

« Relevance clinique de l'implication de l'acide lysophosphatidique dans la néphropathie diabétique »

L'acide lysophosphatidique (LPA) est un lysophospholipide régulateur de diverses réponses cellulaires (prolifération, migration, différenciation, ...) via l'activation de récepteurs spécifiques (LPA1 à LPA6) couplés aux protéines G. Il existe plusieurs espèces moléculaires de LPA selon la nature des acides gras entrant dans sa composition (saturé, insaturé, chaîne carbonée plus ou moins longue). Le LPA est présent dans le sang, les urines et dans certains organes, et sa production augmente dans des pathologies comme le cancer, l'athérosclérose ou l'obésité. Le LPA participe lui-même à ces pathologies en agissant sur la prolifération et la migration cellulaire, et/ou en induisant des désordres métaboliques (ex : intolérance au glucose, inhibition de la sécrétion d'insuline) et structuraux (ex : fibrose) majeurs. La production extracellulaire de LPA dépend de la balance entre des enzymes de synthèse (autotaxine, phospholipase A2/A1) agissant sur divers précurseurs [lysophosphatidylcholine (LPC), acide phosphatidique], et des enzymes de dégradation [Lipid phosphate phospho-hydrolases (LPP)].

1- Analyse des lysophospholipides par LC/MS-MS.

Une partie importante du projet est basée sur l'analyse quantitative et qualitative, dans le plasma et l'urine, des différentes espèces moléculaires de LPA et de lysophosphatidylcholine (LPC). Grâce à l'aide de la SFD, nous avons pu finaliser la mise au point d'un dosage des différentes espèces moléculaires de LPA et de LPC par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie en tandem (LC/MS-MS) en collaboration avec le Plateau Metatoul-Lipidomique de Toulouse (Responsable : Justine Bertrand-Michel). La méthode permet la quantification simultanée de 8 espèces moléculaires de LPA et de LPC (C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C20:0, C20:4, C22:0, C24:0) à partir de plasma (10-25 µl) et d'urine (100-250 µl) (voir exemple, Figure 1). Cette méthode est maintenant validée et proposée en prestation sur le Plateau de Lipidomique de l'I2MC (<http://www.i2mc.inserm.fr/applications-en-lipidomique-442184.kjsp?RH=1303915240510>).

2- Lysophospholipides et néphropathie diabétique.

Le diabète de type 2 est un facteur de risque majeur de développement de l'insuffisance rénale chronique. Nos travaux antérieurs ont montré que le LPA était impliqué dans la mise en place du diabète de type 2 associé à l'obésité (*Diabetologia* 2013, 56:1394-402) ainsi que dans la fibrose rénale (*J Am Soc Nephrol.* 2007 Dec;18(12):3110-8 ; *Biochim Biophys Acta.* 2008 Sep;1781(9):582-7). Des travaux récents ont montré que le LPA, et son précurseur le LPC, s'accumulaient dans les reins de souris diabétiques eNOS-/- db/db présentant des signes d'atteintes rénales, comparativement à des souris indemnes de néphropathie (*Journal of lipid research* 2014, 55:1375-85). Nous avons étudié l'implication du LPA dans le développement de la néphropathie diabétique (ND).

Nous avons analysé la composition en lysophospholipides (LPA et LPC) dans le plasma et l'urine de patients diabétiques (collaboration avec le Pr. Samy Hadjadj, CHU Poitiers et le Pr. Pierre Gourdy, CHU Toulouse). Nos résultats montrent que la concentration urinaire des lysophospholipides (principalement le LPC) augmente

fortement chez des patients diabétiques atteints de ND (n=41) comparativement à des hommes diabétiques sans atteinte rénale (n=41). Chez les patients ND, le LPC urinaire est étroitement corrélé à l'albuminurie. En parallèle, les taux plasmatiques de LPA et de LPC restent inchangés.

Ces résultats valident l'hypothèse d'une implication des lysophospholipides dans la néphropathie diabétique. Nos résultats montrent également que les lysophospholipides urinaires constituent des biomarqueurs potentiels de la ND. Se pose alors la question de l'avantage de tels biomarqueurs comparativement à ceux déjà existants (ex: albuminurie). Notre objectif est maintenant de rechercher l'éventuelle valeur pronostique des lysophospholipides urinaires. Pour cela nous envisageons la mise en place d'études de suivi des taux urinaires des lysophospholipides dans les phases précoces de mise en place de la ND chez l'animal et chez l'Homme.

3/ Publications -Présentations

La méthode de dosage des lysophospholipides par LC/MS-MS a été publiée en 2016 :

- Mirzoyan K, Baiotto A, Dupuy A, Marsal D, Denis C, Vinel C, Sicard P, Bertrand-Michel J, Bascands JL, Schanstra JP, Klein J, Saulnier-Blache JS. Increased urinary lysophosphatidic acid in mouse with subtotal nephrectomy: potential involvement in chronic kidney disease. **J Physiol Biochem**. 2016 Dec;72(4):803-812.

Les travaux sur la néphropathie diabétique ont fait l'objet d'un manuscrit soumis à publication à **Diabetologia**.

Ces travaux ont également été présentés sous forme de poster au **Congrès annuel de la Société Francophone du Diabète** (Bordeaux, Mars 2015) ainsi que sous forme de présentations orales au **Journées de l'Ecole Doctorale Bio-Santé** de Toulouse (14 Avril 2016) et au 13th French-Spanish Meeting of **the Conferences on Trans-Pyrenean Investigations in Obesity and Diabetes** (7 Juin 2016, Toulouse).