologiques appliquées, en particulier aux mesures de la performance de modèle, de l'imputation de données et de la validation de modèle par technique d'échantillonnage (bootstrap).

- **Inhibition du système Rénine-Angiotensine, néphroprotection et effet mémoire**

Nous avons fait l'hypothèse qu'un traitement par losartan, initié à un stade précoce de la néphropathie diabétique, chez des patients atteints de DT2 pouvait produire un effet long terme (mémoire) néphroprotecteur.

Pour vérifier cela, nous avons analysé les données de 169 patients amérindiens diabétiques de type 2 initialement normo ou microalbuminuriques ayant participé à un essai clinique randomisé évaluant l'effet néphroprotecteur du losartan contre placebo. Au terme des 6 ans de l'étude interventionnelle, les patients ont ensuite continué à être suivis pendant 8 ans complémentaires (suivi en ouvert) et ont fait l'objet de mesures annuelles de leur DFG.

Pour ce travail, le déclin de la fonction rénale a été défini comme critère de jugement principal par une chute du DFG < 60 ml/min (ou une chute de la moitié de sa valeur chez les patients avec un DFG initial < 120 ml/min). A la fin du suivi à 6 ans, trop peu de patients avaient présenté le critère de jugement principal de l'essai pour permettre de conclure. Toutefois les patients microalbuminuriques traités par losartan avaient moins de lésions de glomérulosclérose que les patients microalbuminuriques du groupe placebo (en particulier moins d'expansion mésangiale). Au décours du suivi à long terme, 29 participants du groupe losartan et 35 du groupe placebo ont présenté le critère de jugement principal. Le risque de déclin de la fonction rénale n'était toutefois pas significativement différent entre les deux groupes (HR 0.72, IC95 : 0.44-1.18). **(Tanamas et al. [saulnier 2^e auteur] *Diabetes Care*. 2016 Nov;39(11):2004-2010.)**

Nous n'avons pas pu confirmer l'hypothèse de l'effet néphroprotecteur à long terme d'un traitement précoce par losartan vis-à-vis du risque de déclin rénal de patients avec DT2. Ce travail s'appuie sur un des rares essais cliniques interventionnel à visée néphroprotectrice, avec un tel recul de 14 ans.

- **Métabolites de la fonction mitochondriale**

Les travaux récents du groupe du Pr K. Sharma (Institute of Metabolomic Medicine - Center for Renal Translational Medicine, University of California, San Diego, CA, USA) ont montré que les concentrations urinaires de métabolites liés à la fonction mitochondriale étaient réduites chez les patients présentant une maladie rénale diabétique avancée.

En pratique, nous avons réalisé des travaux préliminaires en collaboration avec le groupe du Pr K. Sharma au sein de la population des amérindiens Pimas. Nous avons montré qu'une baisse des métabolites urinaires liés à la fonction mitochondriale est associée à un niveau plus élevé de stress oxydant (AGEs) et surtout à la sévérité des lésions histologiques rénales. Nous souhaiterions aller plus loin dans l'exploration de la relation entre fonction mitochondriale et stress oxydant en proposant un modèle préclinique d'étude de l'influence des AGEs exogènes sur la production des métabolites mitochondriaux par des cellules tubulaires rénales (lignée HK-2).

Publication en cours de finalisation

- **Sérum amyloïde A (SAA)**

Les protéines de la famille du sérum amyloïde A (SAA) sont des médiateurs pro inflammatoires, synthétisés par les hépatocytes, mais également par les cellules rénales comme le podocyte. Chez l'homme, des concentrations élevées de SAA ont été associées transversalement avec une baisse du DFG chez des sujets atteints de DT2 et prospectivement avec une augmentation du risque de décès chez les patients présentant une néphropathie diabétique avancée (cohorte Goldenstate, Californie).

Je souhaite évaluer la valeur pronostique du SAA :

- a) dans des populations indépendantes de sujets amérindiens et européens présentant des stades plus précoces de néphropathie diabétique (approche de réplication), pour ce qui est du risque de déclin de la fonction rénale,
- b) vis-à-vis des modifications histologiques rénales de néphropathie diabétique dans des populations amérindiennes pour lesquelles les données de biopsie rénale répétées sont disponibles (2 biopsies à 6 ans d'intervalle). L'analyse morphométriques de ces biopsies rénales a été réalisée au sein de l'équipe du Dr M. Mauer (University of Minnesota Twin Cities, Minneapolis, MN, USA).

La partie évaluant SAA comme biomarqueurs candidat de la néphropathie diabétique chez les indiens Pimas a été soumise à *American Journal of Kidney Disease*.

Mon approche sera également mise en perspective avec :

- a) des données de polymorphismes du gène codant pour SAA1 issues d'une puce Axiom Affymetrix customisée spécifiquement pour la population Pimas pour une inférence de causalité : pour évaluer si la relation entre les concentrations circulantes de SAA et la survenue de complications au long court est causale, je projette d'utiliser la technique de randomisation mendélienne (partenariat NIH Phoenix).
- b) des données d'expression intra tissulaire (biopsie rénale) du transcrite du gène SAA1 (partenariat Dr M. Kretzer University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA)

