

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Date de la soutenance : **24 novembre 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame ANDRINI Olga**

Titre des travaux : *Canaux ioniques et transporteurs : implications physiopathologiques dans les troubles rénaux et cardiaques*



Résumé

Mes travaux de recherche portent sur l'étude fonctionnelle des canaux ioniques et des transporteurs dans différents contextes biologiques. En particulier, je m'intéresse à leurs fonctions physiologiques et aux processus physiopathologiques associés à leurs dysfonctionnements. Pour cela, je combine des approches de biologie moléculaire et cellulaire, d'électrophysiologie, et de génétique dans plusieurs systèmes modèles.

Mon premier axe de recherche s'est développé sur rôles des canaux chlorure rénaux dans la régulation de la balance hydrosodée et dans le syndrome de Bartter.

Le transport transépithélial du chlorure par le tubule rénal est essentiel pour le maintien de la pression artérielle, l'équilibre acido-basique et l'homéostasie du potassium. Ce transport à travers l'épithélium rénal nécessite une entrée apicale de chlorure qui est assurée par des transporteurs couplés (NKCC2, NCC, Pendrin) bien connus car ils sont la cible de certains natriurétiques/diurétiques (furosemide, thiazides). Par contre, la sortie basolatérale de chlorure est mal comprise et a été l'objet de la première partie du projet de recherche à caractère fondamentale. J'ai établi que ClC-Kb est le principal canal chlorure basolatéral dans l'ensemble du néphron distal chez la souris. Ce projet a permis de générer un modèle de souris qui récapitule le phénotype retrouvé chez les patients atteints du syndrome de Bartter de type III : alcalose métabolique, hypovolémie, hypokaliémie, perte rénale de NaCl et d'eau associée à un hyperaldostéronisme secondaire. Durant mon post-doctorat, j'ai également développé un projet en interface entre la recherche fondamentale et la recherche clinique. En effet, avec l'accès accru aux analyses d'exome, voir de génome entier de patients, il est de plus en plus souvent nécessaire de valider fonctionnellement les variants génétiques identifiés chez les patients. Forte de mon expérience en physiologie rénale et en l'analyse structure/fonction sur les protéines membranaires acquises durant mon doctorat et post-doctorat, j'ai développé une thématique de recherche propre sur l'analyse de variants des canaux chlorure rénaux. En collaboration avec l'équipe médicale du service de génétique du Dr Rosa Vargas-Poussou (Hôpitaux Universitaires Paris Ouest), j'ai étudié plusieurs variants pathogènes et à signification incertaine en utilisant plusieurs modèles d'expression. J'ai ainsi établi le défaut fonctionnel des variants du canal chlorure (gène *CLCNKB*) et classifié comme pathogènes des variants à signification inconnue qui causent le syndrome de Bartter. J'ai ainsi acquis et consolidé des capacités d'analyse de variants pathogènes sur différents modèles de sur expression.

Actuellement je m'intéresse à la caractérisation fonctionnelle de canaux potassiques chez *C. elegans*. Les canaux potassiques à deux domaines pores (canaux K2P) forment une grande famille de canaux ioniques conservés qui jouent un rôle central dans l'établissement et le maintien du potentiel électrique de

membrane des cellules animales. Ils régulent l'excitabilité neuronale, la sécrétion hormonale, les fonctions respiratoires et cardiaques.

Récemment, des mutations des canaux K2P ont été impliquées dans des maladies humaines rares affectant le fonctionnement du cœur et du système nerveux (syndrome Birk Barel, troubles de la conduction cardiaque, et trouble du neurodéveloppement FHEIG). Pourtant, les processus cellulaires et les acteurs moléculaires qui régulent spécifiquement l'expression, l'activité et la localisation des canaux K2P à la surface des cellules sont encore mal connus. Par conséquent, la question centrale abordée par l'équipe que j'ai intégrée est la suivante : comment le nombre de canaux présents à la surface des cellules est-il contrôlé *in vivo* ? En quoi les dysfonctionnements des K2P perturbent-ils l'excitabilité et la physiologie cellulaire ?

Pour répondre à ces questions fondamentales, nous utilisons des approches génétiques chez le nématode modèle *C. elegans* afin d'identifier les facteurs qui régulent le trafic, l'expression et la localisation subcellulaire des canaux K2P. Le point de départ de ces cribles génétiques sont des mutants gain de fonction qui provoquent des phénotypes comportementaux forts et facilement identifiables comme par exemple la perte de mobilité ou des défauts dans la ponte des embryons.

J'ai étudié les propriétés intrinsèques de 8 des 47 canaux K2P de *C. elegans*. J'ai également généré et utilisé des formes mutées de ces canaux ioniques comme outils essentiels pour comprendre les déterminants biophysiques qui contrôlent leur activation. J'ai ainsi démontré le rôle universel d'un acide aminé situé dans le deuxième domaine transmembranaire des K2P dans l'activation des canaux K2P. Grâce à la combinaison de méthodes électrophysiologiques et d'ingénierie génétique chez *C. elegans* (CRISPR/Cas9), nous avons démontré que le rôle du résidu TM2.6 est conservé au cours de l'évolution chez les vertébrés et les invertébrés. Cette étude décrit donc une stratégie simple et puissante pour manipuler systématiquement l'activité de tous les canaux potassiques à deux domaines pores.

Le projet de recherche que je souhaite développer porte sur l'évaluation fonctionnelle *in vivo* et *in vitro* de variants de d'un canal potassique cardiaque par génie génétique et électrophysiologie.

La modélisation des variantes pathologiques est essentielle pour comprendre le mécanisme moléculaire qui sous-tend la pathogénicité et identifier des cibles thérapeutiques potentielles.

Avec la montée en puissance du séquençage génomique, un nombre toujours croissant de variants/mutations sont répertoriés dans les bases de données nationales ou internationales.

Si le diagnostic est simple pour les variants fréquemment observés, les cas rares et les mutations de novo posent un problème d'interprétation majeur.

La confirmation la pathogénicité d'un variant chez le cas index a également des répercussions importantes sur le suivi médical des apparentés qui seront soumis, ou non, à un suivi médical régulier, lourd et parfois anxiogène, en particulier pour les jeunes enfants.

Pour cela, nous allons associer deux approches complémentaires. D'une part, nous modéliserons l'effet des mutations de patients *in vivo* en utilisant une approche de génie génétique (CRISPR/Cas9) chez le nématode modèle *C. elegans*. En recréant les mutations de patients dans unc-103 – l'orthologue nématode du canal potassique cardiaque humain – nous pourrions analyser, *in vivo*, l'impact de mutations de patients sur la biosynthèse, l'assemblage et le trafic du canal dans un contexte cellulaire natif. D'autre part, nous étudierons les altérations fonctionnelles des canaux mutés par expression hétérologue en ovocyte de *X. laevis*. Cette double approche est originale et n'a pas été utilisée jusqu'ici. L'utilisation des deux approches complémentaires promet une évaluation plus exhaustive des variants et de leur imputabilité dans un syndrome impactant le rythme cardiaque.