



La O-GlcNAcylation, une nouvelle cible pour la prise en charge de la décompensation cardiaque aiguë dans les situations de choc

Professeur Benjamin Lauzier

Professeur invité, Université de Montréal
Chercheur invité, Centre de recherche de l'hôpital Sainte Justine

Equipe II, pharmacologie et cardiomyopathie

L'unité de recherche de l'institut du thorax

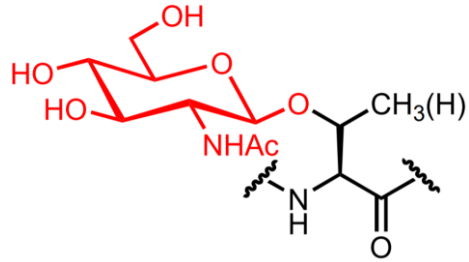
Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291

Nantes, France

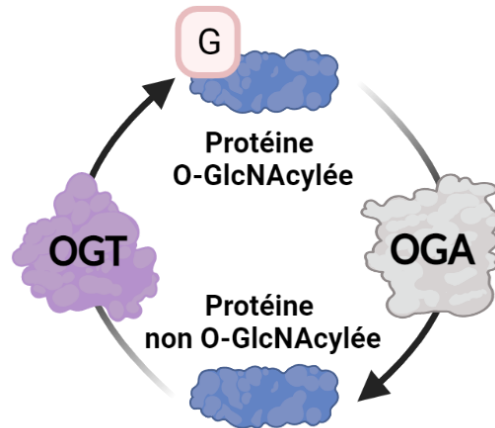
Assemblée générale de l'Association des Enseignants de
Biochimie et Biologie moléculaire des Facultés de Pharmacie,
vendredi 24 mars 2023



La O-GlcNAcylation

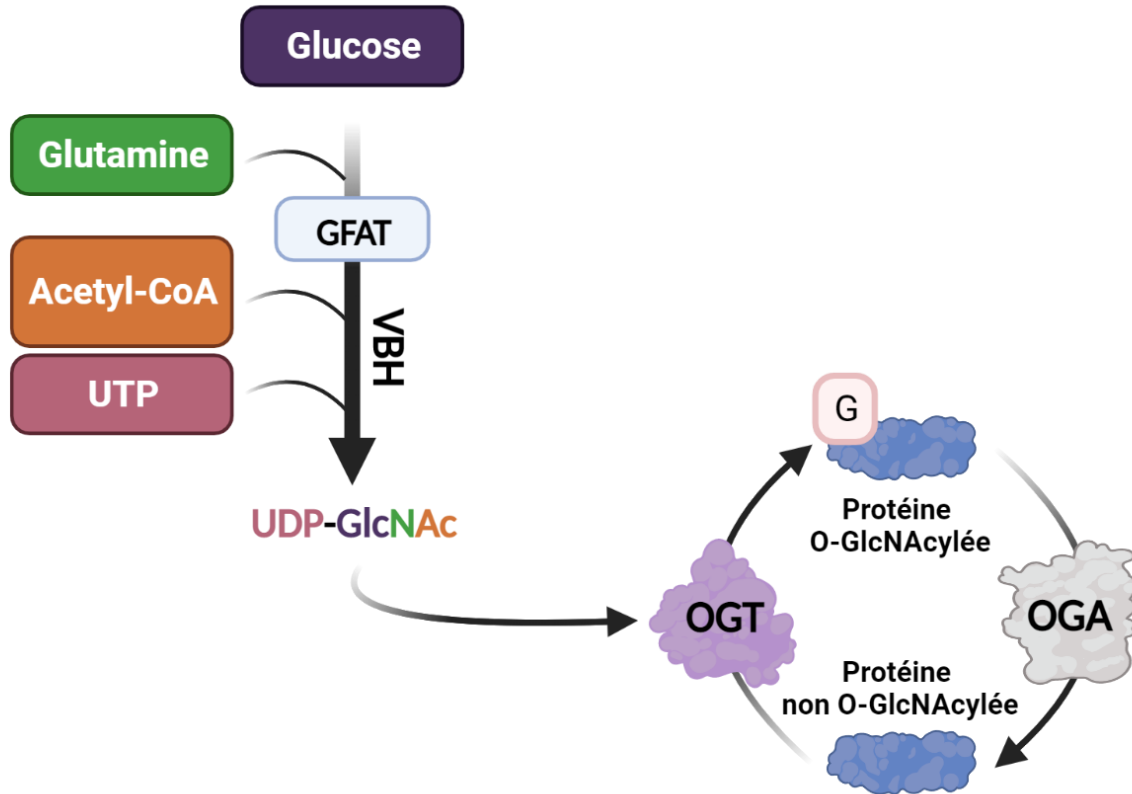


GlcNAc (N-acétylglucosamine) – Thréonine ou sérine

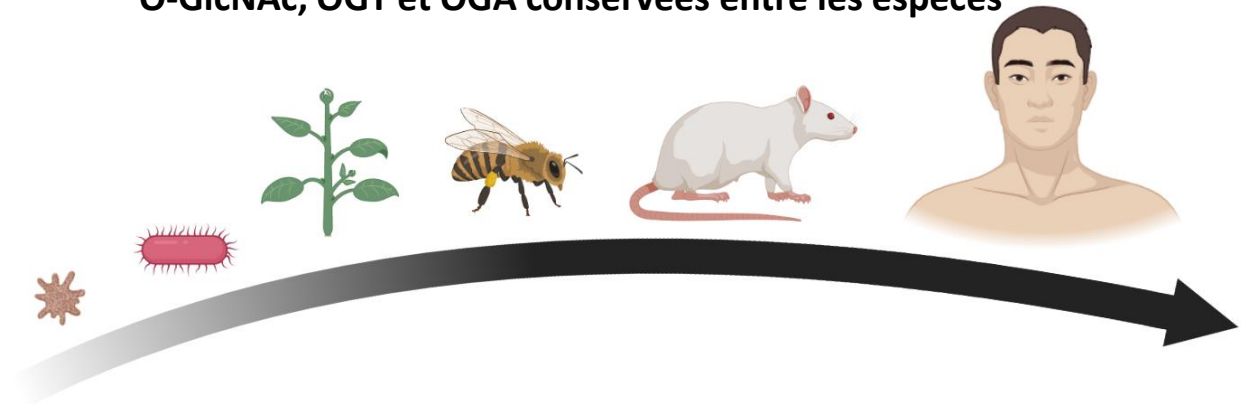


La O-GlcNAcylation

Senseur métabolique

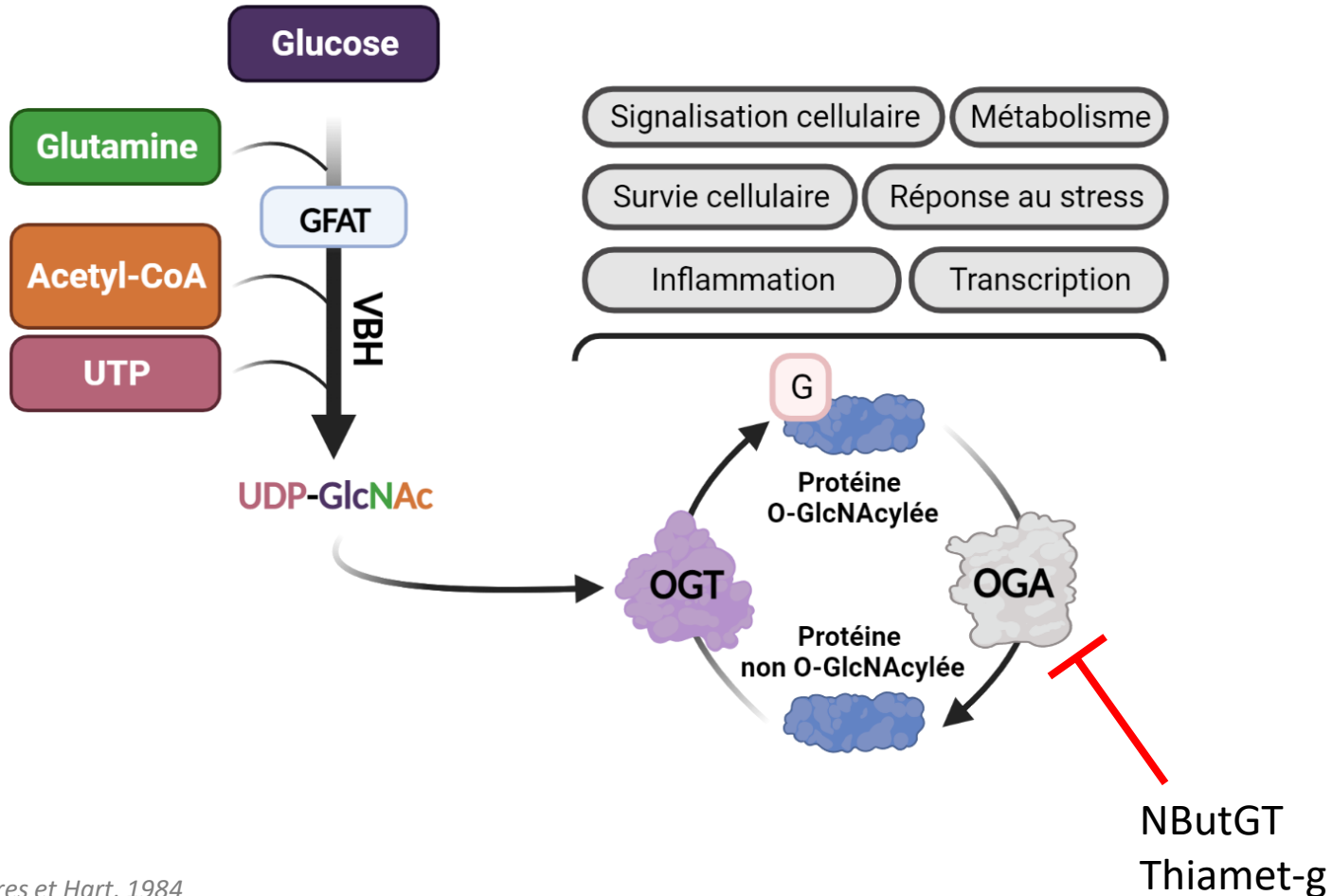


O-GlcNAc, OGT et OGA conservées entre les espèces



La O-GlcNAcylation

Senseur métabolique



8000 protéines O-GlcNAcylées chez l'Humain

*tous les compartiments cellulaires
tous les organes*

Bénéfique

*Ischémie-reperfusion
Insuffisance cardiaque*

NButGT
Thiamet-g

Définition de l'état de choc

Insuffisance circulatoire aiguë et critique, aboutissant à une dysoxie tissulaire

2019 : 1 patient sur 4 admis en unité de soins intensifs

Une personne décède toutes les 2 secondes des suites d'un état de choc

Définition de l'état de choc

Insuffisance circulatoire aiguë et critique, aboutissant à une dysoxie tissulaire

2019 : 1 patient sur 4 admis en unité de soins intensifs

Une personne toutes les 2 secondes décède des suites d'un état de choc

4 types d'état de choc :



Distributif

(septique, anaphylactique)



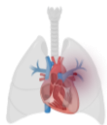
Hypovolémique

(hémorragie, choléra, grands brûlés)



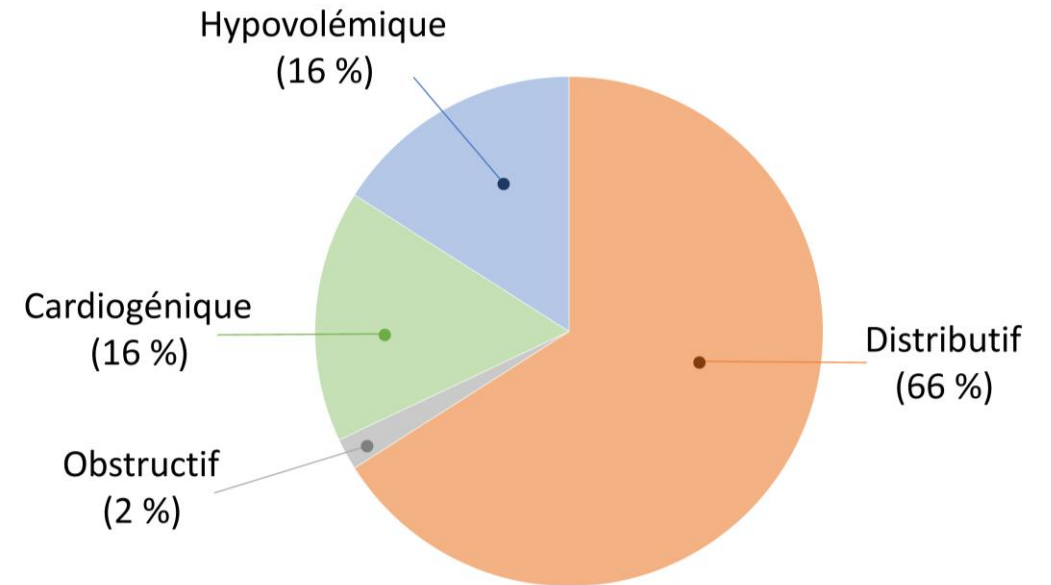
Cardiogénique

(arythmies, valvulopathies)



Obstructif

(embolie pulmonaire, tamponnade cardiaque)



Définition de l'état de choc

Insuffisance circulatoire aiguë et critique, aboutissant à une dysoxie tissulaire

2019 : 1 patient sur 4 admis en unité de soins intensifs

Une personne toutes les 2 secondes décède des suites d'un état de choc

4 types d'état de choc :



Distributif

(*septique, anaphylactique*)



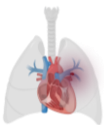
Hypovolémique

(*hémorragie, choléra, grands brûlés*)



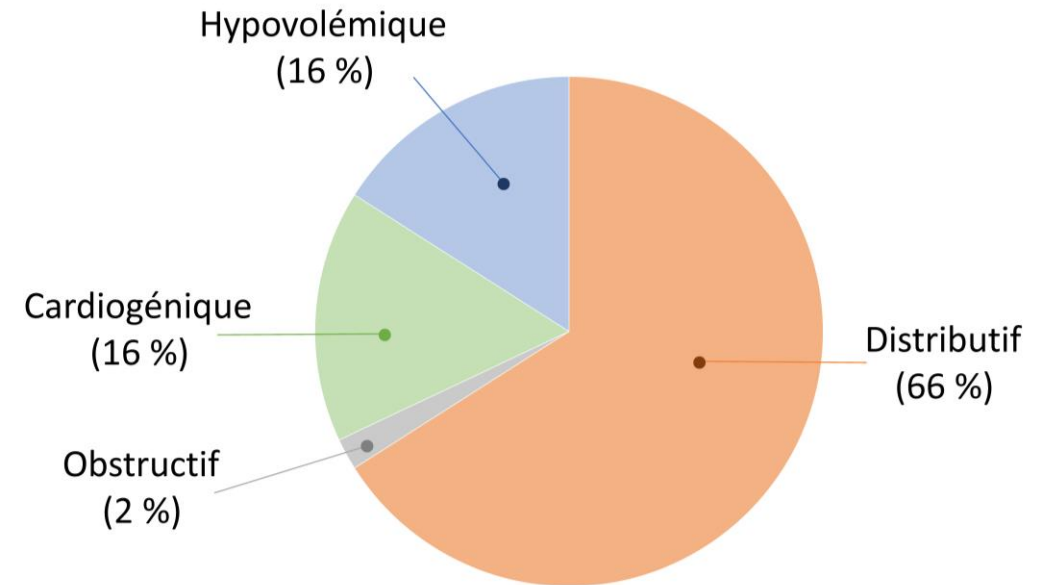
Cardiogénique

(*arythmies, valvulopathies*)



Obstructif

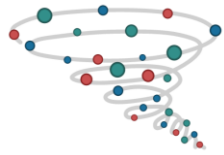
(*embolie pulmonaire, tamponnade cardiaque*)



Physiopathologie de l'état de choc

Insuffisance circulatoire aiguë et critique, aboutissant à une dysoxie tissulaire

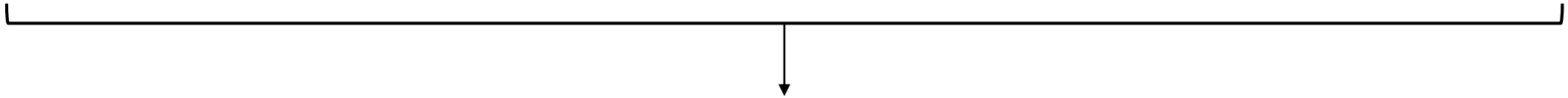
Inflammation



Chute de la pression artérielle



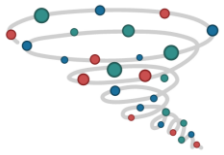
Désordres métaboliques



Physiopathologie de l'état de choc

Insuffisance circulatoire aiguë et critique, aboutissant à une dysoxie tissulaire

Inflammation



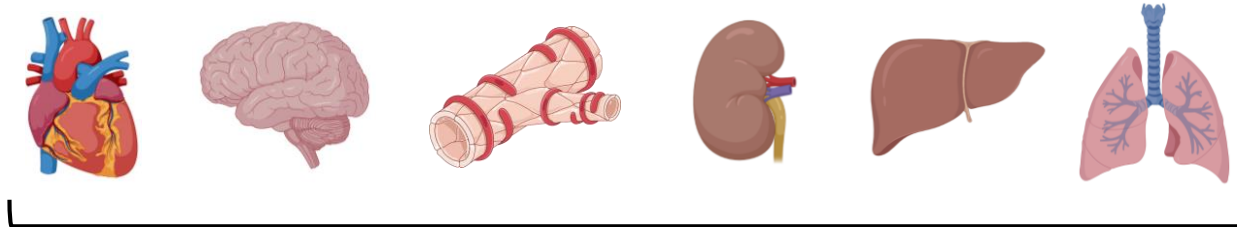
Chute de la pression artérielle



Désordres métaboliques



Syndrome de dysfonction multiple d'organe



30 à 50 % de mortalité



Bertrand Rozec

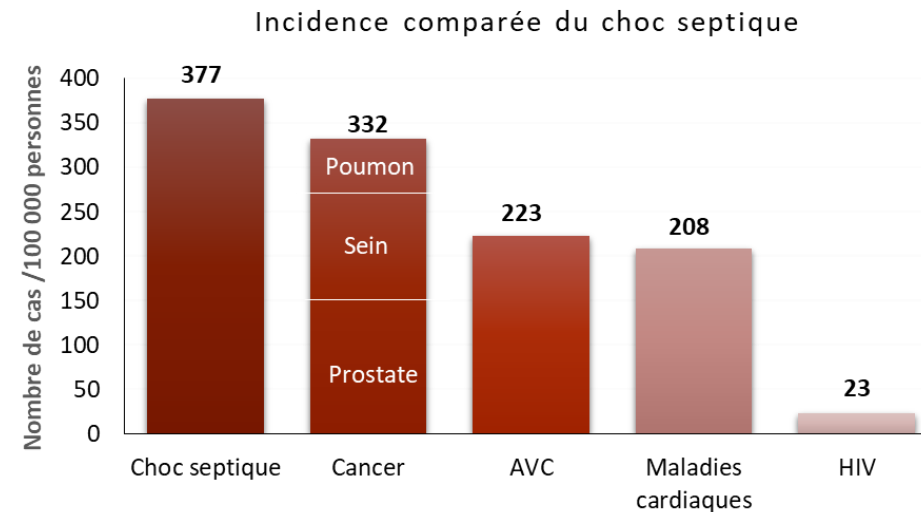
Choc septique

« Réponse dérégulée de l'hôte à un agent pathogène infectieux conduisant à une dysfonction d'organe »

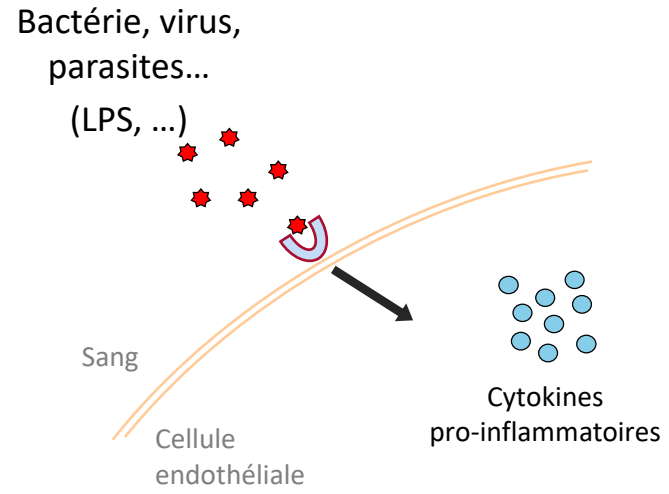
Dans le monde :

