

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : GUINOT

Prénom : Pierre-Grégoire

Section CNU : 48-02

Grade : *Professeur des universités classe 1*

HDR : *Date de soutenance 4 avril 2017 Discipline : Hémodynamique en cardiologie*

l'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : 14, rue Gaffarel 21079 Dijon Cedex

pierregregoire.guinot@chu-dijon.fr

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : UMR 1231 LIPNESS

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche : **UMR1231 – Equipe Lipness**
- localisation : **Dijon**
- nom du directeur de thèse et du co-directeur : Pierre-Grégoire GUINOT
- adresse courriel du contact scientifique : pierregregoire.guinot@chu-dijon.fr

Titre du projet :

Impact du métabolisme des lipoprotéines et de la translocation digestive des endotoxines au cours de l'insuffisance circulatoire aigue

Description du projet (2 pages maximum)

L'insuffisance cardiaque aiguë (ICA) sur hoc cardiogénique est une affection fréquente et grave qui associe un faible débit cardiaque et une pression artérielle altérée. L'ischémie myocardique est la première cause de choc cardiogénique. Lors d'un choc cardiogénique, la réduction du débit cardiaque entraîne un apport insuffisant d'oxygène aux tissus et aux organes, y compris le tube digestif. Le stade ultime est l'arrêt cardiaque avec un débit nul dans le système cardiovasculaire. Physiologiquement, la surface de l'intestin est une zone qui absorbe les nutriments tout en agissant comme une barrière empêchant les substances nocives et les bactéries provenant de la lumière gastro-intestinale d'atteindre la circulation sanguine. L'ischémie-reperfusion intestinale, favorisée par la défaillance de la barrière intestinale, entraîne la translocation de toxines bactériennes (lipopolysaccharides, endotoxines), habituellement confinées dans le tube digestif, vers la circulation sanguine. L'endotoxémie, en réduisant les performances cardiaques, peut entraîner un cercle vicieux comprenant une réduction du débit cardiaque, une majoration de l'ischémie/hypoperfusion intestinale, une augmentation de la translocation des LPS, une intensification de l'inflammation et des défaillances d'organes. Si les interactions entre le cœur et l'intestin suscitent un intérêt croissant dans le cadre des maladies cardiovasculaires, les modalités exactes du passage trans-intestinal des lipopolysaccharides (LPS) secondaire à une ICA restent mal comprises.

Les LPS sont des molécules issues de la membrane externe des bactéries à Gram négatif et représentent des signaux d'alerte reconnus par les cellules de l'immunité innée de l'hôte. Les LPS sont de puissants activateurs de la réponse inflammatoire. Cette activation résulte de l'interaction de

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

la partie lipidique des molécules de LPS (« lipide A ») avec les récepteurs TLR-4 (Toll-Like Receptor-4). Cette reconnaissance est à l'origine d'une réponse inflammatoire indispensable à l'éradication des agents infectieux par le système immunitaire de l'hôte. Cependant, en cas d'activation persistante, un emballement de la réponse inflammatoire peut conduire à une dysfonction d'organes, voire à leur défaillance, à une hypotension persistante et éventuellement à la mort de l'individu.

En miroir de cette cascade pro-inflammatoire, les LPS présents dans la circulation peuvent être inactivés par les lipoprotéines circulantes. Les lipoprotéines ont été initialement décrites pour leur rôle dans le transport intravasculaire des lipides d'origine alimentaire ou endogène (cholestérol, triglycérides) et leur impact sur les maladies cardiovasculaires. Néanmoins, les lipoprotéines sont également capables de prendre en charge les LPS circulants et d'empêcher leur interaction avec les récepteurs TLR-4. De plus, elles assurent le transport des LPS jusqu'au foie en vue de leur élimination hépatobiliaire. Dans la circulation, les protéines de transfert des lipides assurent un remodelage constant des lipoprotéines plasmatiques et influencent ainsi leur métabolisme, leur quantité et leur fonctionnalité. Ainsi, notre équipe a pu mettre en évidence le rôle prépondérant de la PLTP (Phospholipid Transfer Protein) dans l'étape initiale de transfert des LPS aux lipoprotéines et son impact sur le processus de détoxification. À l'inverse, nous avons mis en évidence le rôle délétère de la CETP (Cholesteryl Ester Transfer Protein) dans le cadre de l'inflammation liée aux LPS, en raison de son impact sur les quantités de lipoprotéines circulantes. Cependant, ces travaux ont été menés dans des modèles de péritonite et d'injection intrapéritonéale de LPS, et l'impact de la CETP et de la PLTP sur la détoxification des LPS issus de la translocation suite à une insuffisance cardiaque est inconnu.

L'objectif de ce projet est de déterminer :

1. les modalités et les conséquences de la translocation des LPS issus de la lumière intestinale vers la circulation au cours d'une ICA ;
2. la distribution et la cinétique d'élimination des LPS présents dans l'organisme suite à une ICA ;
3. l'influence du métabolisme des lipoprotéines sur la résolution de l'endotoxémie résultant d'une ICA en termes d'élimination, de réponse inflammatoire et de mortalité.

Le projet sera mené in vivo dans deux modèles murins de sévérité différente : induction d'un infarctus (ligature de l'artère coronaire, en collaboration avec l'équipe de Catherine Vergely, PEC2, Dijon) ou arrêt cardiaque (injection intraveineuse de solution de KCl suivie d'une réanimation), en collaboration avec l'équipe de Stéphane Germain, UMR942 Inserm Paris. L'impact de la PLTP et de la CETP sera déterminé en comparant des souris de type sauvage (WT) à des modèles de souris génétiquement modifiées, dans lesquels soit le gène de la PLTP endogène a été inactivé (souris PLTPKO), soit le gène de la CETP humaine a été introduit (souris CETPTg ; les souris WT étant naturellement dépourvues de CETP). Les souris WT, PLTPKO et CETPTg sont disponibles au laboratoire. La magnitude de l'endotoxémie induite par l'ICA sera quantifiée par dosage massique des LPS via chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (LCMS2, technique développée par la plateforme de lipidomique de Dijon – UMS BioSanD). La cinétique d'élimination des LPS sera déterminée sur des échantillons sanguins prélevés à différents temps sur 48 heures après induction de l'ICA.

