

**Année 2021-2022 - Demande d'allocation doctorale
ED Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (SSBCV) n°549**

1. Informations administratives :

Nom du directeur de thèse : [Jean-Michel Halimi](#)
Codirecteur de thèse (éventuellement) :
Unité, Equipe : EA4245 T2I
Filière de rattachement : A
Email de l'encadrant : halimi@med.univ-tours.fr

Coencadrant éventuel (NB : limité à un seul coencadrant(e) et à deux en cas de codirection de thèse) : [Côme Pasqualin](#)

2. Titre de la thèse : Etude du mécanisme d'action conduisant aux effets thérapeutiques des inhibiteurs du SGLT2 dans le traitement de l'insuffisance cardiaque : effets directs vs. effet humoral réno-cardiaque

3. Mots-clés : interaction réno-cardiaque ; inhibiteurs du SGLT2, couplage excitation-contraction ; cardiomyocytes, RPTEC, ischémie-reperfusion.

3. Résumé :

Les inhibiteurs du cotransporteur Na^+ -glucose de type 2 SGLT2 (iSGLT2), initialement utilisés comme antidiabétiques, ont récemment démontré leur capacité à réduire la morbi-mortalité des patients insuffisants cardiaques (IC) d'environ 30 %, ainsi que le risque d'insuffisance rénale chez les patients à risque. Le mécanisme d'action de ces effets protecteurs n'est pas identifié (1-5). Le cotransporteur SGLT2 est exprimé par les cellules tubulaires proximales rénales, mais pas par les cardiomyocytes. Si le mécanisme pharmacologique à l'origine de ces effets thérapeutiques n'a pas encore été élucidé, il pourrait être dû à une cible secondaire non identifiée des iSGLT2 située dans les cardiomyocytes (« effet off-target ») et/ou être lié à un effet protecteur indirect via une action sur les cellules épithéliales rénales exprimant le SGLT2 (« interaction (cross-talk) réno-cardiaque »). L'objectif de ce travail de thèse sera donc :

- 1) d'explorer l'effet direct des iSGLT2 sur le fonctionnement cardiaque en conditions basales et en présence d'une stimulation sympathique – l'activation du système nerveux sympathique étant fortement impliquée dans les hospitalisations et décès survenant chez les patients IC. L'effet fonctionnel des iSGLT2 sera d'abord étudié *ex vivo* à l'échelle de l'organe sur des cœurs isolés-perfusés de rat, puis à l'échelle cellulaire (cardiomyocytes isolés), sur les différents effecteurs du couplage excitation-contraction (étude électrophysiologique, étude de la dynamique calcique et des propriétés contractiles) ;
- 2) de tester l'existence d'un effet humoral du rein sur le cœur en caractérisant l'effet du sécrétome de cellules épithéliales rénales en culture (RPTEC), traitées ou non par iSGLT2, et soumises à un stress d'ischémie-reperfusion, sur des cardiomyocytes isolés de rat.

Ce travail apportera d'une part, une meilleure connaissance du mécanisme d'action des iSGLT2 dans le traitement de l'IC, par l'identification de nouvelles cibles et ainsi une possible optimisation des principes actifs en vue de l'obtention d'une meilleure sélectivité ; d'autre part, un renforcement des connaissances de la physiopathologie de l'IC permettant le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Références

1. Wheeler DC, Stefansson BV, Batiushin M, Bilchenko O, Cherney DZI, Chertow GM, et al. The dapagliflozin and prevention of adverse outcomes in chronic kidney disease (DAPA-CKD) trial: baseline characteristics. *Nephrol Dial Transplant*. 2020.
2. Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, Bompoint S, Heerspink HJL, Charytan DM, et al. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *N Engl J Med*. 2019;380(24):2295-306.
3. Muskiet MHA, Heerspink HJL, van Raalte DH. SGLT2 inhibition: a new era in renoprotective medicine? *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5(8):569-71.
4. Heerspink HJL, Karasik A, Thuresson M, Melzer-Cohen C, Chodick G, Khunti K, et al. Kidney outcomes associated with use of SGLT2 inhibitors in real-world clinical practice (CVD-REAL 3): a multinational observational cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(1):27-35.
5. Sarafidis P, Ortiz A, Ferro CJ, Halimi JM, Kreutz R, Mallamaci F, et al. Sodium--glucose co-transporter-2 inhibitors for patients with diabetic and nondiabetic chronic kidney disease: a new era has already begun. *J Hypertens*. 2021;39(6):1090-7.

4 Thématique, Domaine, Objectifs, Contexte, Méthode, Résultats attendus et Références bibliographiques

Thématique, domaine et contexte

L'insuffisance rénale chronique et l'insuffisance cardiaque sont des pathologies associées à une mortalité très élevée, et qui représentent un coût considérable pour l'économie de la santé. Plusieurs essais cliniques récents ont démontré que les inhibiteurs du cotransporteur sodium-glucose de type 2 (iSGLT2), initialement développés comme antidiabétiques oraux, réduisent d'environ 30 % la morbi-mortalité des patients insuffisant cardiaques et d'environ 40 % la dégradation de la fonction rénale. Ces effets sont indépendants de l'existence d'un diabète chez les patients.

Le SGLT2 étant exprimé par les cellules tubulaires proximales rénales mais pas par les cardiomyocytes, le mécanisme moléculaire à l'origine de ces effets thérapeutiques n'a pas été élucidé.