- 1 décès toutes les 3 secondes
- 6 millions de décès par an

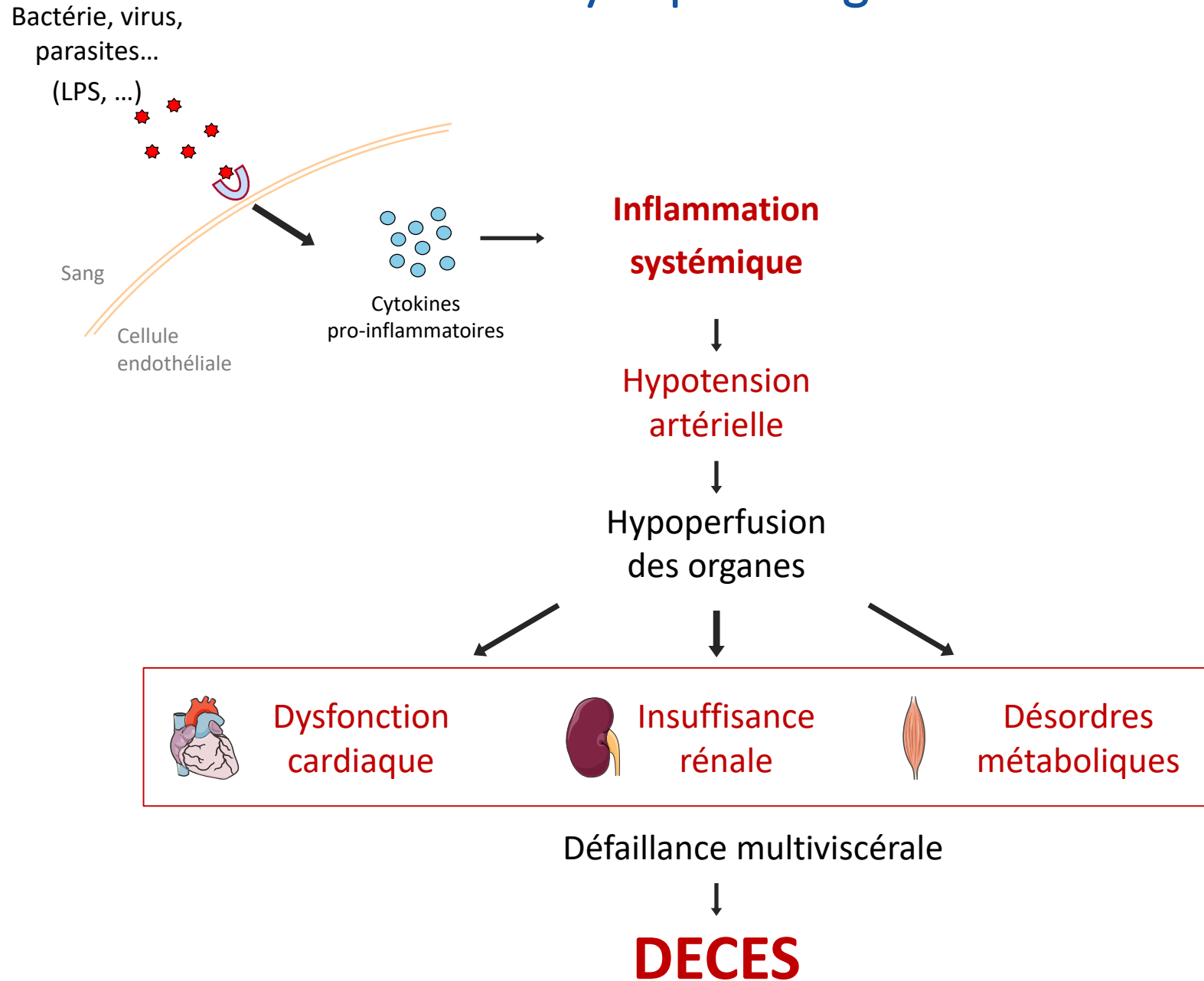
Mortalité à 28 jours : 42 % en 2014



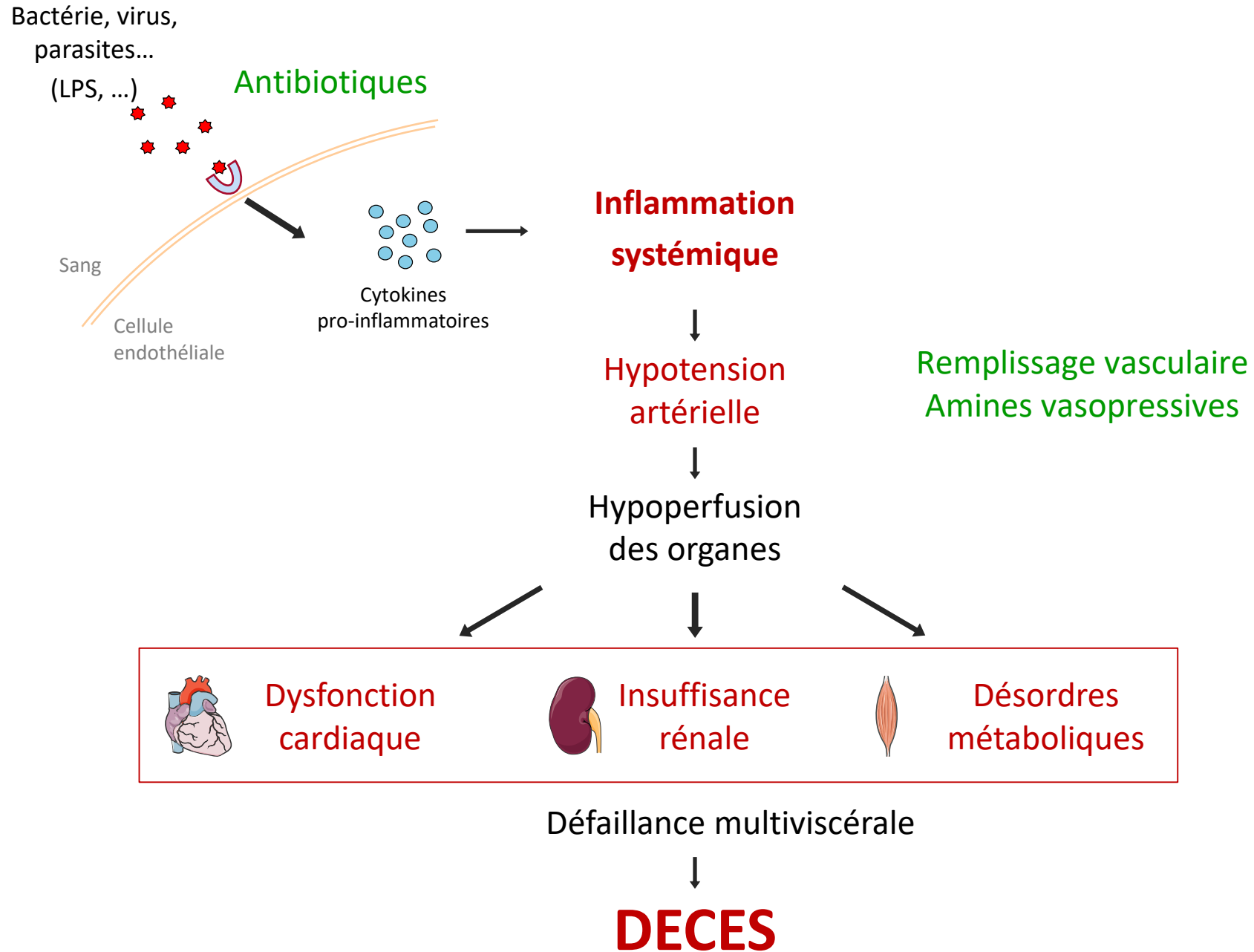
Physiopathologie



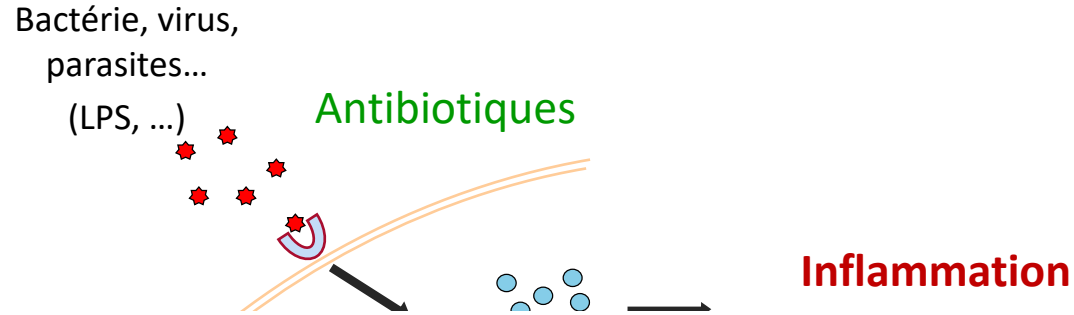
Physiopathologie



Recommandations



Echec des essais thérapeutique



For sepsis, the drugs don't work

On Oct 25, 2011, Eli Lilly announced the voluntarily withdrawal from the market of drotrecogin alfa (activated), marketed as Xigris, a drug licensed for the treatment of severe sepsis. Drotrecogin alfa, a recombinant form of human activated protein C with anticoagulant and anti-inflammatory activity, was the only pharmaceutical available designed specifically to treat sepsis. Its withdrawal marks the end of another chapter in the inglorious history of the search for a specific treatment for sepsis.

Sepsis is a systemic response to infection, characterised by hemodynamic instability, mental confusion, and tachypnoea. Gram negative bacteria account for most cases of sepsis, but the disorder can also be caused by Gram positive organisms and fungi. Sepsis manifests in its most severe form as septic shock, when patients display hypotension and organ failure, caused by dysregulation of the immune response to infection. The key to managing sepsis is early treatment, but it can be difficult to diagnose



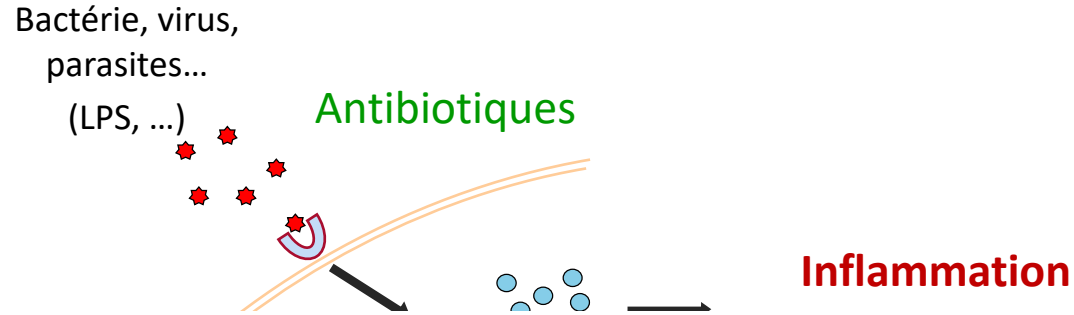
For European Medicine Agency

Défaillance multiviscérale



DECES

Echec des essais thérapeutique



For sepsis, the drugs don't work

« L'OMS appelle à une action mondiale contre l'état septique, responsable d'un décès sur 5 dans le monde » (2020)

chapter in the ingenious history of the search for a specific treatment for sepsis.

response to infection. The key to managing sepsis is early treatment, but it can be difficult to diagnose

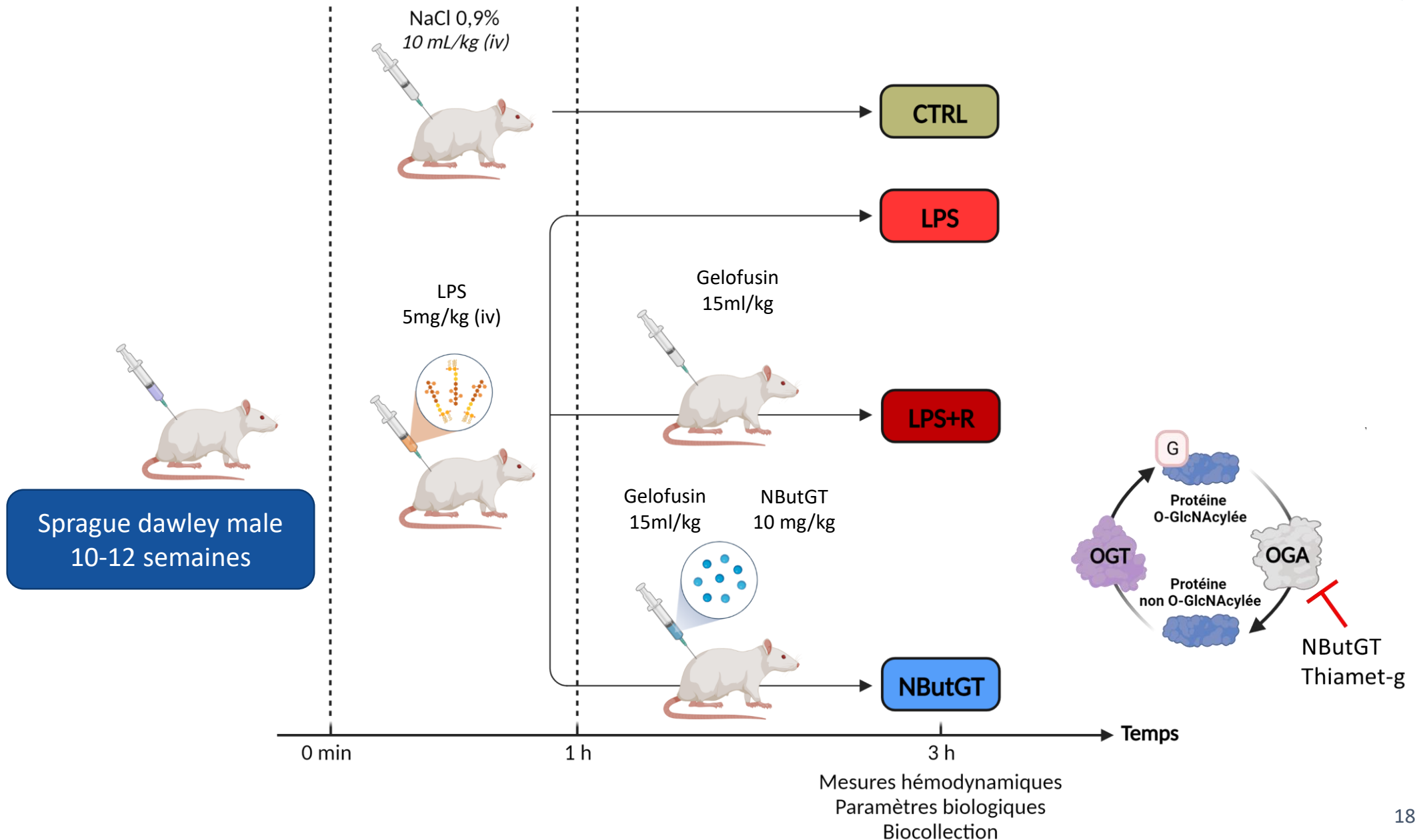
For European Medicine Agency

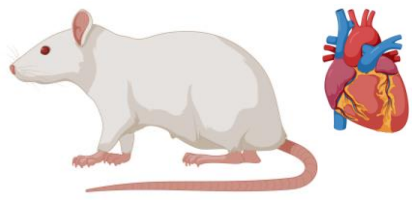
Défaillance multiviscérale



DECES

Modèle de choc endotoxémique chez le jeune rat



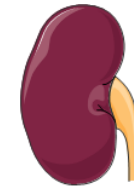
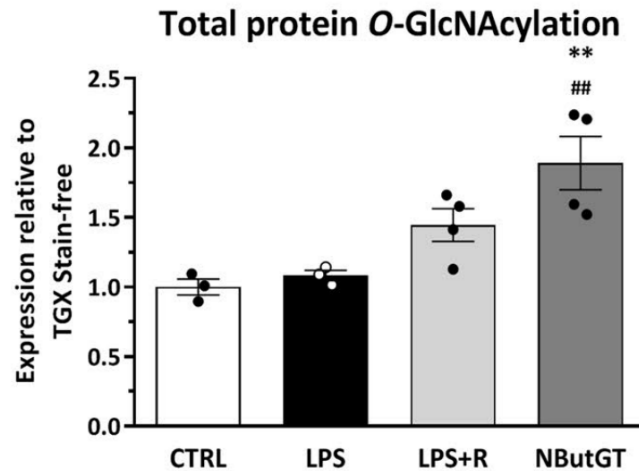
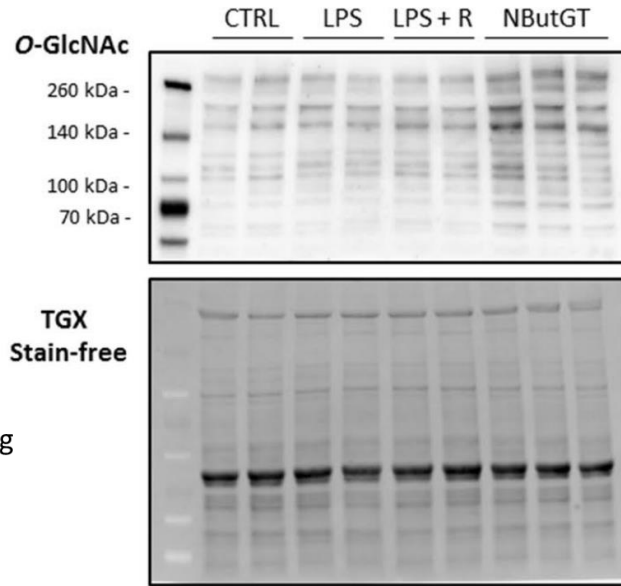
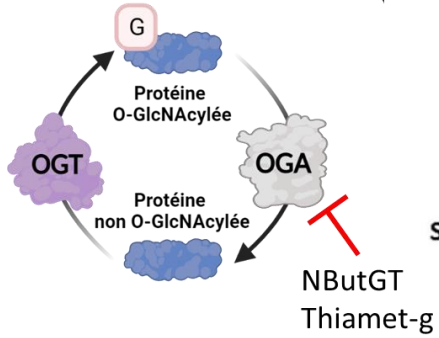


Stimuler la O-GlcNAcylation est bénéfique chez l'adulte en sepsis



Marine Ferron

10-12 semaines

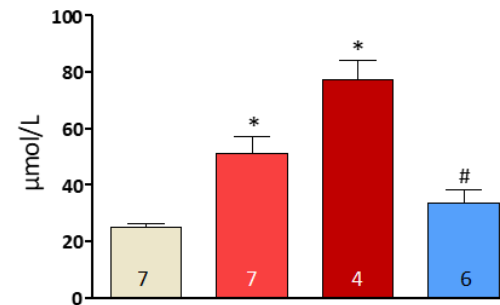


Renal failure

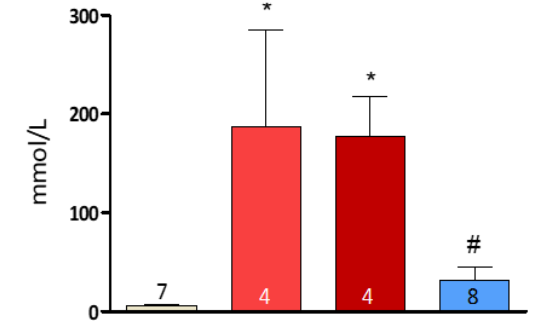


Cardiac dysfunction

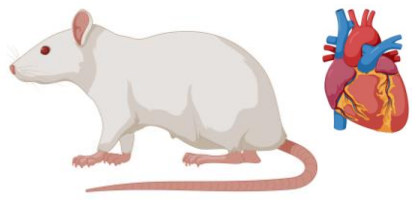
Creatinin



Troponin T

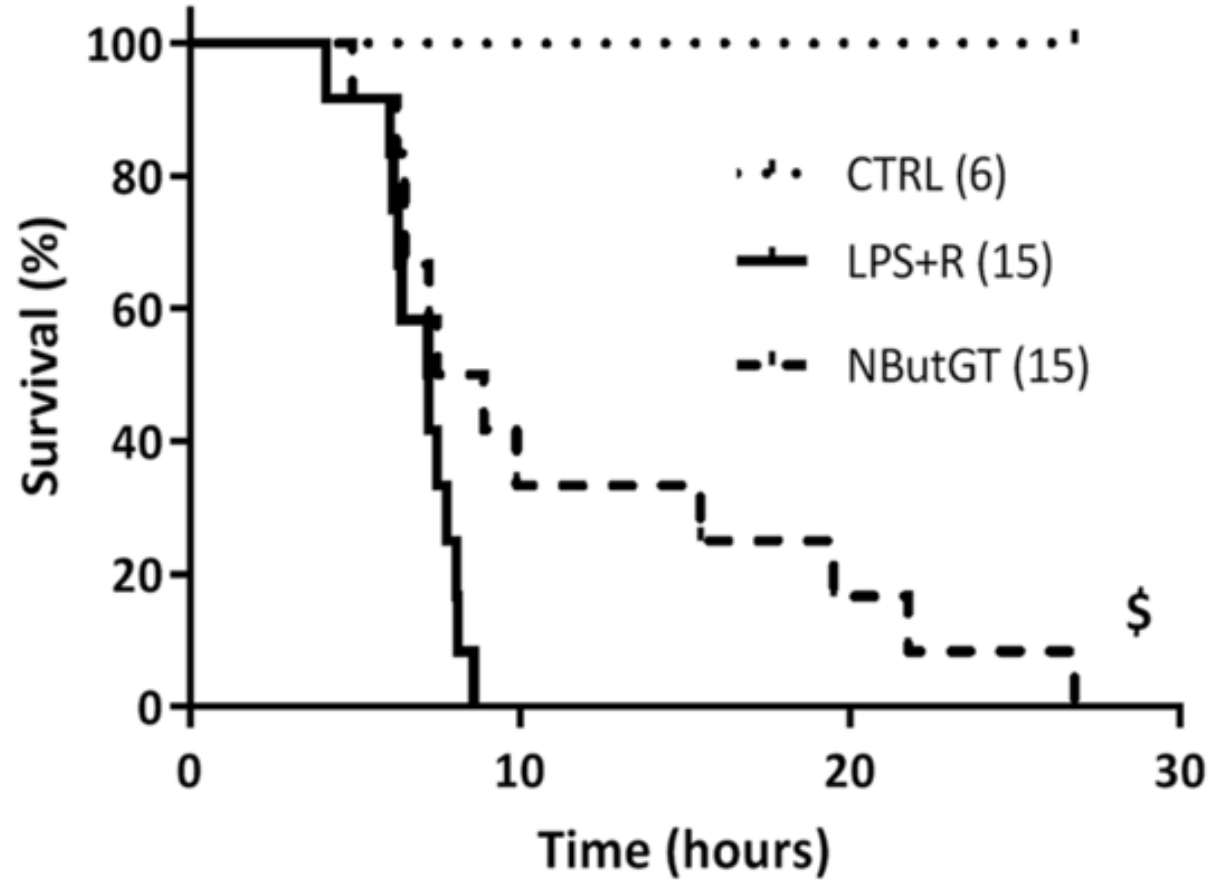
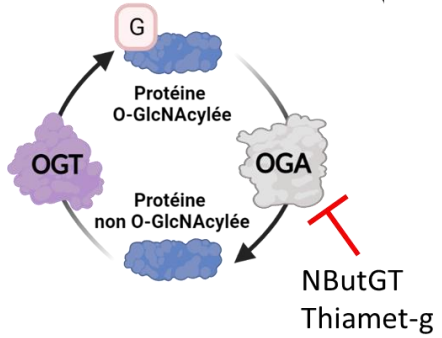


** : $p < 0,01$ vs CTRL, ## : $p < 0,01$ vs LPS, $n = 3-4$



Stimuler la O-GlcNAcylation est bénéfique chez l'adulte en sepsis

10-12 semaines



\$: $p < 0,05$ vs LPS+R, $n = 6-15$

Étude du sepsis chez l'enfant

L'enfant n'est pas un adulte miniature !



Manon Denis

Étude du sepsis chez l'enfant

L'enfant n'est pas un adulte miniature !