Les modalités de translocation intestinale des LPS seront étudiées par analyse de coupes histologiques d'intestins de souris ayant reçu des LPS fluorescents (développés au laboratoire) administrés par gavage avant l'induction de l'ICA. La distribution des LPS circulants sera déterminée après séparation des différentes classes de lipoprotéines par ultracentrifugation séquentielle. L'altération de la fonction barrière intestinale ainsi que les indicateurs d'atteinte cardiaque seront déterminés par immunodosage de marqueurs spécifiques (ELISA iFABP, citrulline, NT-proBNP, disponibles commercialement), et le statut inflammatoire sera quantifié par dosage multiplex de cytokines (disponible commercialement, analyse sur la plateforme de cytométrie de Dijon – UMS BioSanD).

Une partie annexe du projet visera à initier la constitution d'une biobanque d'échantillons plasmatiques issus de patients présentant une ICA (constitution d'une cohorte dans le cadre de l'étude LEvoheart shock et AVATAR) afin de transposer nos observations à l'Homme en déterminant les niveaux et la distribution des LPS ainsi que le statut inflammatoire en fonction du profil lipidique et des activités CETP et PLTP.

Globalement, ce projet nous permettra de mieux comprendre les modalités de translocation des LPS au cours d'une ICA et d'identifier de nouveaux marqueurs circulants prédictifs de la sévérité de la réponse inflammatoire, ainsi que de possibles cibles thérapeutiques, tant au niveau local que circulant, permettant de limiter l'endotoxémie liée à l'ICA et ses effets délétères sur l'organisme.

Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat) :

Financements récurrents INSERM/UBE de l'équipe Lipness

Connaissances et compétences requises

Biochimie, lipidologie, réponse inflammatoire, techniques de caractérisation des lipoprotéines (ultracentrifugation, chromatographie d'exclusion de taille), techniques d'administration et de prélèvement chez la souris.

Résumé en français

L'insuffisance cardiaque aiguë (ICA) avec choc cardiogénique est une affection sévère caractérisée par un faible débit cardiaque et une pression artérielle altérée, principalement causée par l'ischémie myocardique. Cette condition entraîne une hypoperfusion des organes, notamment du tube digestif, et une défaillance de la barrière intestinale. Cela permet la translocation de toxines bactériennes, comme les lipopolysaccharides (LPS), dans la circulation sanguine, entraînant une endotoxémie. Les LPS, issus de bactéries à Gram négatif, sont de puissants activateurs de la réponse inflammatoire. Si cette activation est bénéfique pour l'élimination des agents pathogènes, une réponse excessive peut provoquer une défaillance multi-organes avec décès. Les lipoprotéines circulantes jouent un rôle clé dans la neutralisation des LPS et leur élimination hépatobiliaire. La PLTP favorise leur transfert aux lipoprotéines et leur détoxification, tandis que la CETP, en modifiant les quantités de lipoprotéines circulantes, aggrave l'endotoxémie et l'inflammation. Toutefois, ces mécanismes restent inexplorés dans le contexte spécifique du choc cardiogénique. Des études approfondies aideraient à mieux comprendre l'impact de la translocation des LPS et identifier de nouveaux marqueurs et cibles thérapeutiques au niveau intestinal ou circulant permettant de limiter les effets délétères de l'endotoxémie liée à l'ICA.

Ce projet vise à déterminer : 1) les modalités de translocation des LPS de la lumière intestinale vers la circulation au cours d'une ICA ; 2) la distribution et la cinétique d'élimination des LPS circulants suite à une ICA ; 3) l'influence de la CETP et de la PLTP sur la résolution de l'endotoxémie liée à l'ICA en termes de distribution, d'élimination et de réponse inflammatoire.

Résumé en anglais

Acute heart failure (AHF) with cardiogenic shock is a severe condition characterized by low cardiac output and impaired blood pressure, primarily caused by myocardial ischemia. This condition leads to organ hypoperfusion, particularly in the gastrointestinal tract, and disruption of the intestinal barrier. This allows the translocation of bacterial toxins, such as lipopolysaccharides (LPS), into the bloodstream, leading to endotoxemia. LPS, derived from Gram-negative bacteria, are potent activators of the inflammatory response. While this activation is beneficial for pathogen elimination, an excessive response can lead to multi-organ failure and death. Circulating lipoproteins play a key role in neutralizing LPS and facilitating their hepatobiliary elimination. PLTP promotes their transfer

to lipoproteins and detoxification, while CETP, by modifying circulating lipoprotein levels, increases their quantity and exacerbates inflammation. However, these mechanisms remain unexplored in the specific context of cardiogenic shock, necessitating further studies to better understand the impact of LPS translocation and identify new therapeutic targets.

The aim of this project is to determine: 1) the modalities of translocation of LPS from the intestinal lumen into the circulation during AHF; 2) the distribution and clearance kinetics of LPS present in the circulation following AHF ; 3) the influence of CETP and PLTP on the resolution of AHF-induced endotoxemia in terms of distribution, elimination and inflammatory response.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Non défini

Biochimie

Santé, médecine humaine, vétérinaire

Mots clés :