



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **09 mars 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **MICHAUX Arnaud**

Titre de la thèse : « Carence en vitamine K et polymorphisme du gène *Vkorc1* chez le rat : vers un nouveau modèle d'étude des calcifications vasculaires »



## Résumé

La vitamine K permet l'activation biologique de 14 protéines identifiées à ce jour et qualifiées de "vitamines K dépendantes" (PVKD). Ces PVKD peuvent être d'origine hépatique et jouer un rôle important dans l'hémostase ou extra-hépatiques, et intervenir dans l'équilibre phosphocalcique, énergétique ou encore l'inflammation. Un recyclage très efficace de la vitamine K par l'enzyme *VKORC1* permet d'en limiter grandement les besoins nutritionnels, ce qui explique que la carence totale pour cette vitamine n'est pas décrite dans la population générale. Chez certaines personnes, une subcarence pourrait cependant exister et contribuer au développement de calcifications de la média des parois vasculaires et augmenter ainsi le facteur de risque cardio-vasculaire. Ce type de calcification est retrouvé chez les personnes hémodialysées, présentant un diabète ou tout simplement au cours du vieillissement. Le lien entre cette subcarence et les calcifications vasculaires est difficilement étudiable chez l'Homme du fait d'une évolution lente et d'effets pouvant être masqués par d'autres facteurs environnementaux. Pour pouvoir étudier directement ce phénomène, un modèle animal a été développé et caractérisé. Des rats sauvages présentant une mutation simple sur le gène *Vkorc1* ont été croisés sur 10 générations avec des rats de laboratoire de type Sprague Dawley. La lignée ainsi créée dispose d'un fond génétique de rat de laboratoire et n'est mutée que pour le gène *Vkorc1*. Cette mutation augmente fortement leur besoin en vitamine K dans l'alimentation du fait d'un recyclage fortement altéré. En outre, un régime alimentaire déficient en vitamine K a été administré à ces rats pendant plusieurs semaines.

Après 12 semaines de subcarence, les rats mâles présentaient des calcifications vasculaires médiales importantes de l'aorte, des poumons, des testicules et du cœur, et ces calcifications augmentent proportionnellement avec la durée de la restriction. La coagulation est maintenue bien qu'une diminution de l'activité des facteurs de la coagulation vitamine K dépendants soit observée. La matrix-gla-protéine tissulaire ainsi que l'ostéocalcine plasmatique, qui sont des PVKD impliquées dans l'inhibition des calcifications vasculaires, sont retrouvées accumulées

sous leur forme inactive. Dans le même temps, la concentration en vitamine K tissulaire est très fortement diminuée. Ces résultats ne sont pas observés chez les rats non mutés subcarencés ni chez les rats mutés non-subcarencé. De manière générale la subcarence n'a qu'un impact limité chez les femelles bien que de légères calcifications vasculaires soient également observées.

Les tentatives de subcarences en vitamines K chez des rats Spragues Dawleys sont soit sans effets sur l'apparition de calcifications vasculaires soit ils se traduisent par une forte mortalité par hémorragie témoignant d'une marge très étroite entre carence et subcarence chez ces animaux. Dans notre modèle, cette marge est artificiellement augmentée. Le peu de vitamine K disponible apporté par l'alimentation ou par l'activité de coprophagie se retrouve prioritairement utilisé par le foie permettant ainsi la synthèse des PVKD hépatiques impliquées dans la coagulation. Les tissus périphériques sont fortement déplétés en vitamine K et les PVKD extra-hépatiques se retrouvent accumulées sous leur forme inactive.

Ce travail permet pour la première fois de montrer l'existence d'un lien fort entre subcarence en vitamine K et calcifications vasculaires. Ce modèle de subcarence qui est simple à mettre en place et non invasif pourrait servir à une meilleure compréhension du rôle des différentes PVKD extra-hépatiques. Il constitue également un modèle de choix pour l'étude des calcifications médiales et de leurs évolutions.

**Mots-clés :** Vitamine K, Phylloquinone, Ménaquinone, subcarence, *Vkorc1*, *Vkorc1l1*, minéralisations vasculaires, rat, MGP, Ostéocalcine, PVKD.