Manon Denis



40 % des cas de sepsis

25 % des décès

Enfant < 5 ans

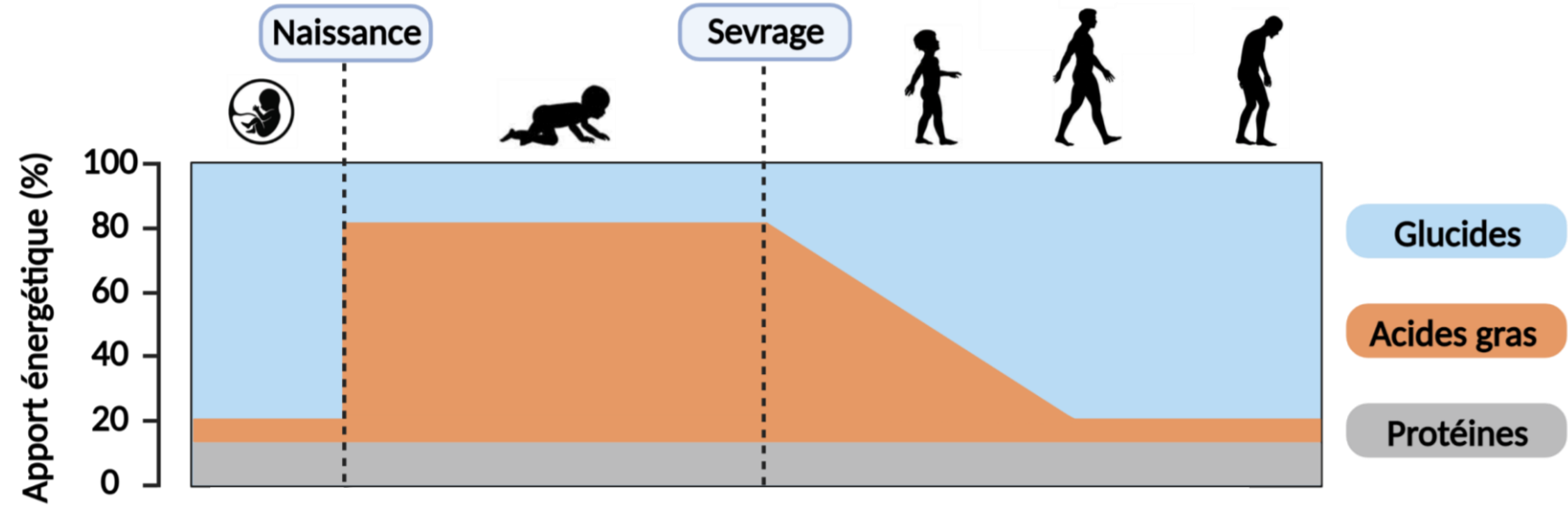
Étude du sepsis chez l'enfant



40 % des cas de sepsis

25 % des décès

Enfant < 5 ans



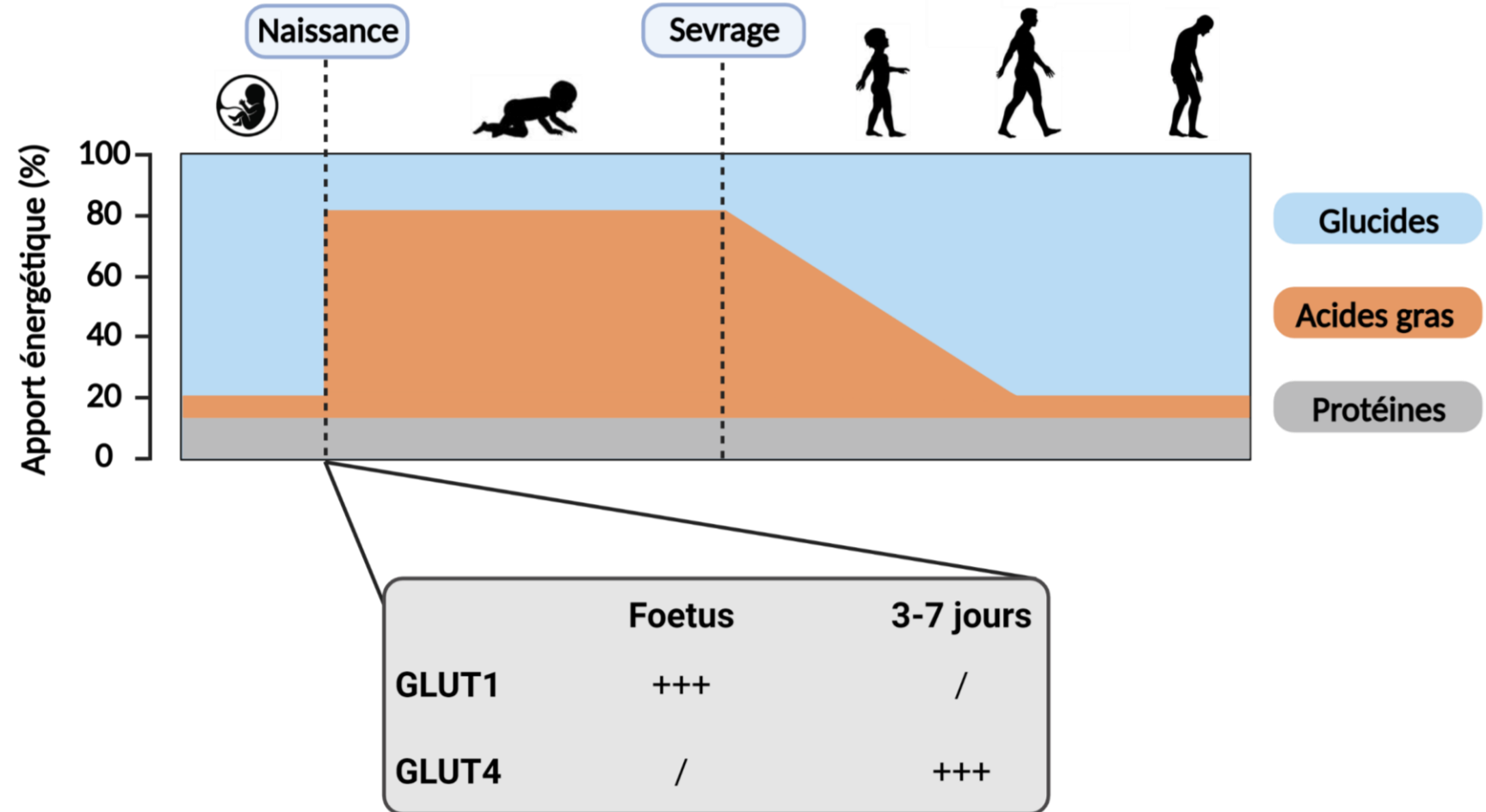
Étude du sepsis chez l'enfant



40 % des cas de sepsis

25 % des décès

Enfant < 5 ans



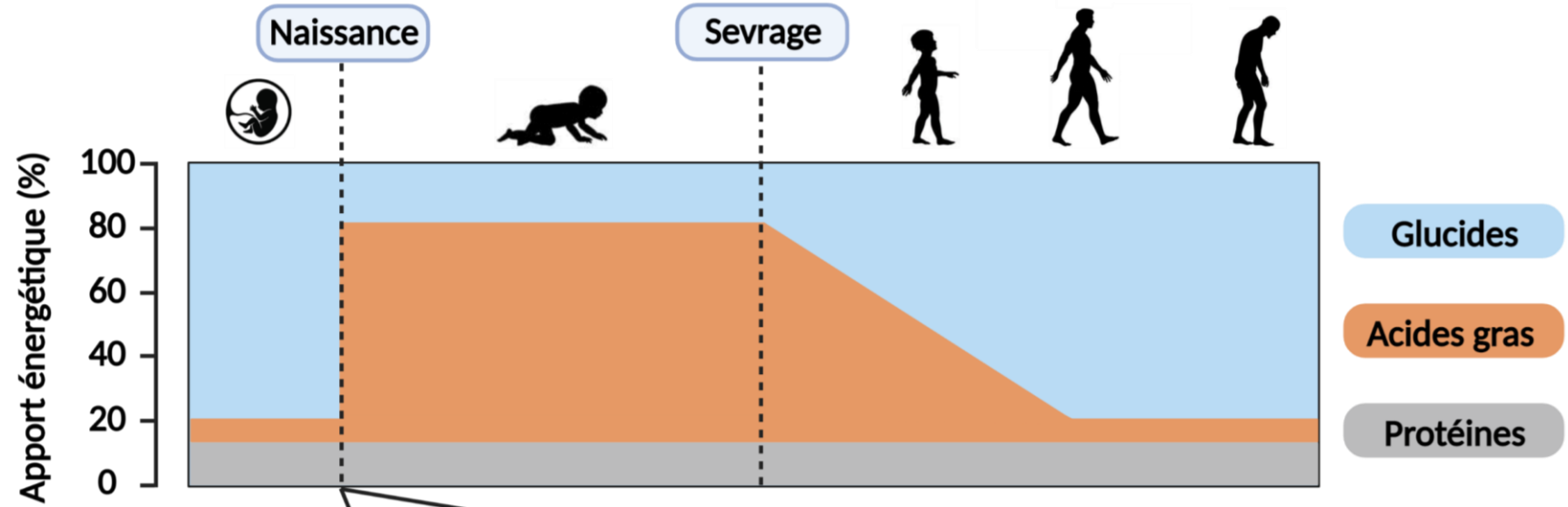
Étude du sepsis chez l'enfant



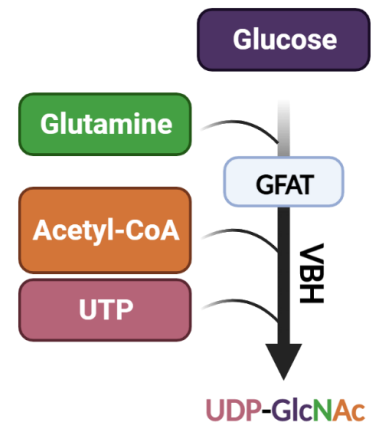
40 % des cas de sepsis

25 % des décès

Enfant < 5 ans



	Foetus	3-7 jours
GLUT1	+++	/
GLUT4	/	+++



Wang et al., 1991
 Girard et al., 1992
 Postic et al., 1994
 Onay-Besikci, 2006
 Rudd et al., 2020

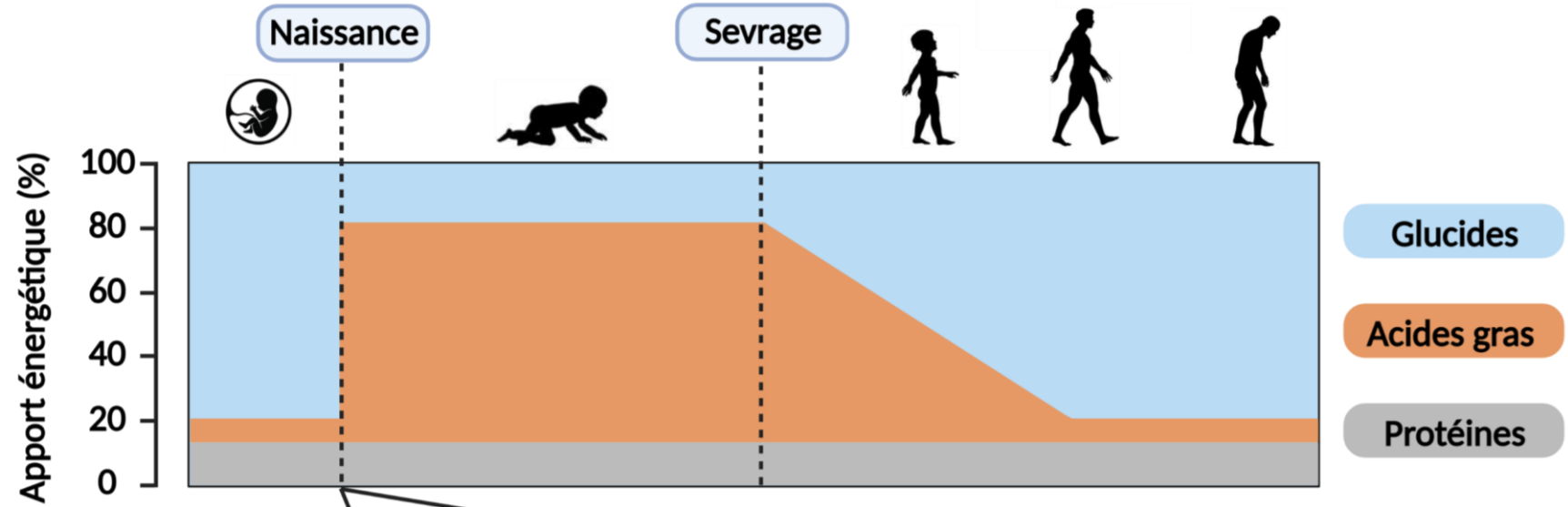
Étude du sepsis chez l'enfant



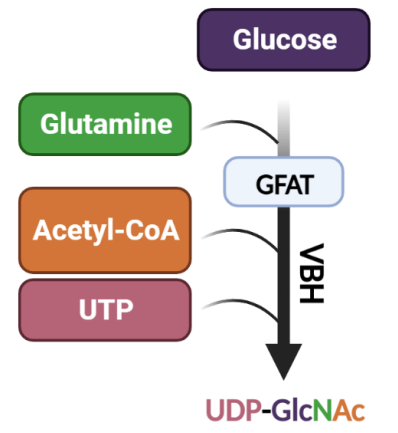
40 % des cas de sepsis

25 % des décès

Enfant < 5 ans



	Foetus	3-7 jours
GLUT1	+++	/
GLUT4	/	+++



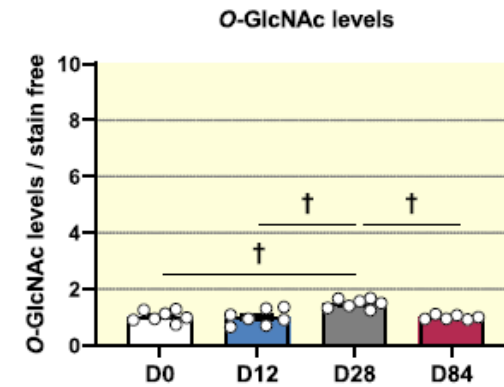
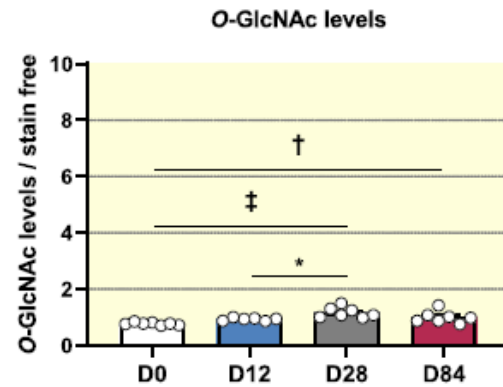
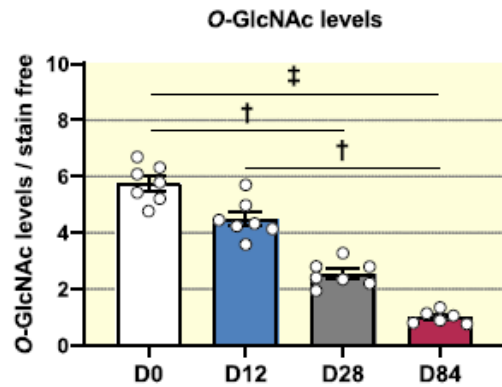
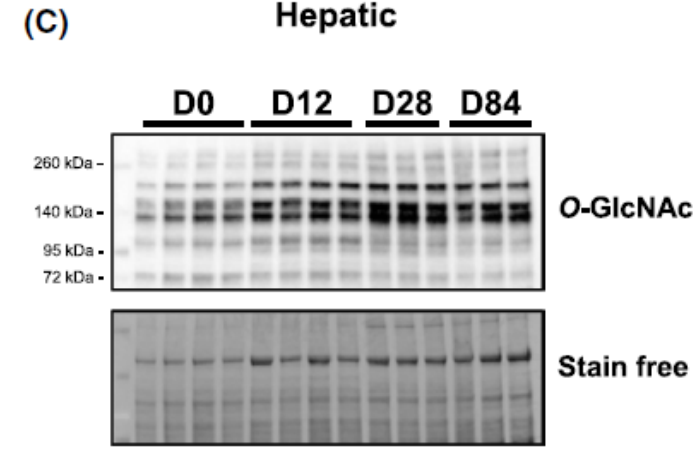
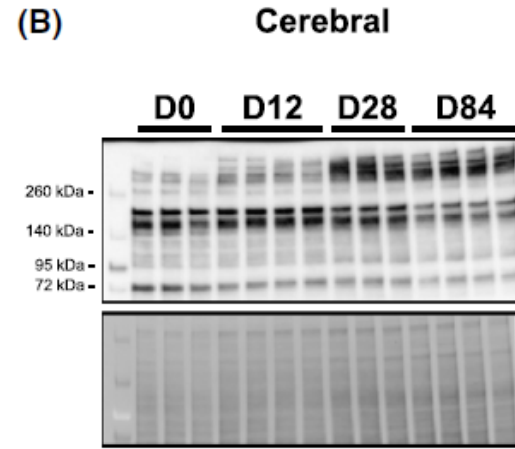
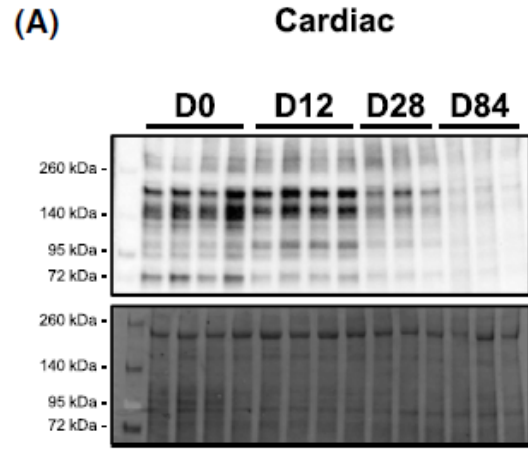
Impact sur les niveaux de O-GlcNAcylation ?

Wang et al., 1991
 Girard et al., 1992
 Postic et al., 1994
 Onay-Besikci, 2006
 Rudd et al., 2020

O-GlcNAcylation et développement



Angélique Erraud



† : $p < 0,01$, ‡ : $p < 0,001$, $n = 6-7$

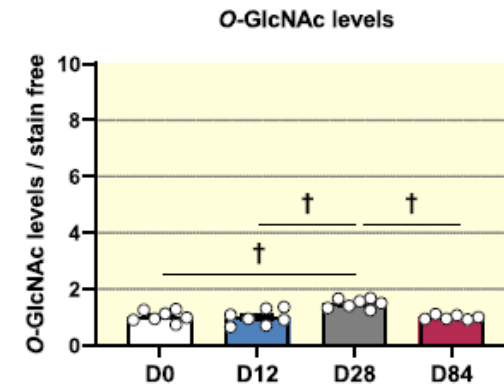
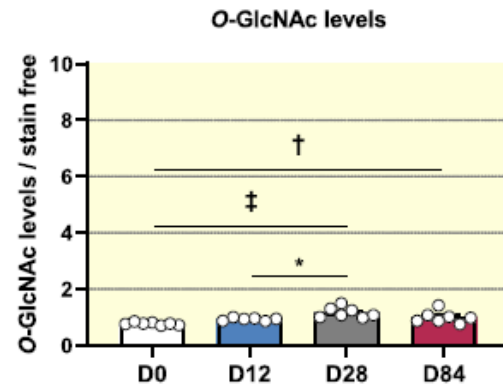
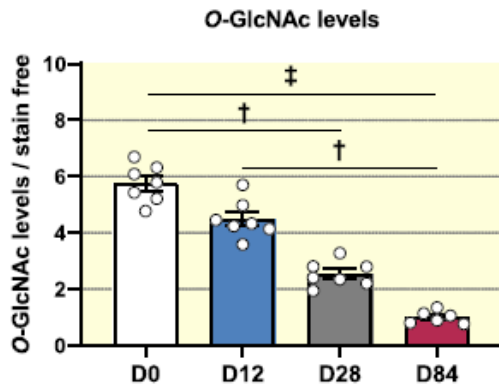
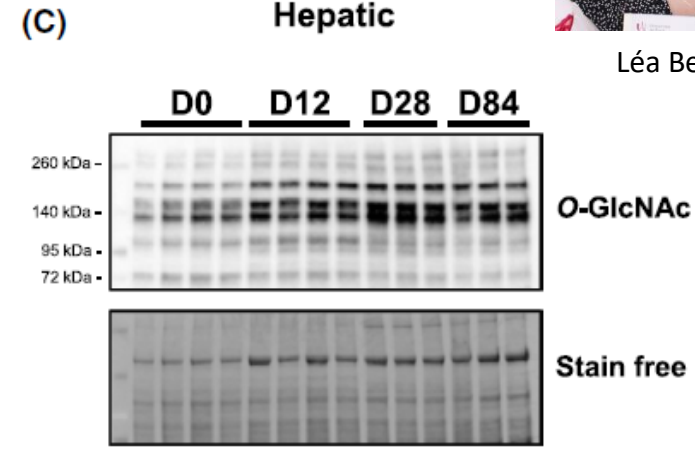
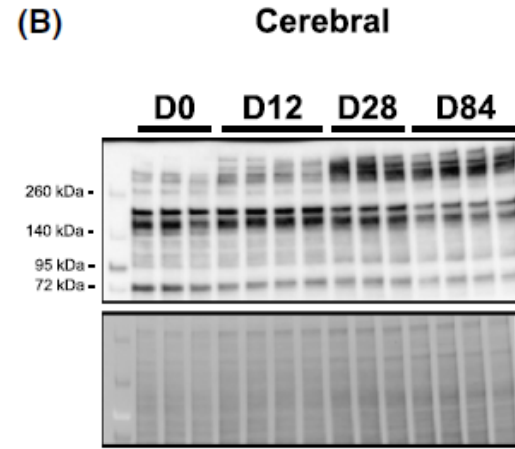
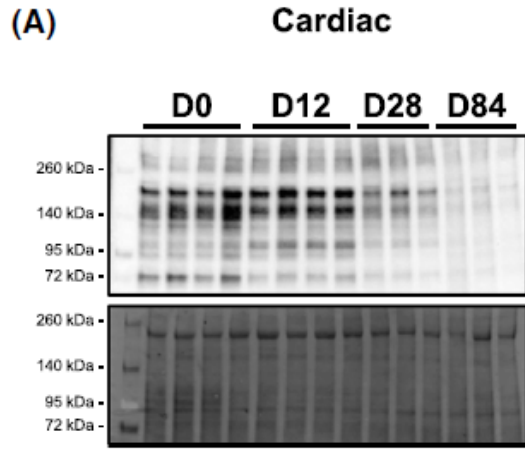
O-GlcNAcylation et développement



Léa Bergez



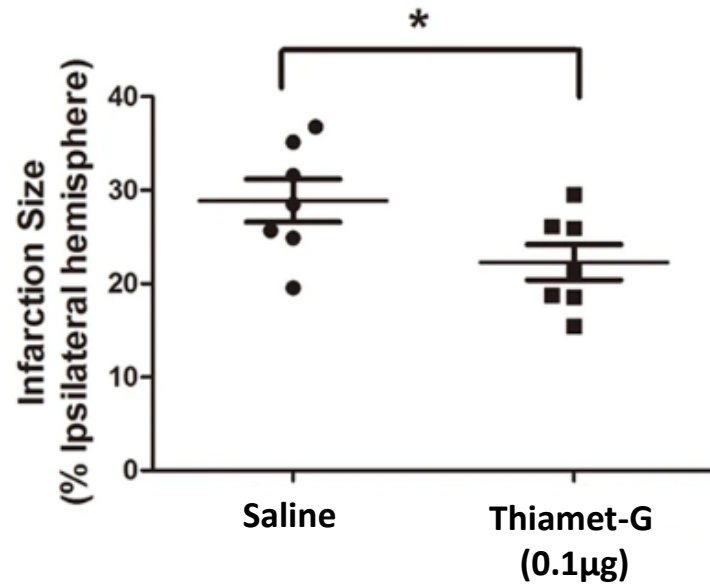
Angélique Erraud



? Implication pour le développement cardiaque ?



Ambivalence de la O-GlcNAcylation



Elévation des niveaux de O-GlcNAcylation

x3

Effets

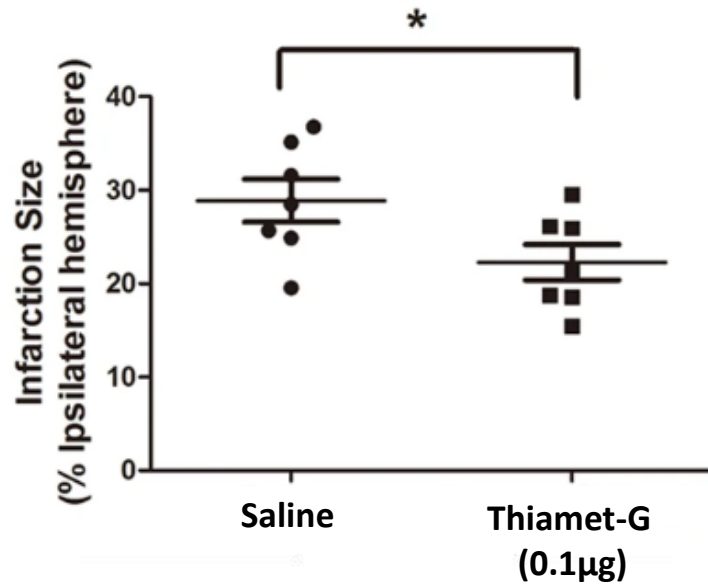




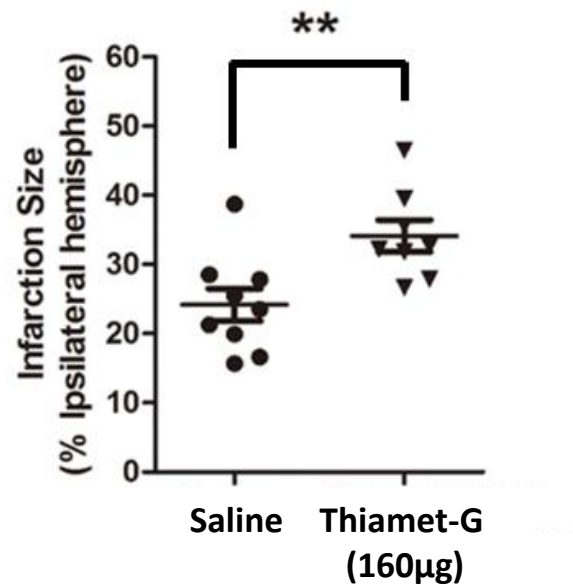
Ambivalence de la O-GlcNAcylation

Elévation des niveaux de O-GlcNAcylation

Effets



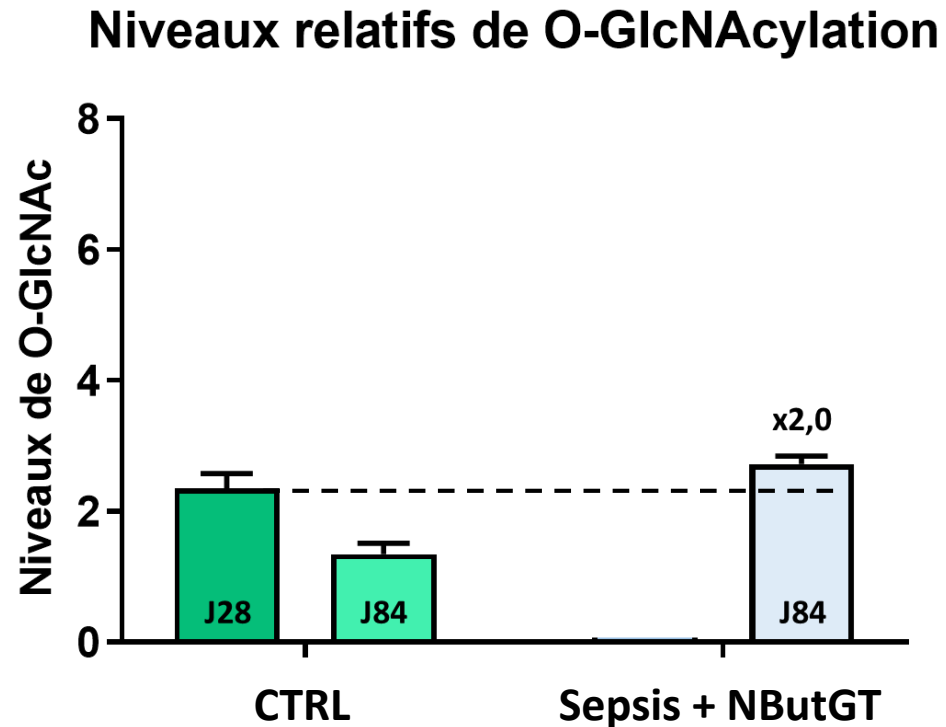
x3



x6



Stimuler la O-GlcNAcylation est bénéfique chez le jeune en sepsis ?



Stimulation bénéfique chez l'adulte

Ferron et al., 2019



Niveaux plus élevés chez le jeune

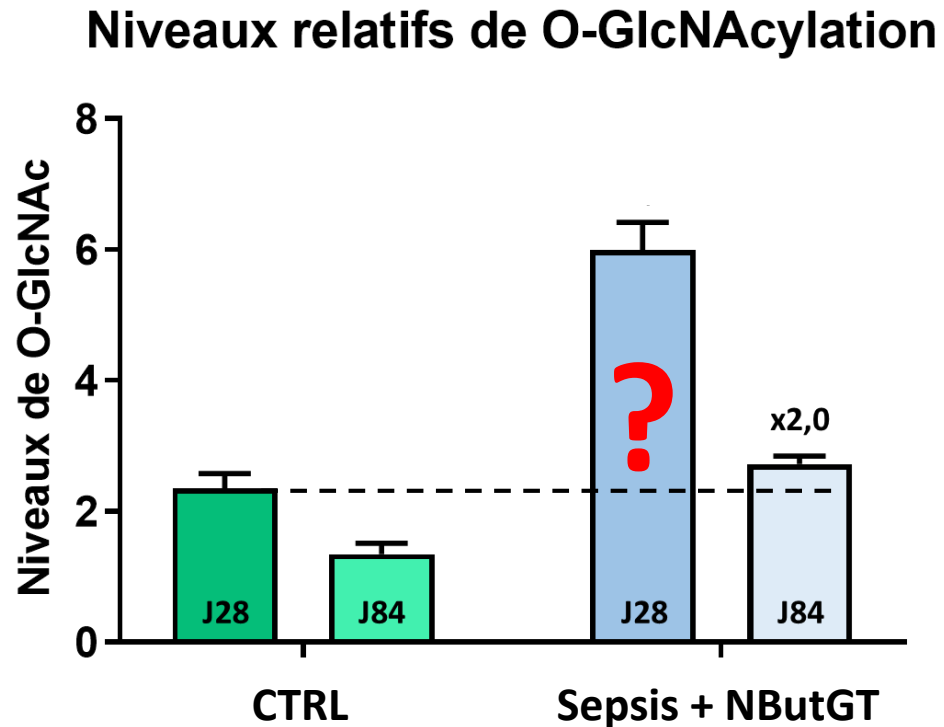
Dupas et al., 2021



Stimulation trop élevée

Gu et al., 2017

Stimuler la O-GlcNAcylation est bénéfique chez le jeune en sepsis ?



Stimulation bénéfique chez l'adulte

Ferron et al., 2019



Niveaux plus élevés chez le jeune

Dupas et al., 2021



Stimulation trop élevée

Gu et al., 2017

Résultats transposables chez le jeune ?

Objectifs du projet hErOiSmE

Optimiser les outils pharmacologiques (inhibiteurs de OGA)



Objectifs du projet hErOiSmE



Thomas Dupas

Optimiser les outils pharmacologiques (inhibiteurs de OGA)

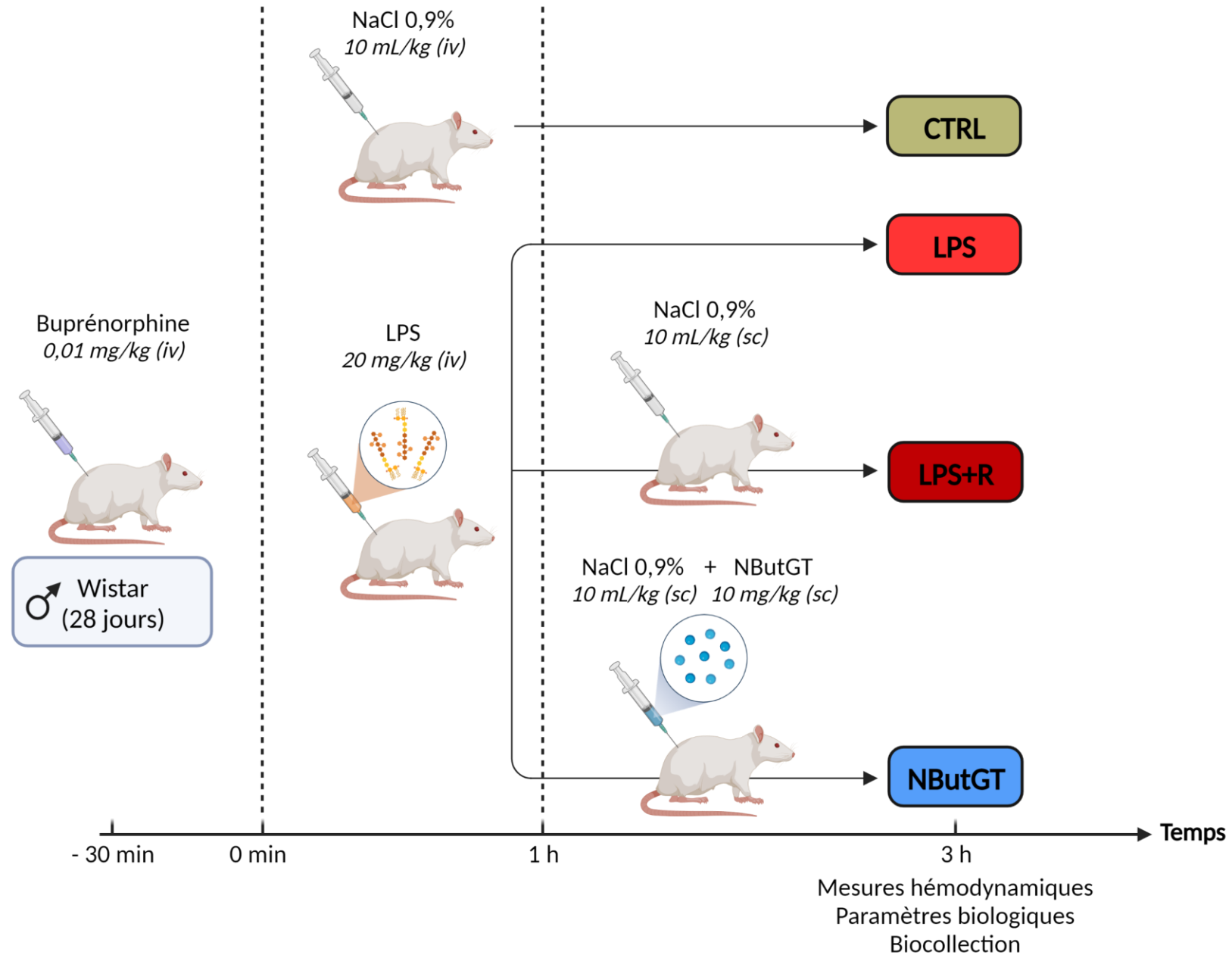
Intérêt de la stimulation de la O-GlcNAcylation dans la prise en charge précoce

- du choc septique 

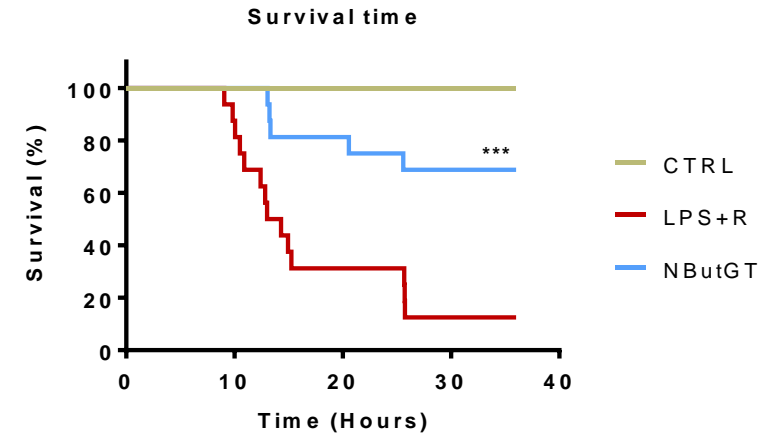
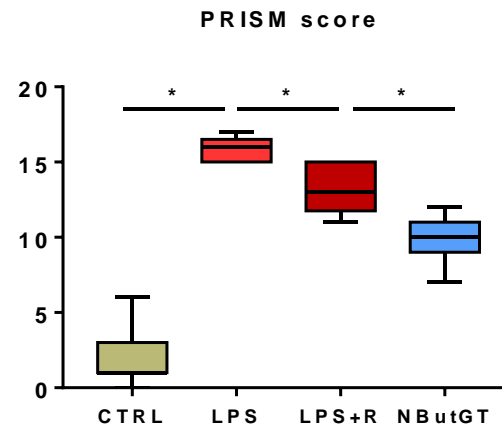
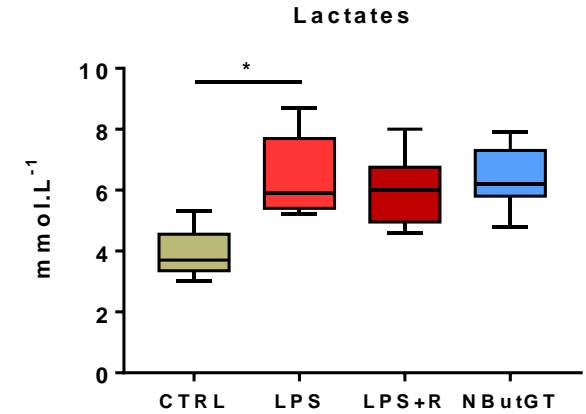
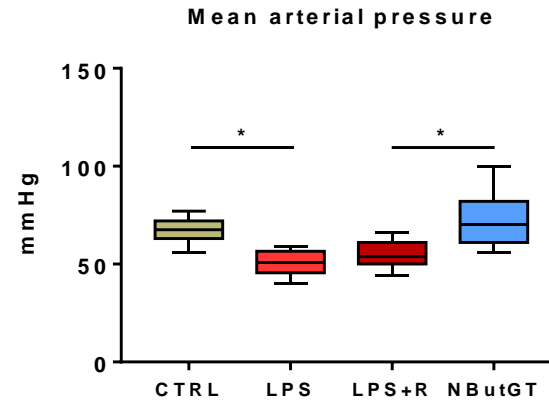
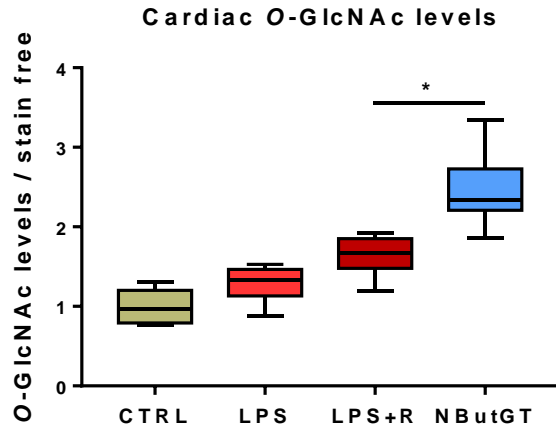
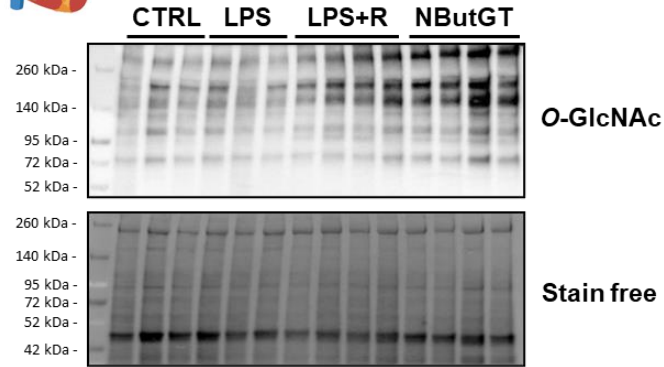
- du choc hémorragique 

Identifier les mécanismes moléculaires associés aux effets bénéfiques

Modèle de choc endotoxémique chez le jeune rat



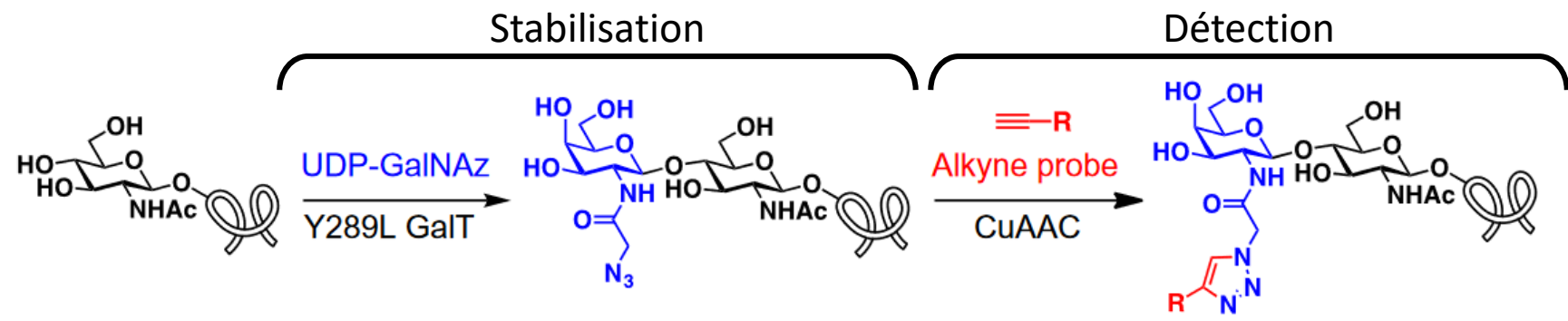
La stimulation de la O-GlcNAcylation est bénéfique chez le jeune en sepsis



Identifier les mécanismes moléculaires associés

* : $p < 0,05$, *** : $p < 0,001$, $n = 5-16$

Identification des protéines cardiaques O-GlcNAcylées

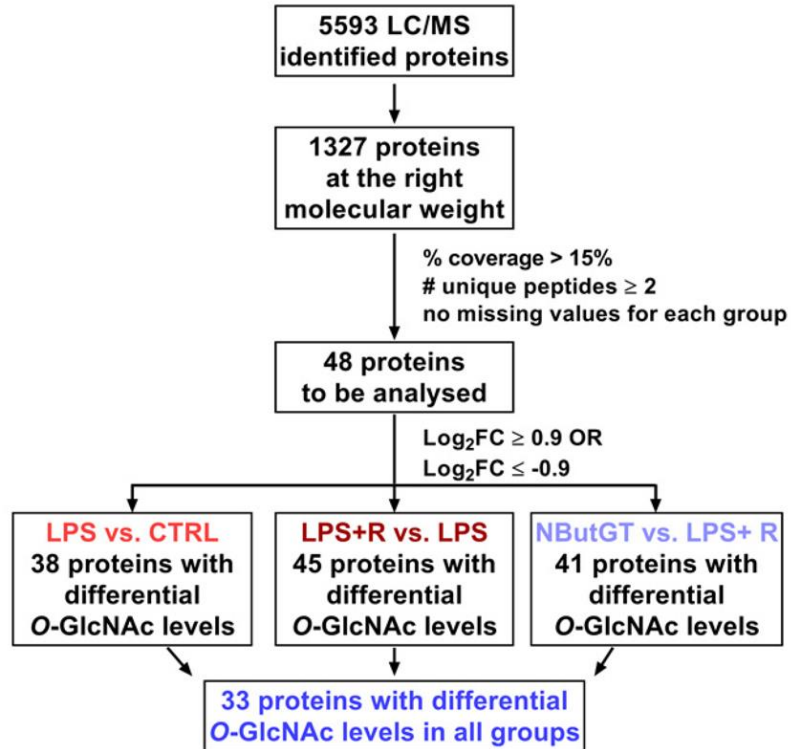


↓
Immunoprécipitation (purification)

↓
Spectrométrie de masse (identification)



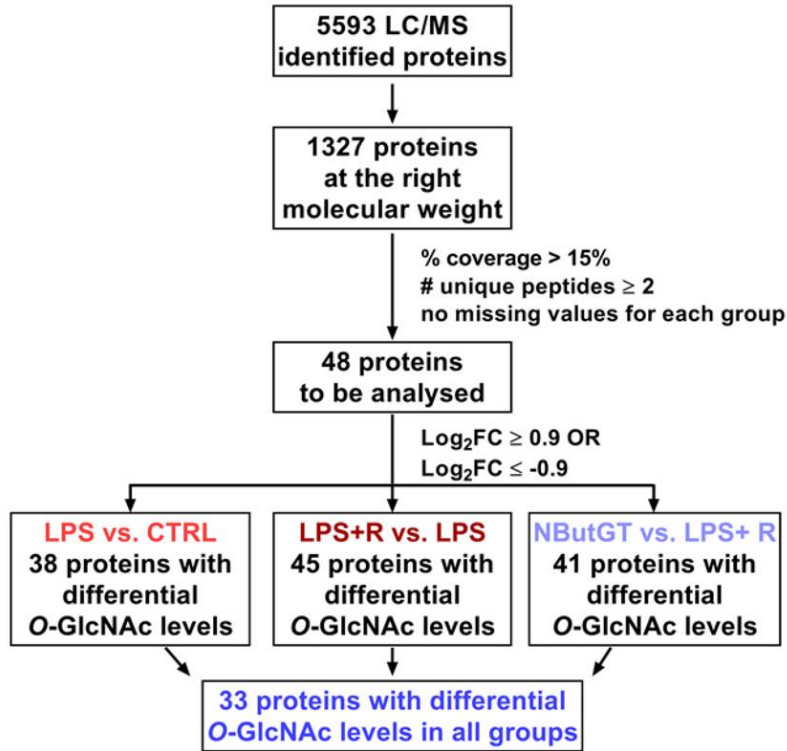
Identification des protéines cardiaques O-GlcNAcylées



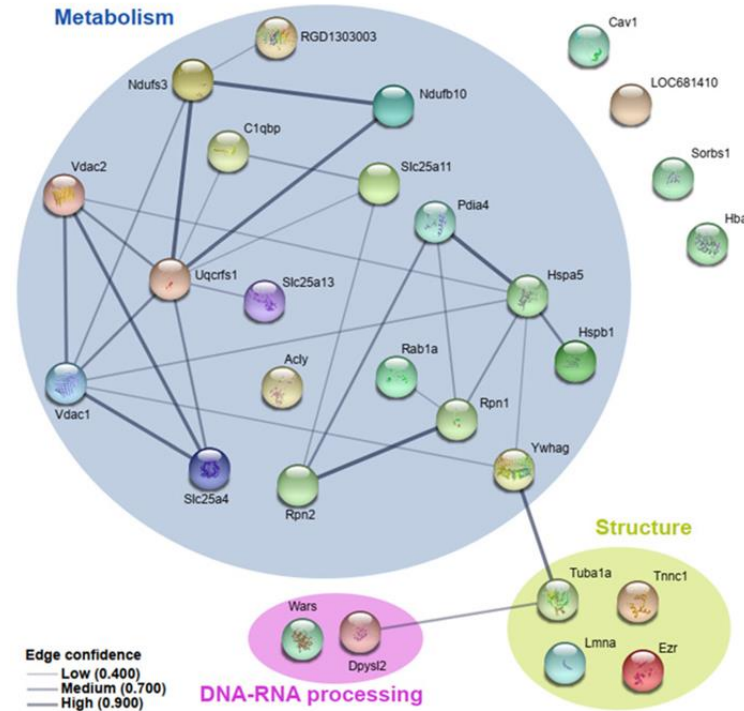
33 protéines différenciellement
O-GlcNAcylées



Identification des protéines cardiaques O-GlcNAcylées



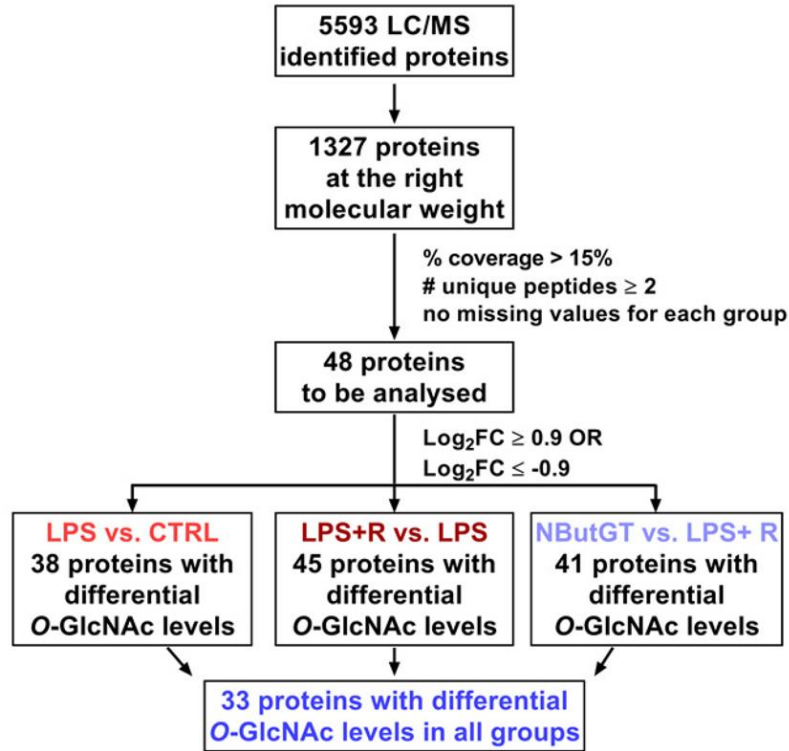
33 protéines différenciellement O-GlcNAcylées



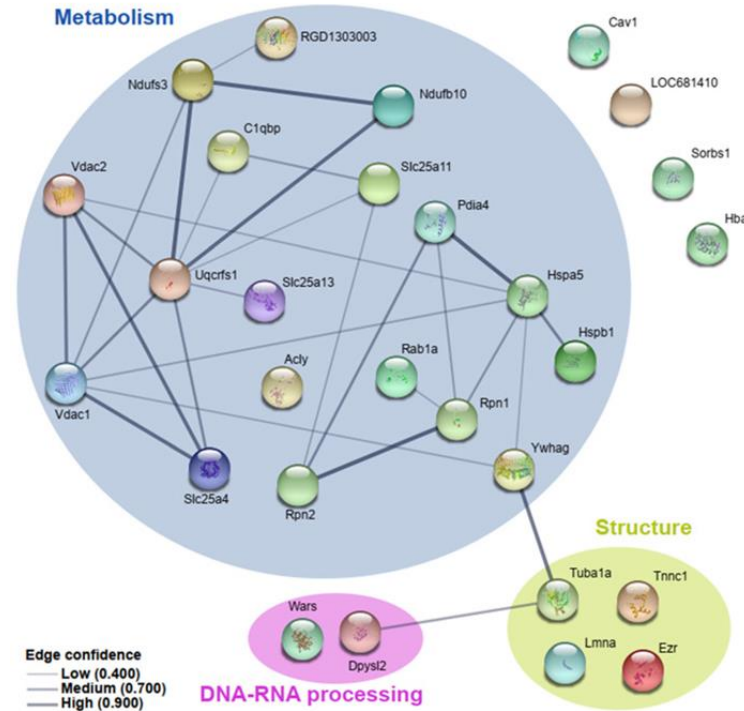
55 % impliquées dans le métabolisme



Identification des protéines cardiaques O-GlcNAcylées

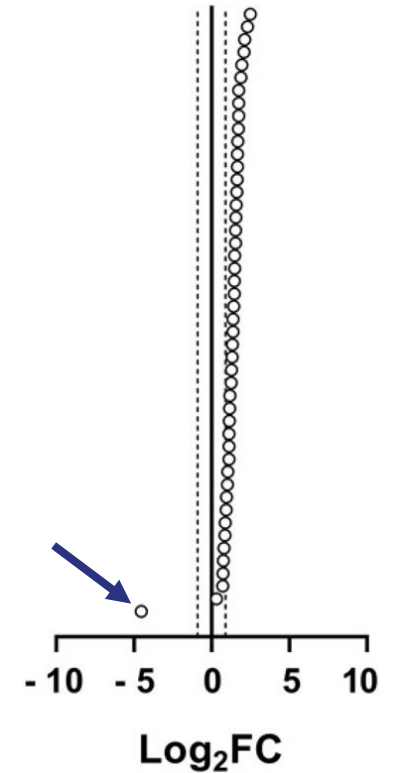


33 protéines différenciellement O-GlcNAcylées

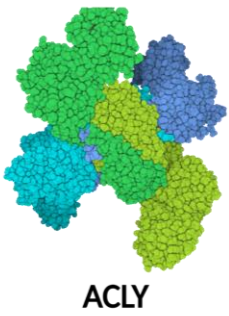


55 % impliquées dans le métabolisme

NButGT vs. LPS+R

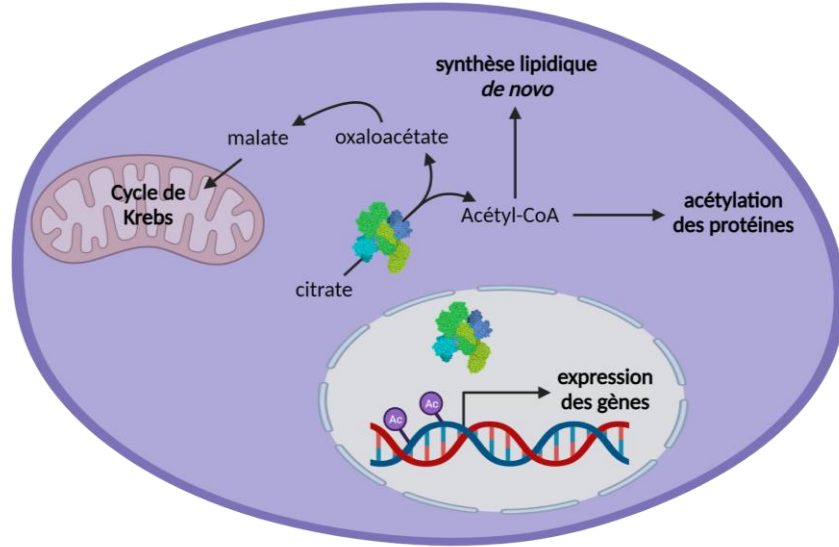


1 unique protéine moins O-GlcNAcylée

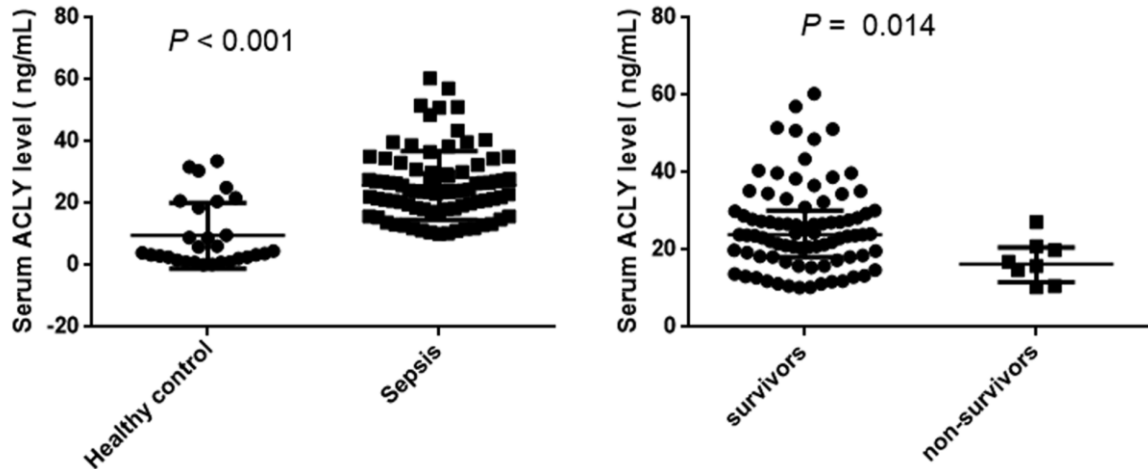
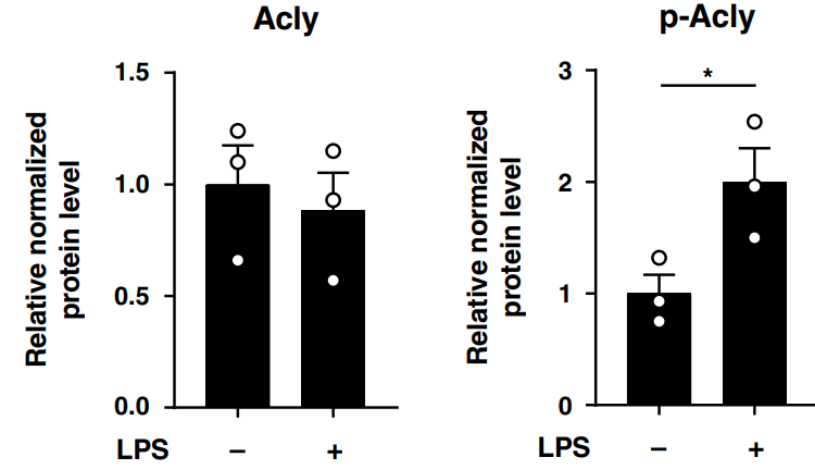
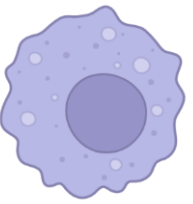


ACLY

L'ATP-citrate lyase



Macrophages

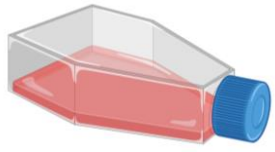


Sites putatifs de O-GlcNAcylation

440 447 451 455 460
 ...ASGSTSTPAPSRTASFSESR...
 ...ASGSTSTPAPSRTASFSESR...

Impact de la O-GlcNAcylation ?

O-GlcNAcylation et ACLY



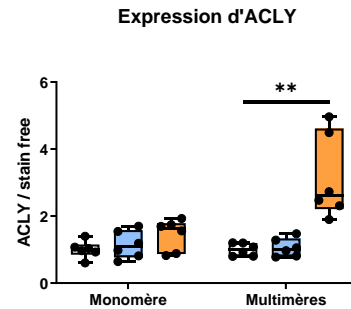
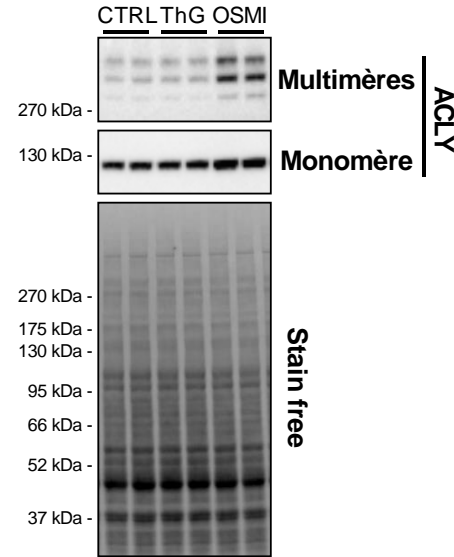
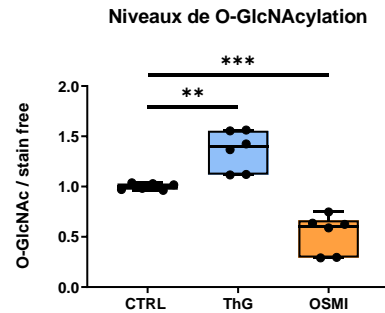
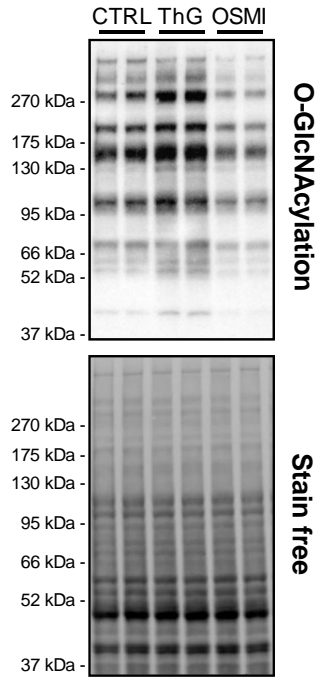
Cellules
Chinese Hamster Ovary



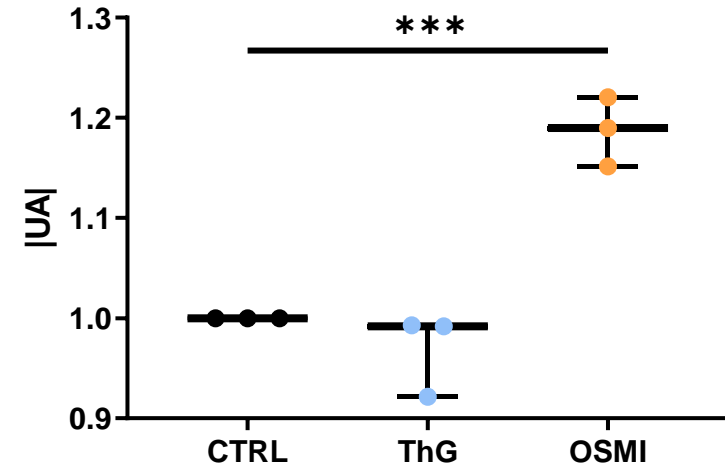
Charlotte Betus



Louis Berillon



Activité de ACLY



□ CTRL
■ ThG
■ OSMI

Objectifs du projet hErOiSmE

Optimiser les outils pharmacologiques (inhibiteurs de OGA)

Intérêt de la stimulation de la O-GlcNAcylation dans la prise en charge précoce

- du choc septique 

- du choc hémorragique 

Identifier les mécanismes moléculaires associés aux effets bénéfiques

L'état de choc hémorragique



Provoqué par une perte importante de sang

Traumatismes (78 %)



Rupture d'anévrisme (10 %)



Ulcères gastro-intestinaux (7 %)



L'état de choc hémorragique



Provoqué par une perte importante de sang

Traumatismes (78 %)



Rupture d'anévrisme (10 %)



Ulcères gastro-intestinaux (7 %)



1,9 million de décès

1^{ère} cause de mortalité militaire

2^{ème} cause de mortalité civile



1^{ère} cause de mortalité évitable

91 % dans le secteur militaire

Développement d'un modèle de choc hémorragique chez le rat



Absence de modèle de référence



Reproductible
Standardisé



Proximité clinique

Développement d'un modèle de choc hémorragique chez le rat



Absence de modèle de référence



Reproductible
Standardisé



Proximité clinique

30 groupes testés

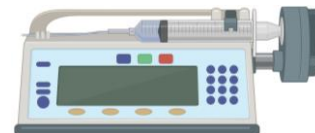
Analgesie (*buprénorphine pré ou post-opératoire*), **Anesthésie** (*isoflurane vs sévoflurane*)

Exsanguination (*durée, volume prélevé*)

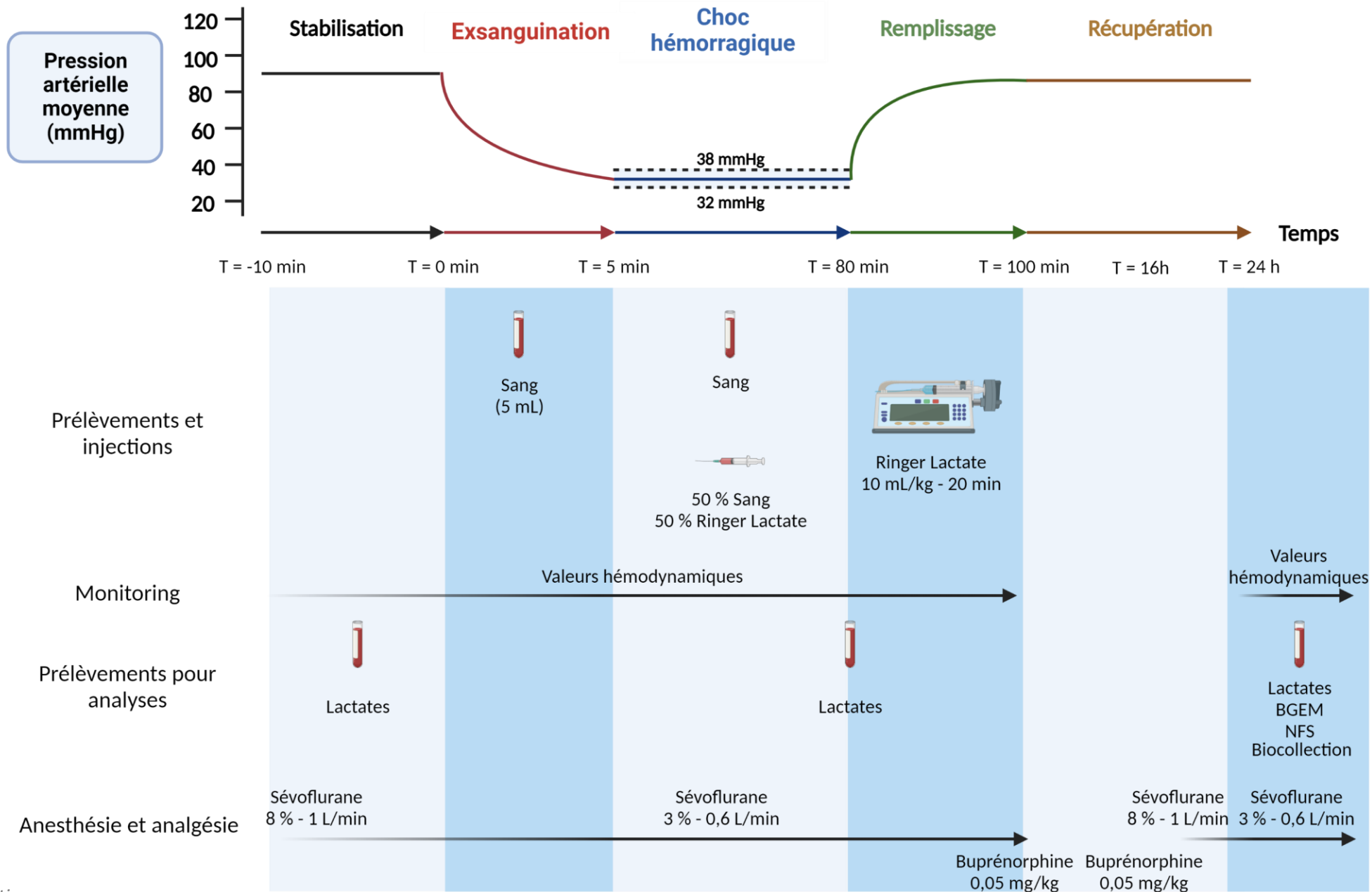


Choc hémorragique (*pression ciblée, durée*)

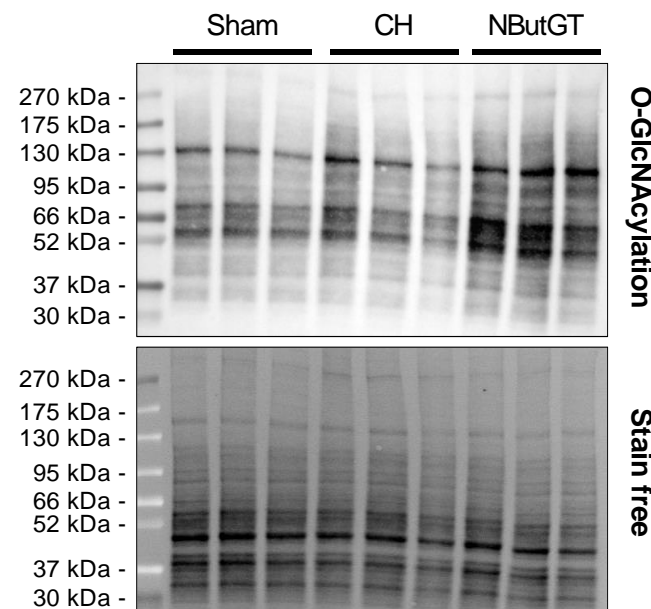
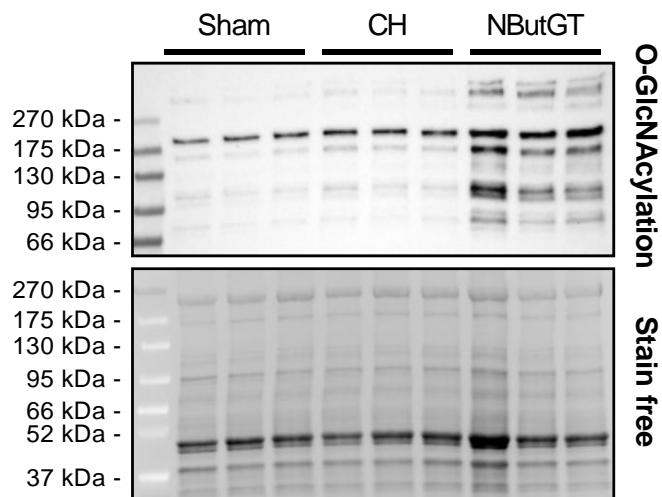
Remplissage (*durée, dose*)



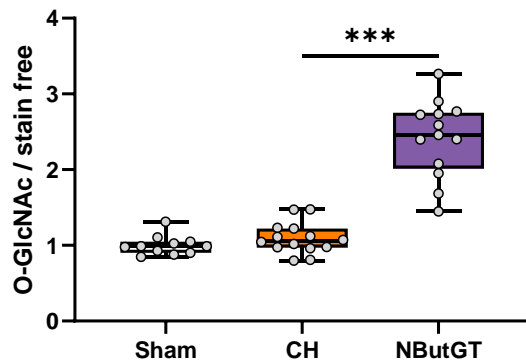
Modèle de choc hémorragique chez le rat



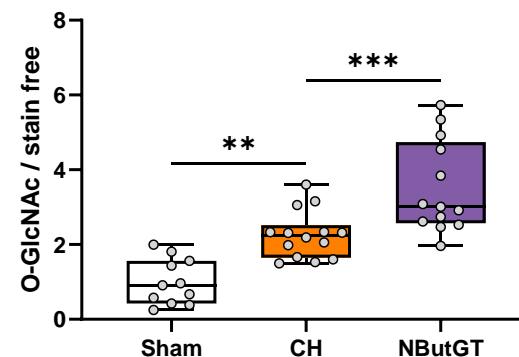
Le traitement au NButGT augmente les niveaux de O-GlcNAcylation



Niveaux de O-GlcNAcylation cardiaques

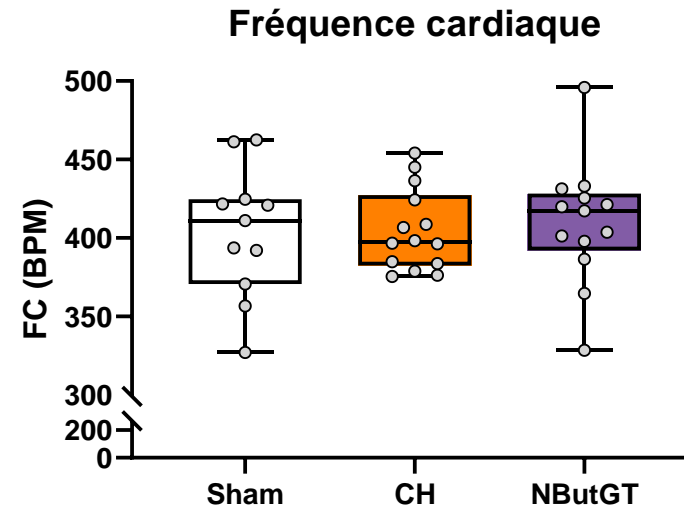
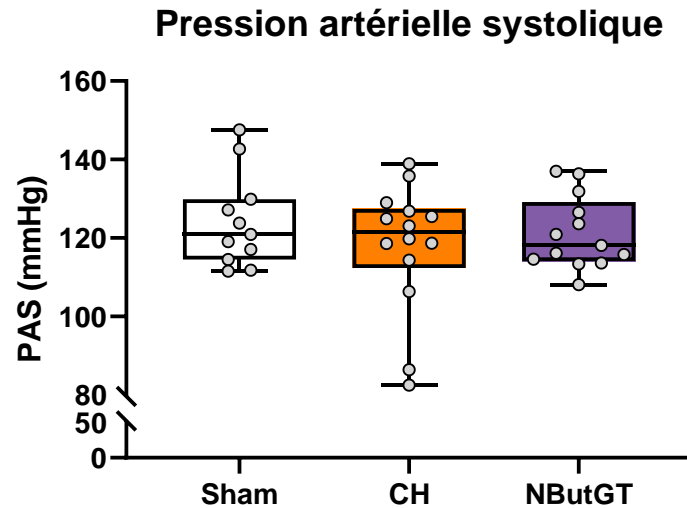
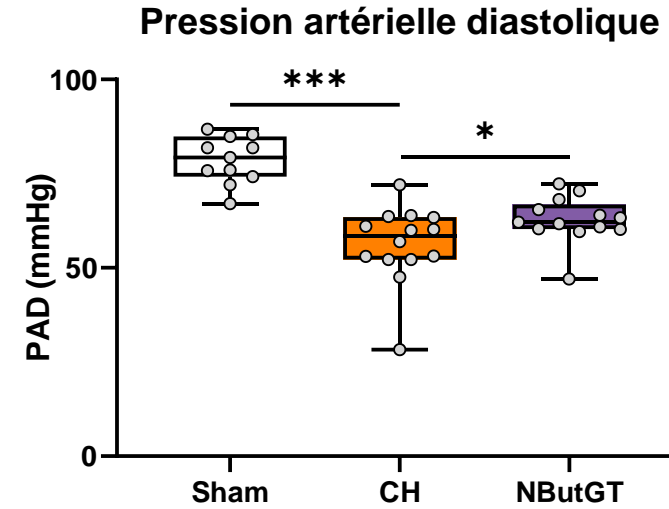
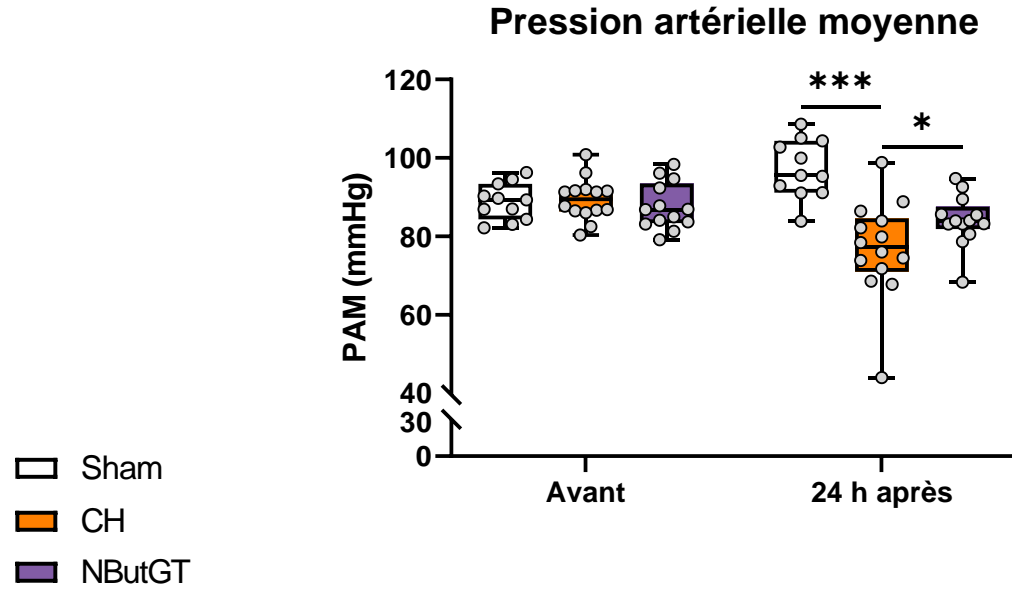


Niveaux de O-GlcNAcylation rénaux



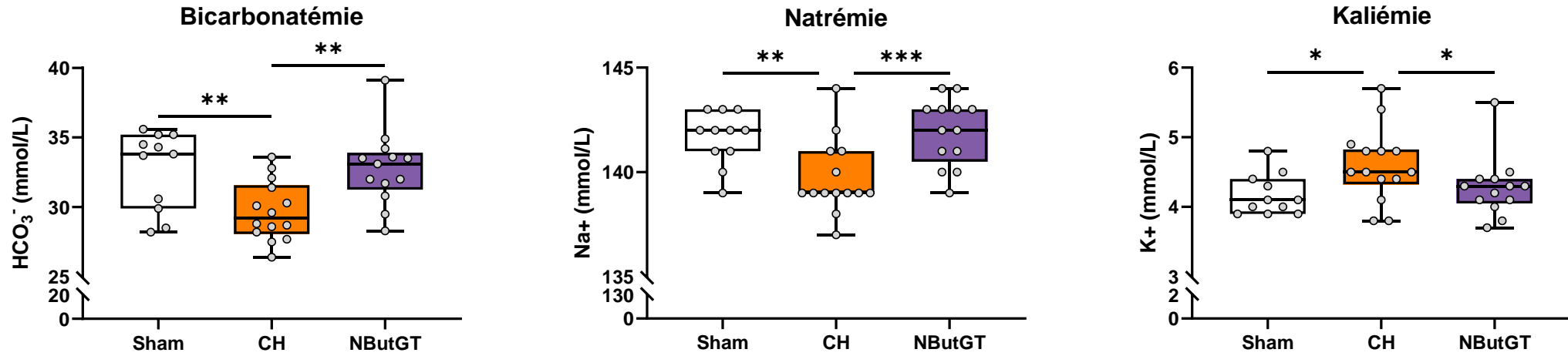
** : $p < 0,01$, *** : $p < 0,001$, $n = 10-14$

Le NButGT améliore la pression artérielle moyenne

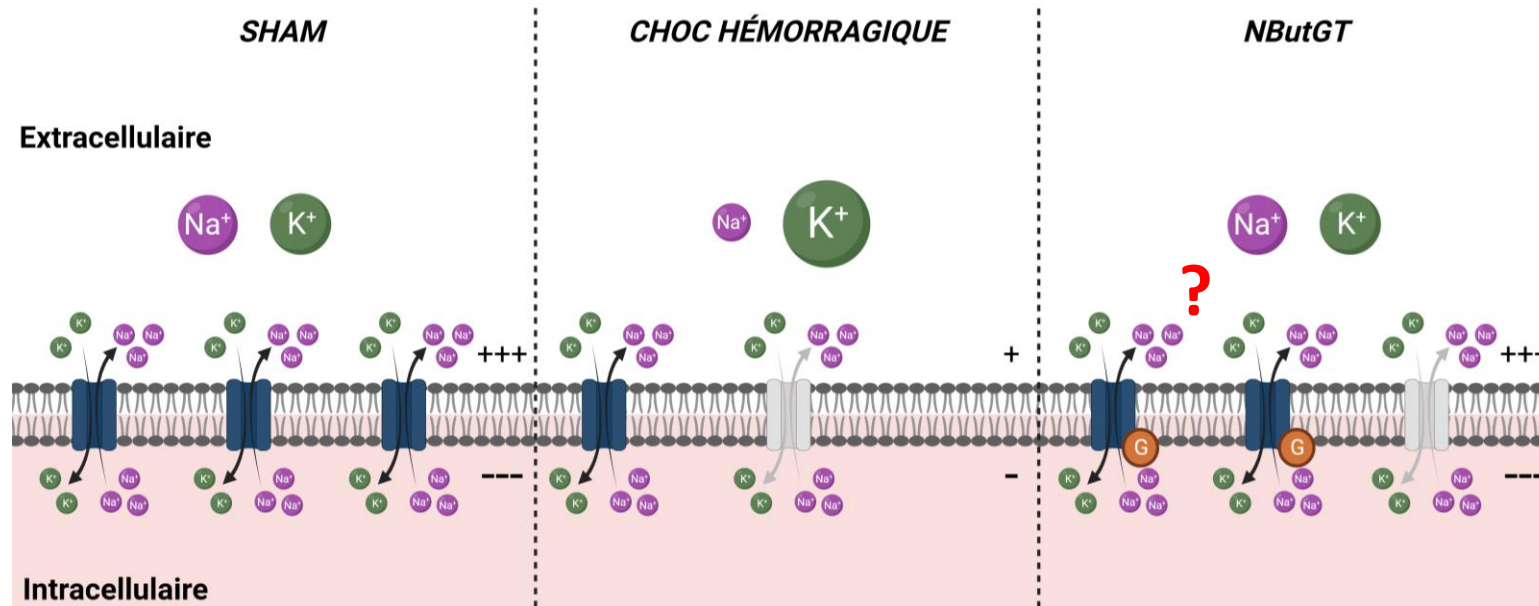


* : $p < 0,05$, *** : $p < 0,001$, $n = 10-14$

Le NButGT restaure l'équilibre ionique



Implication de la Na/K ATPase



La Na/K ATPase est-elle O-GlcNAcylée ?

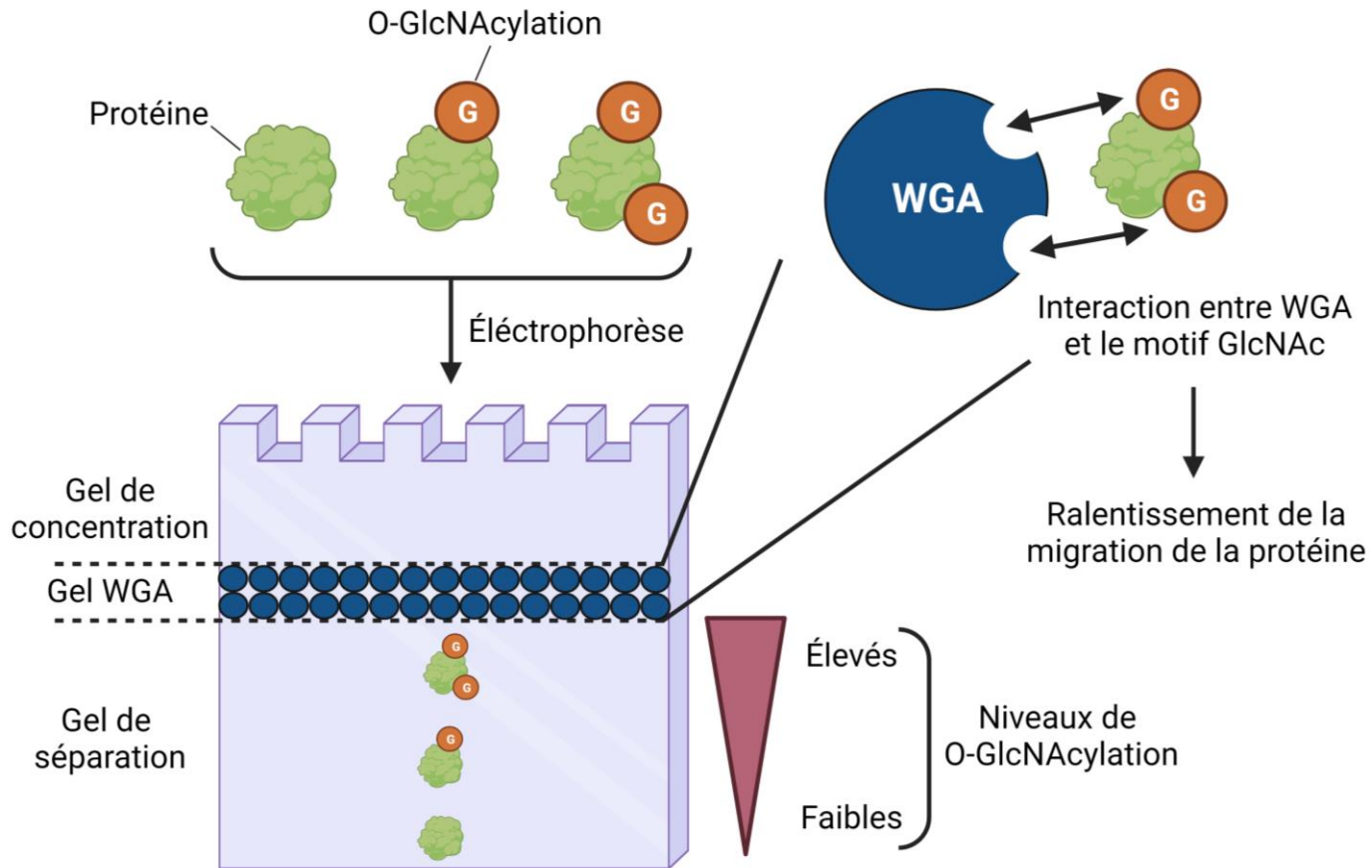
* : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$ *** : $p < 0,001$, $n = 10-14$

La Na/K ATPase est O-GlcNAcylée



Amandine Vergnaud

Électrophorèse d'affinité basée sur WGA

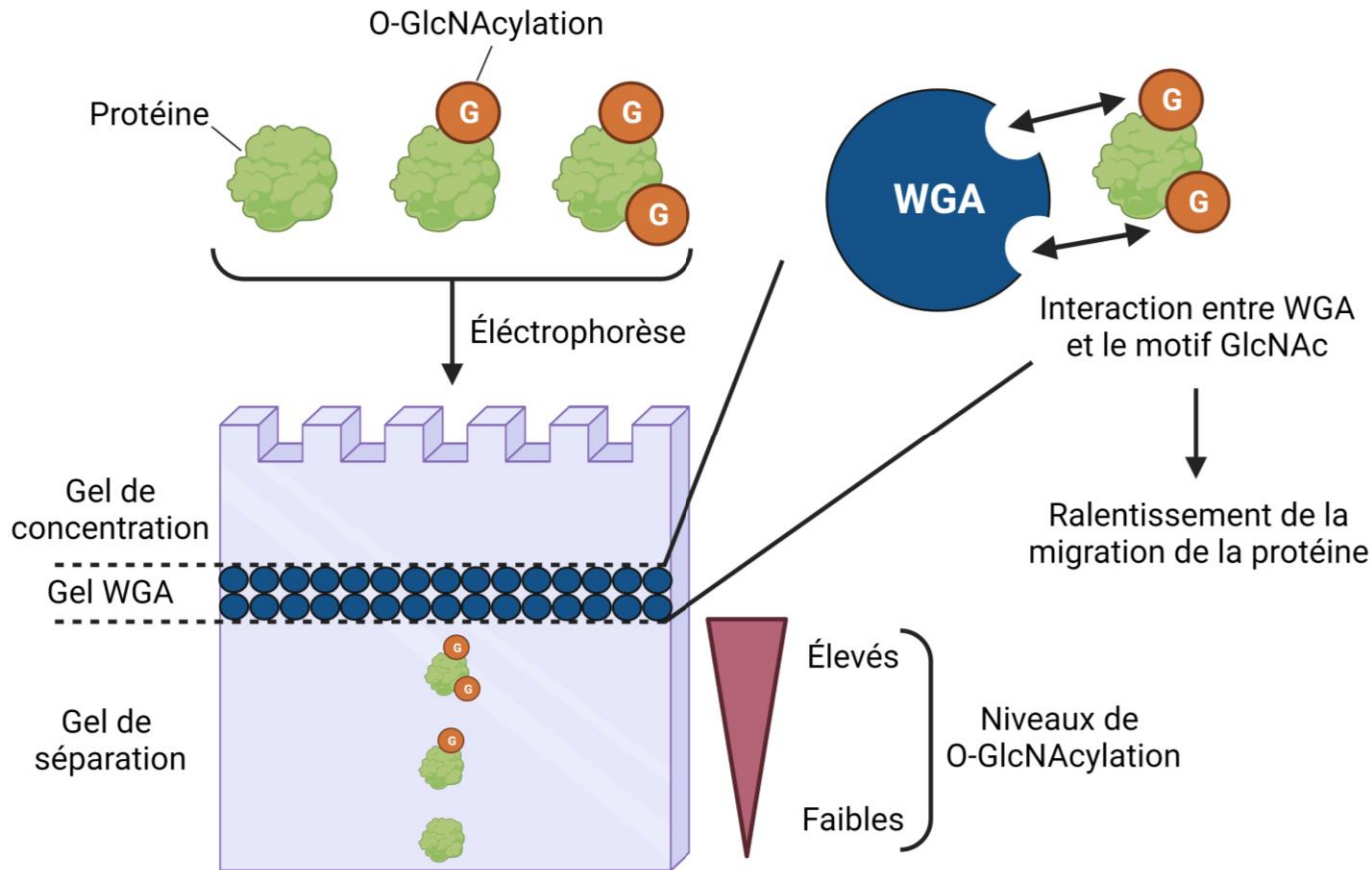


D'après Kubota et al., 2017

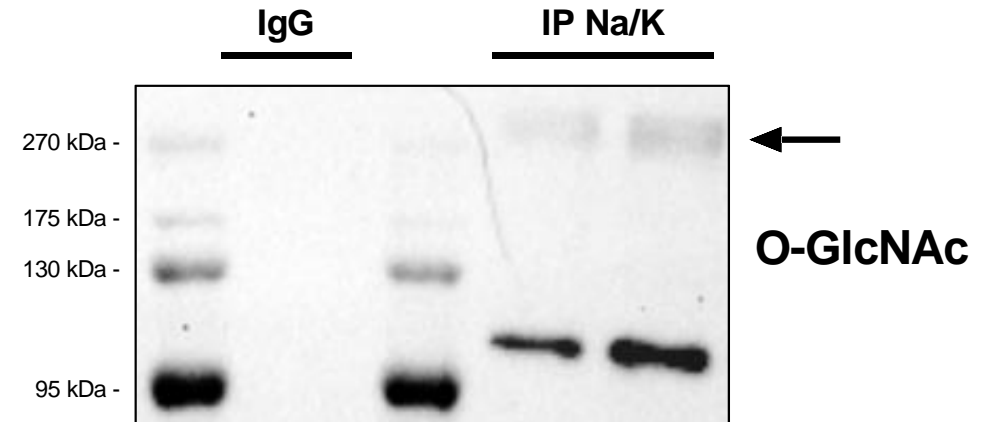
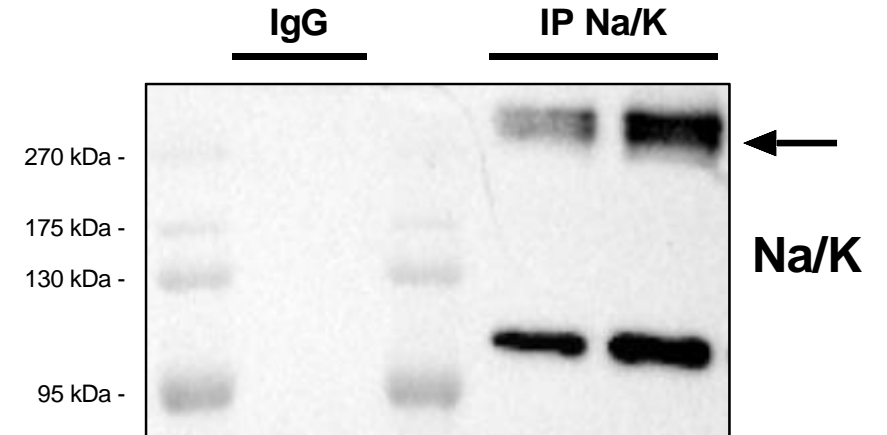
La Na/K ATPase est O-GlcNAcylée



Électrophorèse d'affinité basée sur WGA



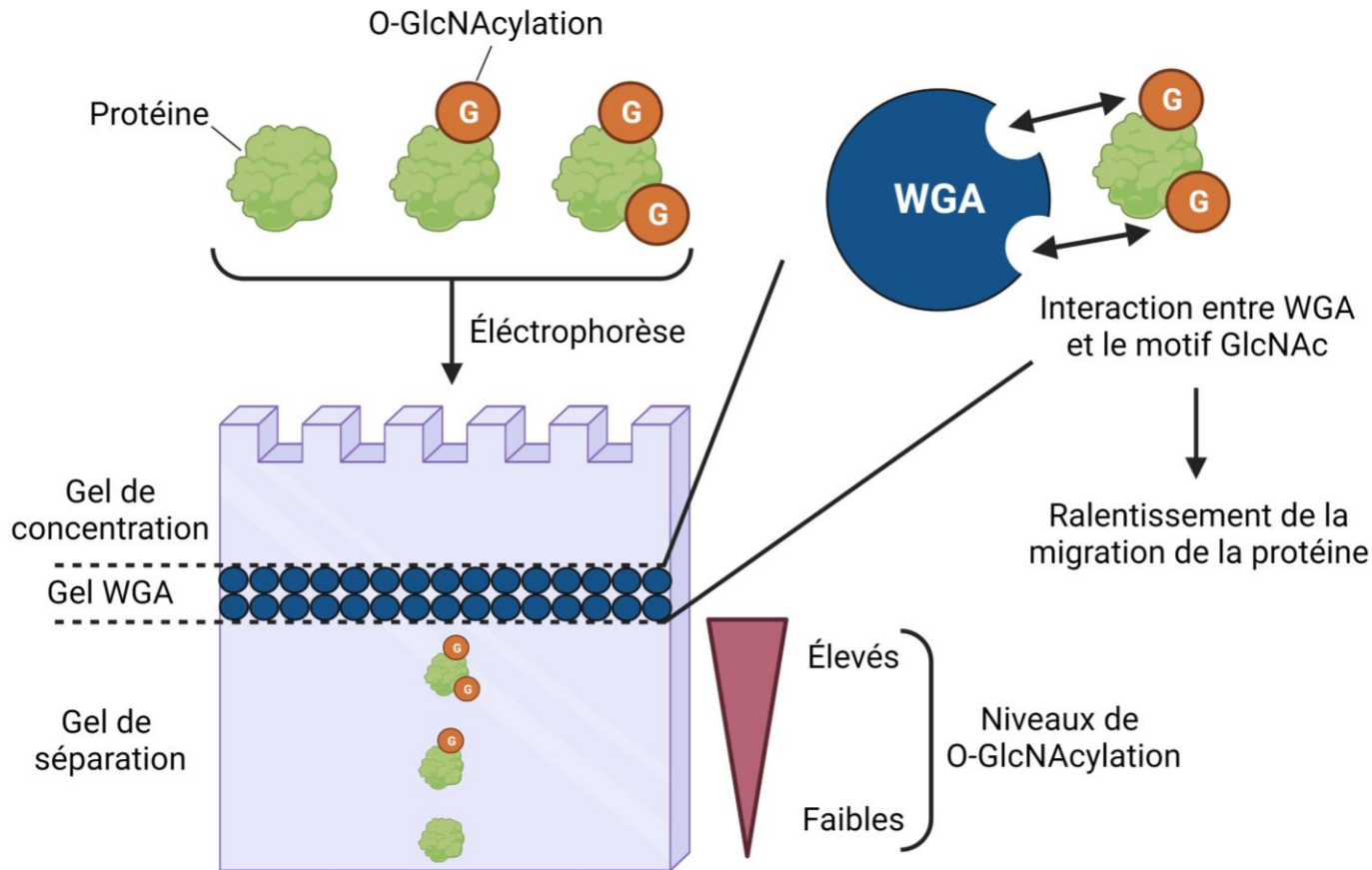
D'après Kubota et al., 2017



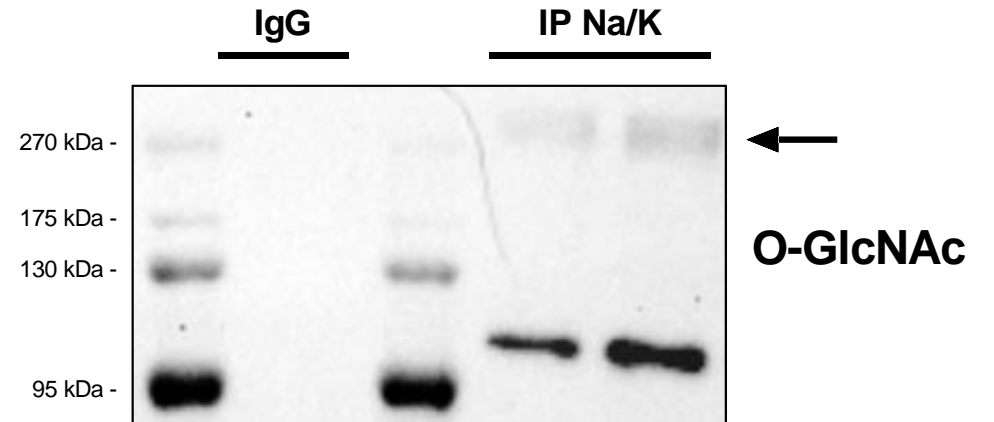
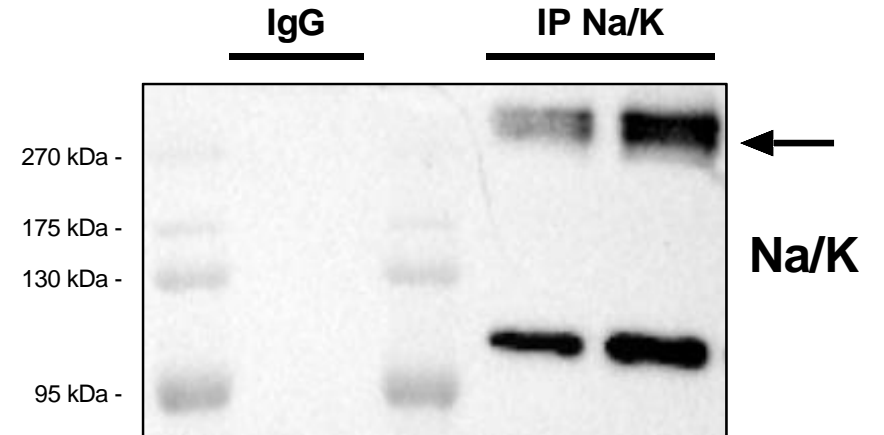
La Na/K ATPase est O-GlcNAcylée



Électrophorèse d'affinité basée sur WGA



D'après Kubota et al., 2017



Impact de la O-GlcNAcylation sur la Na/K ATPase ?



Impact sur la pompe Na/K ATPase

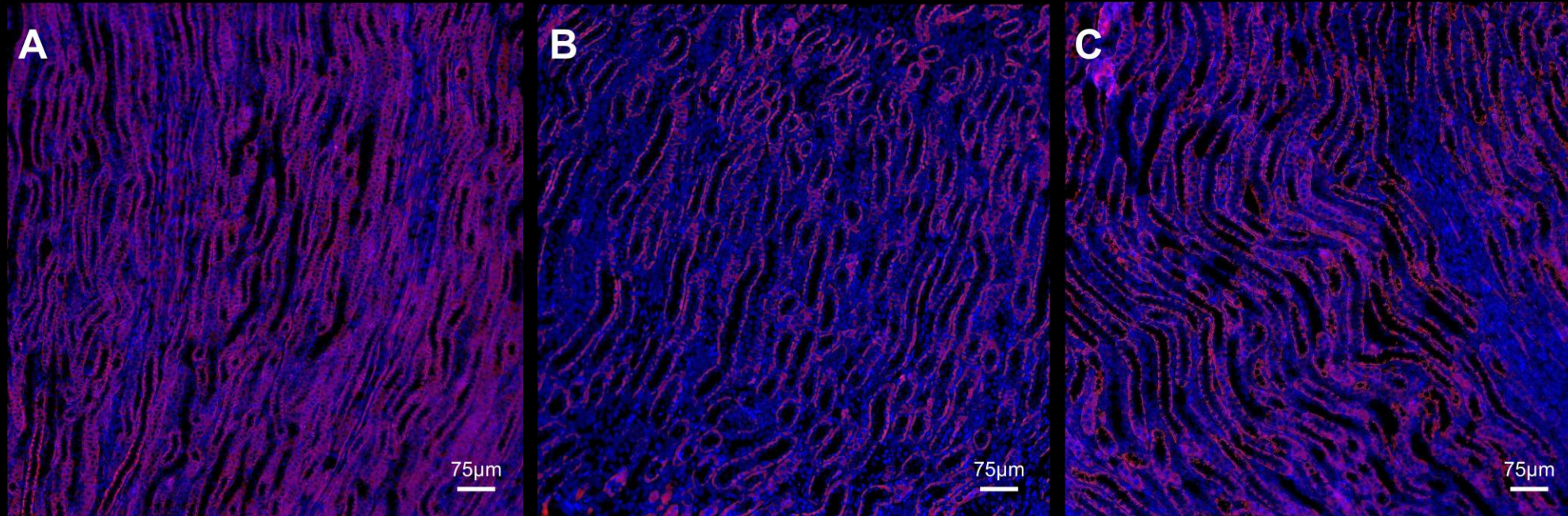


Virginie Aillerie

Sham

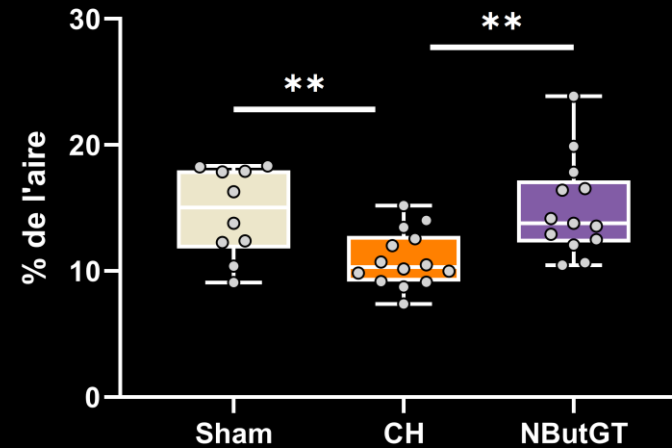
CH

NButGT

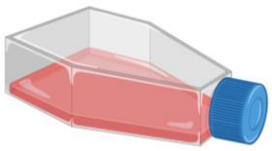


DAPI
Na/K ATPase

Expression rénale de la Na/K ATPase

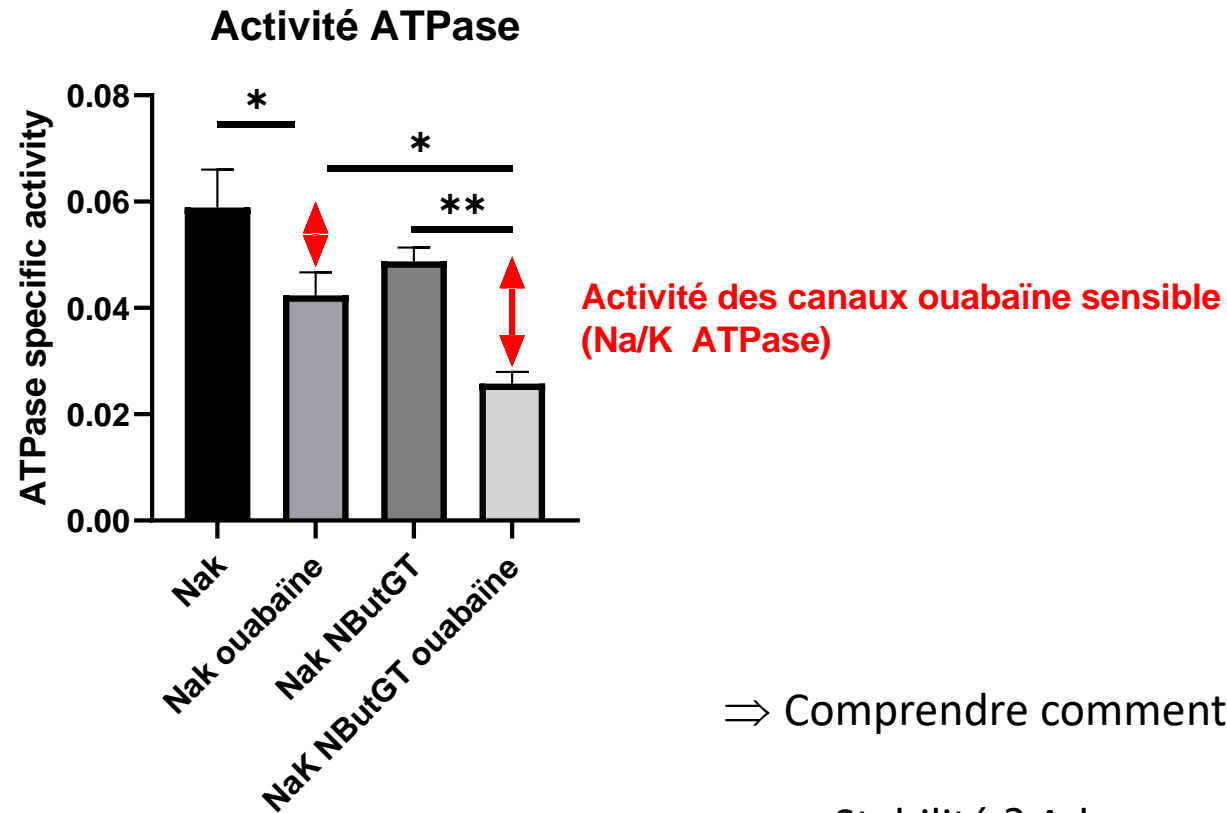


** : $p < 0,01$, $n = 10-14$



Cellules
HEK293

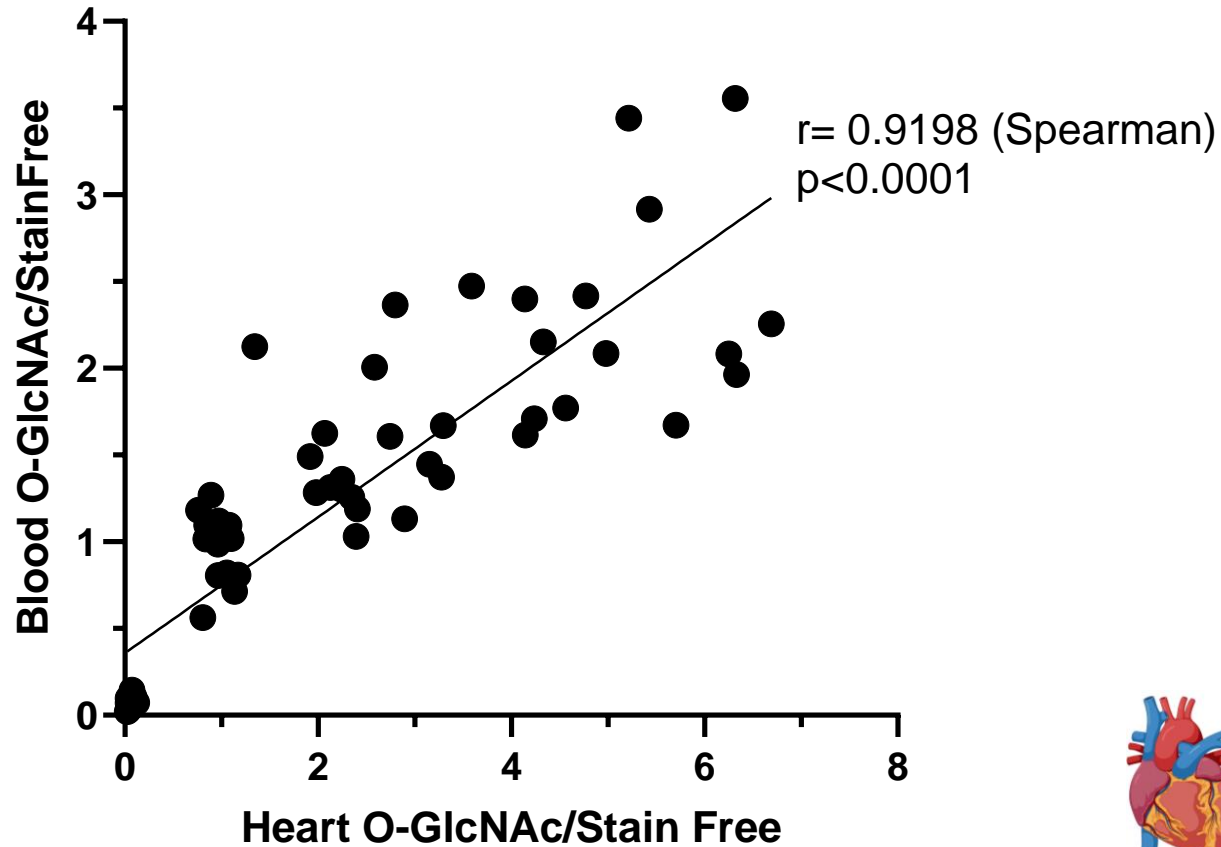
Impact sur la pompe Na/K ATPase



Des données préliminaires pour aller vers les patients

Vers un traitement chez l'Homme ?

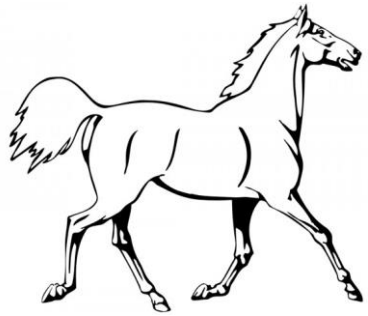
O-GlcNAc correlation Heart/Blood from rat, mice and human



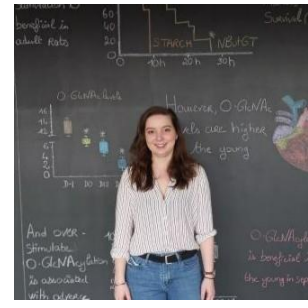
n = 61 (16 Humains,
18 souris, 28 rats)

Vers un traitement chez l'Homme ?

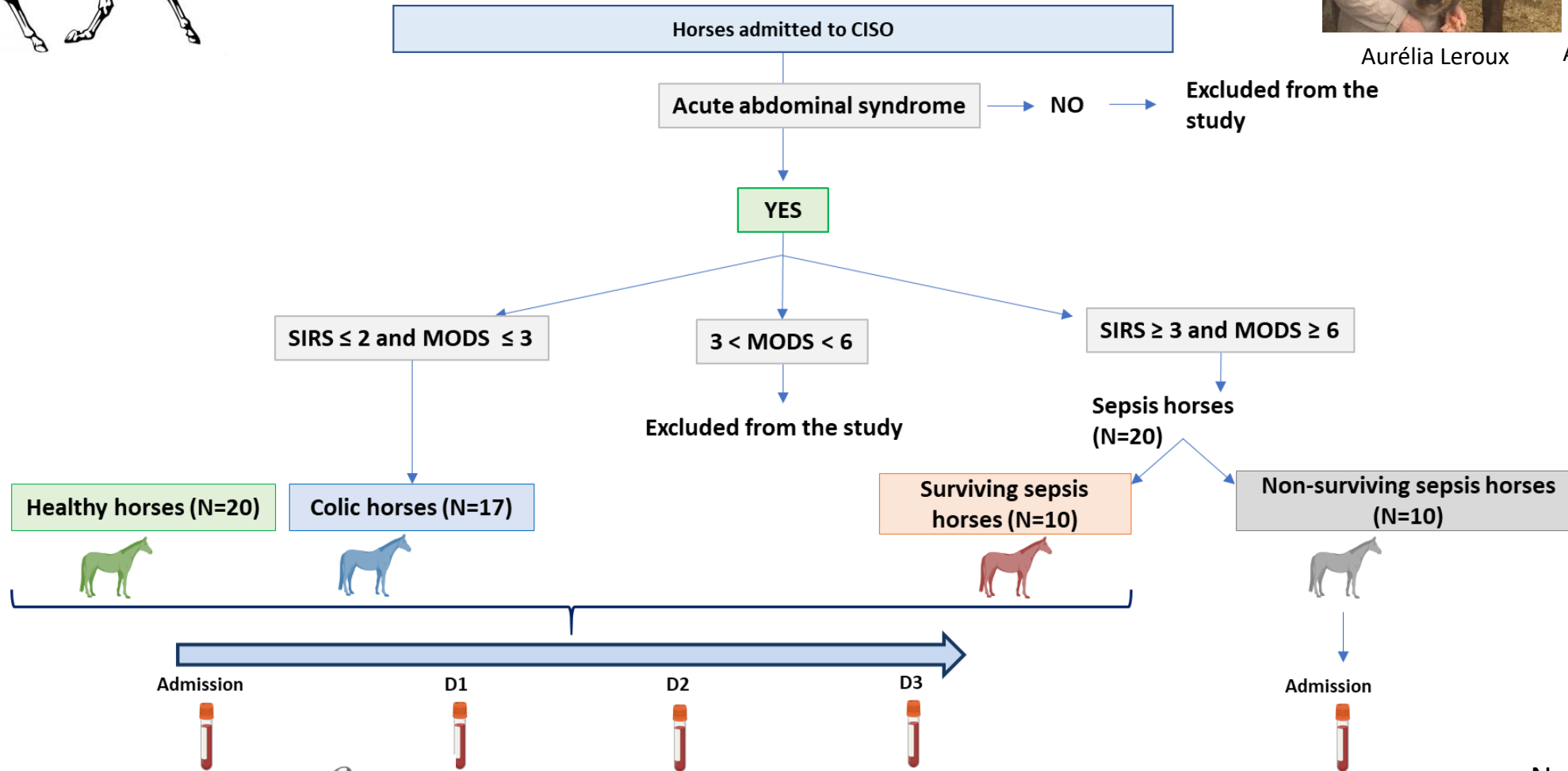
Situation clinique : le sepsis chez le cheval



Aurélia Leroux



Angélique Blangy--Letheule



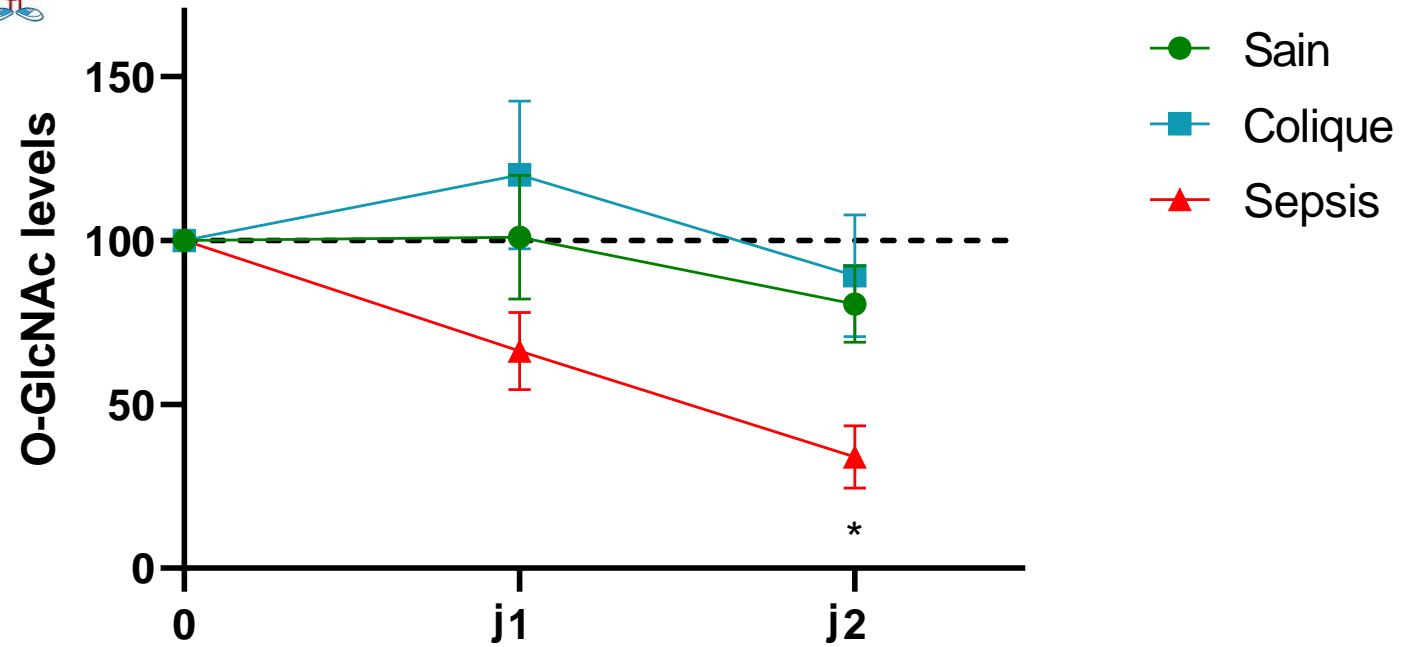
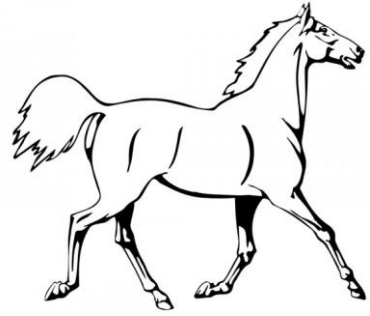
N= 10 - 20

Vers un traitement chez l'Homme ?

Situation clinique : le sepsis chez le cheval



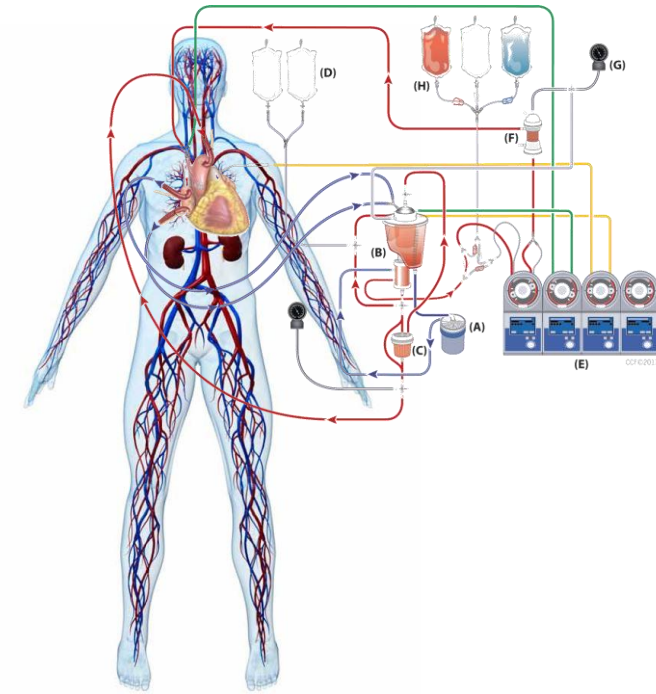
Martin Bouaud



N= 10 - 20

« Modèle » intégré chez l'Homme : la CEC

- Modèle d'inflammation contrôlée
 - Activation du complément
 - Dégradation cellulaire
 - Endotoxines et Cytokines pro-inflammatoires
- Ischémie – reperfusion

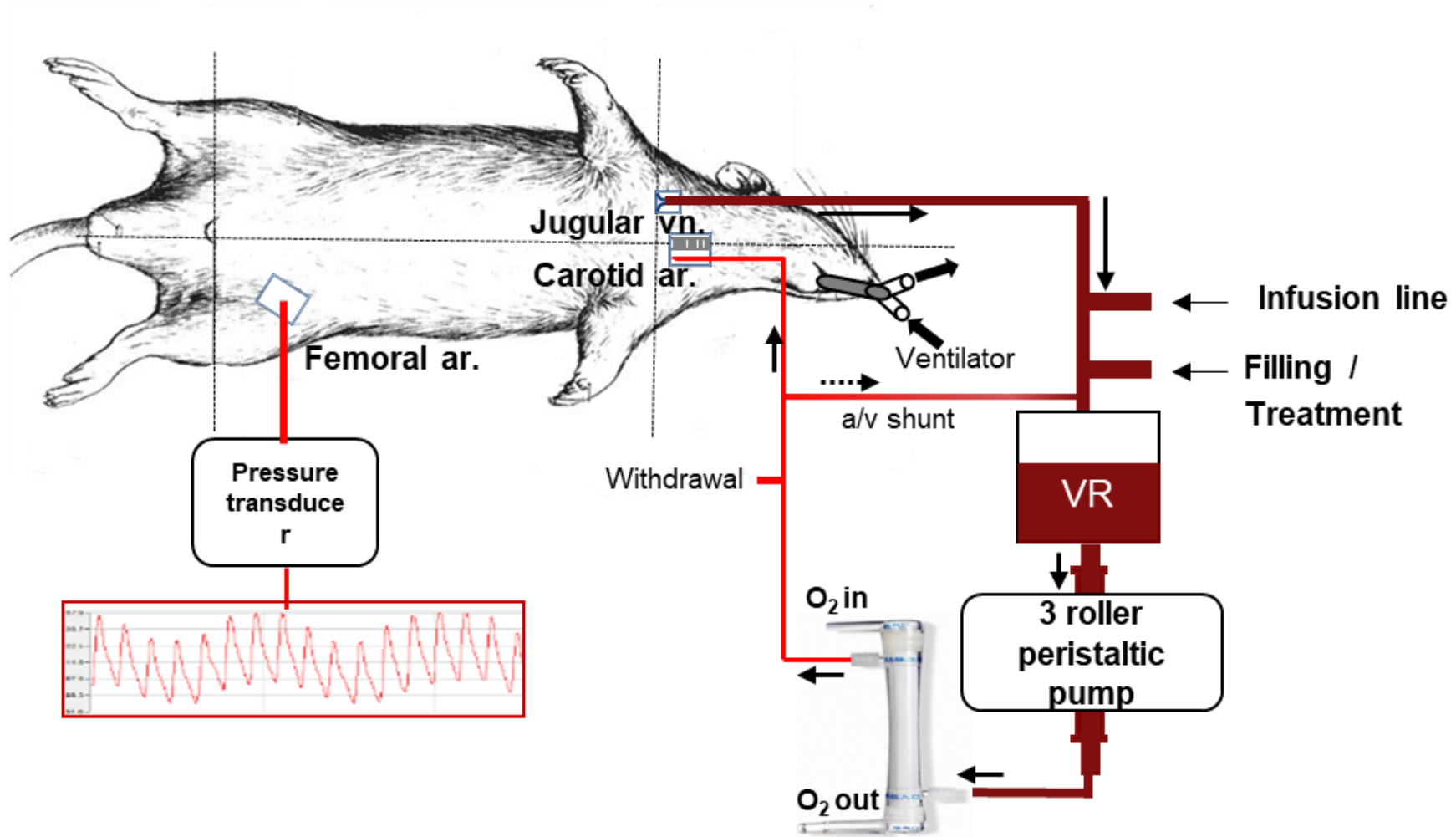


1. L'intensité du syndrome inflammatoire est corrélée à la durée de CEC
2. Maximum à 5-6h

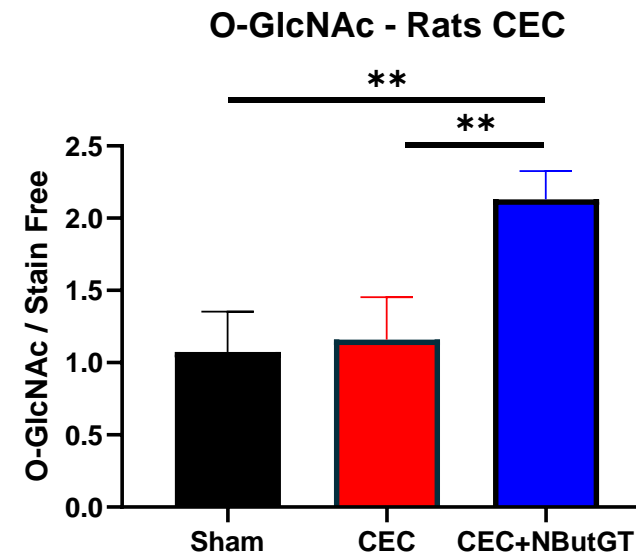
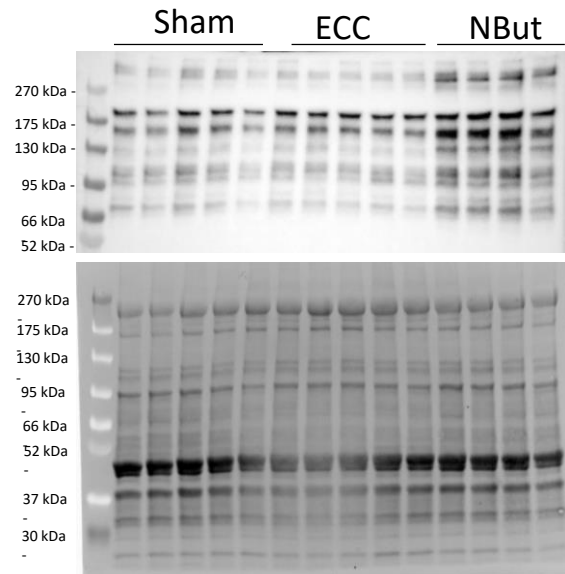
La circulation extra corporelle : modèle expérimentale



Antoine Persello



Modèle de CEC sur le rat

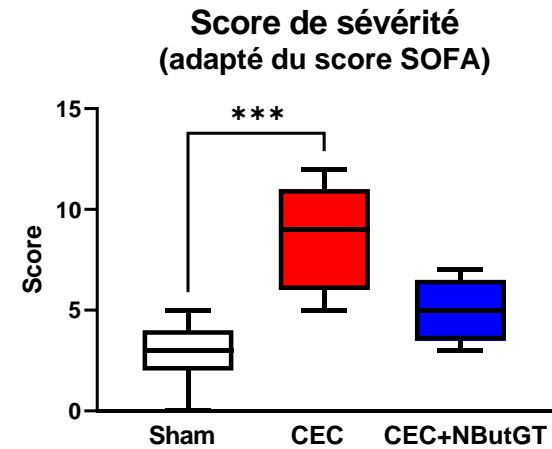
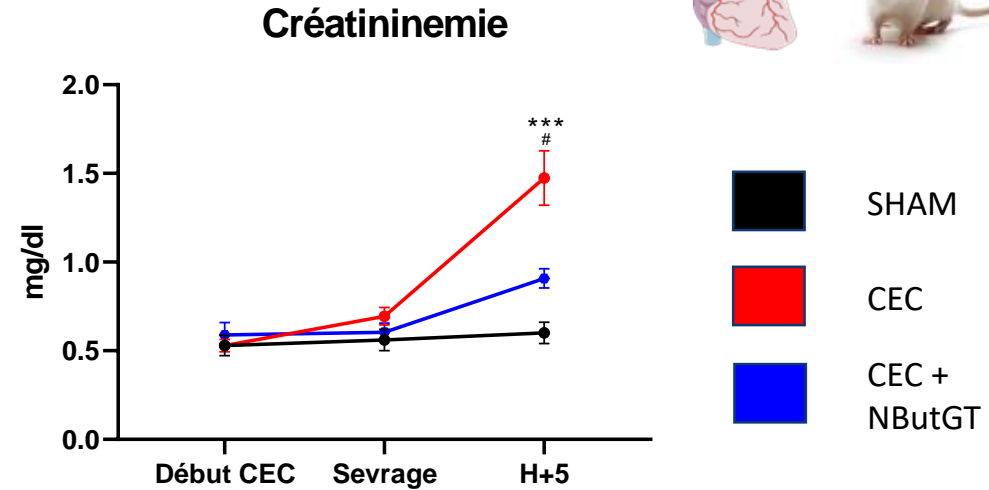
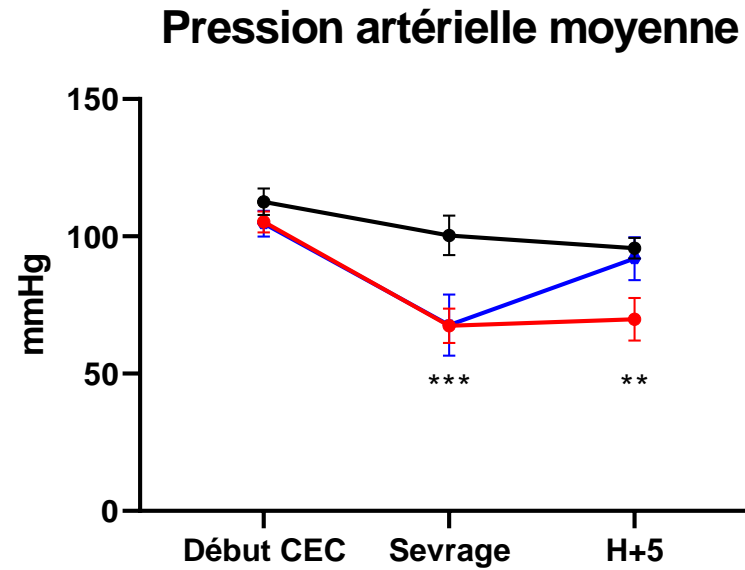


n= 5-11 / groupe

** p < 0,01

Données non publiées

Stimulation de la O-GlcNAcylation durant la CEC



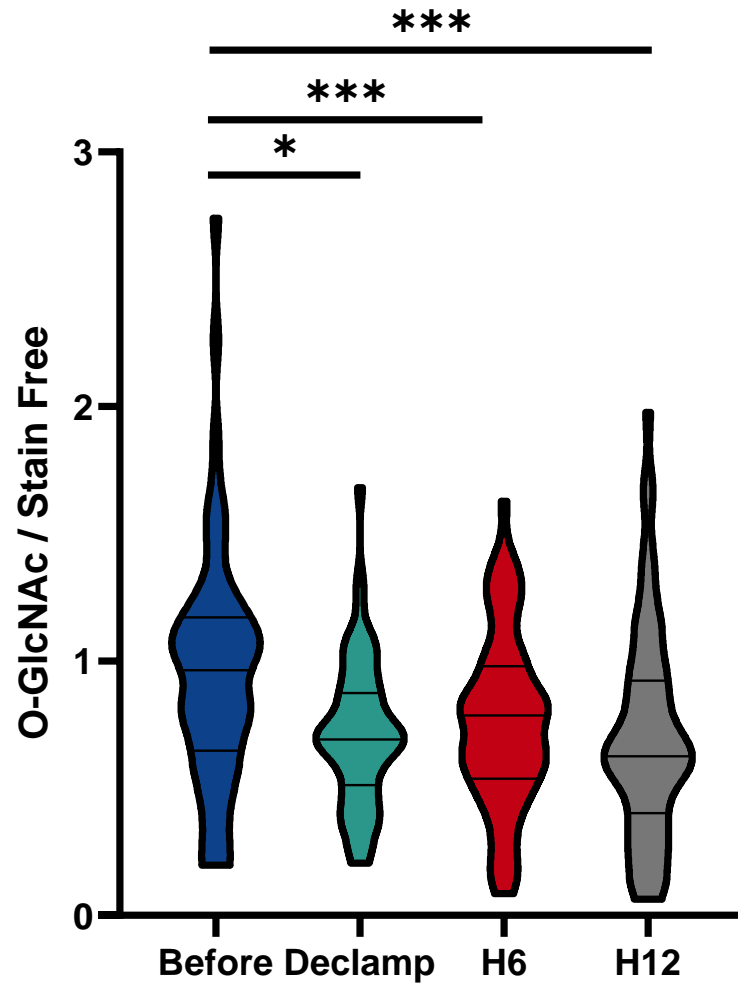
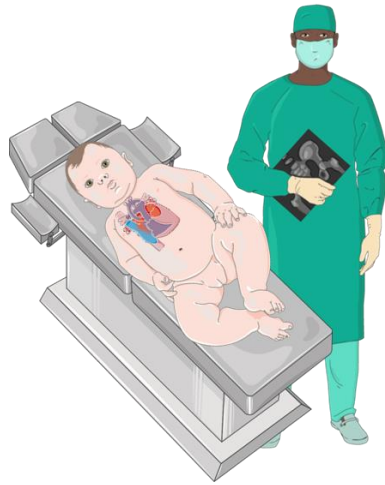
n= 5-11 / groupe
*** p < 0,001



O-GlcNAcylation durant la CEC chez l'Homme

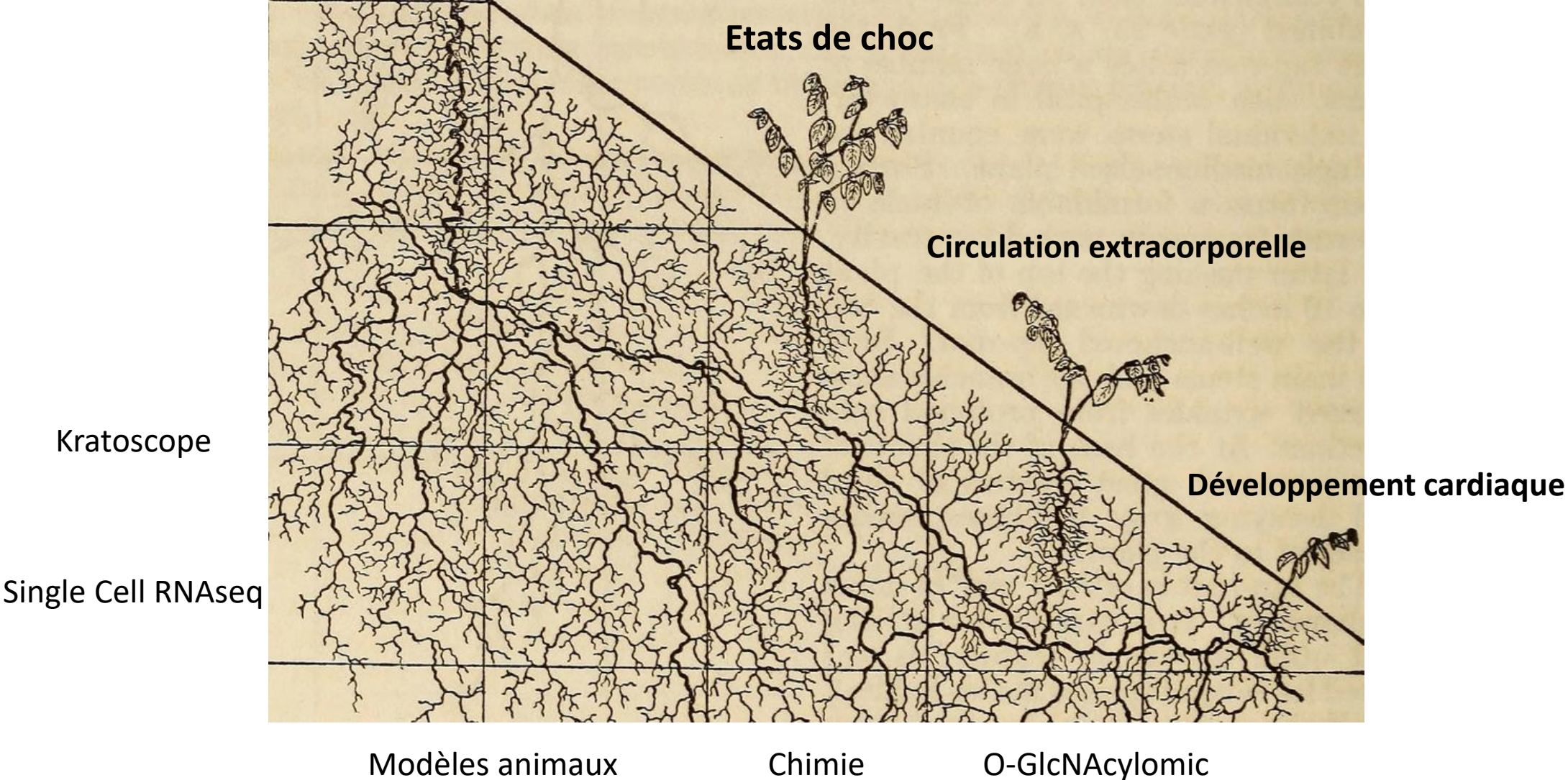


Jules Lecomte



N = 52

Et maintenant ? Du O-GlcNAc à toutes les sauces





Groupe de Benjamin Lauzier

Virginie Aillerie
Léa Bergez
Louis Berillon
Angélique Blangy -- Letheule
Martin Bouaud
Manon Denis
Mortéza Erfanian

Angélique Erraud
Imen Fellah
Chantal Gauthier Erfanian
Thomas Dupas
Aurelia Leroux
Bertrand Rozec
Amandine Vergnaud



MERCI !!



INSTITUT DE
CARDIOLOGIE
DE MONTRÉAL

Bertrand Bouchard
Christine des Rosiers



CEISAM

Chimie et Interdisciplinarité
Synthèse, Analyse,
Modélisation



Luc Bertrand
Laurent Bultot
Justine Dontaine
Didier Vertommen

Jacques Lebreton
Matthieu Rivière
Arnaud Tessier

Unité Thérapeutique
Expérimentale



Maud Chetiveaux



Venetia Cardona
Frédérique Dufour-Gaume
Nicolas Prat



Tarik Issad



Édith Bigot-Corbel



GenoBiRD
Genomics & Bioinformatics

Audrey Donnart
Raluca Teusan



Le mot de la fin ...

- Je recrute post-doc, PhD : benjamin.lauzier@univ-nantes.fr
- 50 km de l'atlantique
- Climat clément (température minimal $\sim 5^{\circ}\text{C}$)
- Vin et fromage abordable ;)
- Centre de recherche au top
- Équipe dynamique