Deux hypothèses peuvent être émises : 1) un effet direct sur les cardiomyocytes, indépendant de l'effet sur le SGLT2 (effet dit « off-target »). Cette piste a été peu explorée et les études réalisées sur véritables cardiomyocytes sont manquantes ; 2) un effet initial sur les cellules tubulaires proximales rénales ayant des conséquences sur les cardiomyocytes (effet indirect, via une communication humorale). Malgré de nombreux travaux publiés, le mécanisme d'action des iSGLT2 reste inconnu.

Dans un travail préliminaire, nous avons montré que le surnageant des cellules tubulaires proximales (RPTEC) en culture soumises à un stress d'ischémie-reperfusion entraîne une réduction de la viabilité de cellules cardiaques (AC16) en coculture, et que la réduction de la viabilité de ces AC16 peut être diminuée par l'administration d'un iSGLT2. Ces données

valident la possibilité d'un effet humoral (« crosstalk » réno-cardiaque) mais n'invalident pas pour autant un effet direct « off-target » sur les cardiomyocytes.

Contexte d'encadrement scientifique :

Le projet de thèse exposé ici s'appuie sur les expertises scientifiques et compétences techniques complémentaires du directeur de thèse et du coencadrant, notamment dans les domaines de la néphrologie, de la pharmacologie cardiaque et de l'électrophysiologie, mais également des autres membres de l'équipe (biologie de la cellule épithéliale, étude de la composante inflammatoire et du sécrétome). De plus, les profils d'encadrement permettent un développement translationnel de ce travail (clinique → fondamental → clinique).

Objectifs et Méthodes :

1. Recherche d'une autre cible que SGLT2 (« off-target ») en explorant l'effet direct des iSGLT2 sur le fonctionnement cardiaque en condition basale et en condition de stimulation sympathique – l'activation du système nerveux sympathique étant fortement impliquée dans les hospitalisations et décès survenant chez les patients en insuffisance cardiaque. L'effet fonctionnel des iSGLT2 sera d'abord étudié *ex vivo* à l'échelle de l'organe sur des cœurs isolés-perfusés de rat, puis à l'échelle cellulaire (cardiomyocytes), sur les différents effecteurs du couplage excitation-contraction (étude électrophysiologique, étude de la dynamique calcique et des propriétés contractiles).

2. Tester l'existence d'un effet humoral du rein sur le cœur en caractérisant l'effet du sécrétome de cellules épithéliales rénales en culture (RPTEC) traitées ou non par iSGLT2 et soumis à un stress d'ischémie-reperfusion, sur des cardiomyocytes isolés de rat.

Résultats attendus et retombées

Ce travail apportera d'une part, une meilleure connaissance du mécanisme d'action des iSGLT2 dans le traitement de l'insuffisance cardiaque, par l'identification de nouvelles cibles et ainsi une possible optimisation des principes actifs en vue de l'obtention d'une meilleure sélectivité ; d'autre part, un renforcement des connaissances de la physiopathologie de l'IC permettant le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

5. Title, key words and abstract in english

Assessment of the direct (« off-target ») and indirect, through kidney-heart crosstalk, of SGLT2 inhibitors on cardiomyocyte phenotype and effectors of excitation- contraction coupling.

Key words : **kidney-heart** crosstalk; SGLT2 inhibitors, excitation- contraction coupling, cardiomyocytes, RPTEC, ischemia-reperfusion.

Abstract

SGLT2 inhibitors have demonstrated beneficial effects on the prevention and treatment of patients with heart failure, as well as on kidney protection. The mechanisms of these beneficial effects are presently unknown. Sodium-glucose co-transporter SGLT2 is expressed in the proximal tubular kidney cells, but not in cardiomyocytes. Consequently, these mechanisms could result from the effect of the SGLT2 inhibitors on another target than SGLT2 (« off-target effect ») on cardiomyocytes or associated to proximal renal tubular cells (« kidney-heart cross-talk). The aim of our work will be:

- 3) to explore the direct effect of SGLT2 inhibitors on the function of cardiomyocytes in basal condition and after sympathetic stress – the activation of sympathetic receptors on cardiomyocytes is indeed implicated in the hospitalization and death by cardiac failure of patients with cardiac conditions. The effect of SGLT2 inhibitors will be studied first *ex vivo* in isolate, perfused rat hearts, then on a model of cardiomyocytes, on different effectors on excitation-contraction coupling (electrophysiology studies, calcium dynamics, contractile properties).
- 4) to assess the effect of the secretoma of cultured renal proximal tubular cells (RPTEC), treated or not with SGLT2 inhibitors and submitted to ischemia-reperfusion stress, on the phenotype and contraction-excitation coupling of isolated rat cardiomyocytes.

Our work will provide a better understanding of the beneficial effect on renal and cardiac cells, and will allow us to identify new targets. This work will help to better understand the physiopathology of heart failure, and to develop new therapeutic strategies.

6. Thèses encadrées au cours des 4 dernières années (par l'encadrant et l'éventuel coencadrant) :

Nom du doctorant : [Charlotte Salmon-Gandonnière](#)

Encadrant responsable de la thèse : [Stéphane Ehrmann](#)

Date de début - date de soutenance : 2015-2018

Financement de la thèse : [aucun \(salariée de la fonction publique hospitalière\)](#)

Publications du doctorant :

[Desgrouas, M., Merdji, H., Bretagnol, A., Barin-Le Guellec, C., Halimi, J.-M., Ehrmann, S., Salmon Gandonnière, C., 2021. **Kinetic Glomerular Filtration Rate Equations in Patients With Shock: Comparison With the Iohexol-Based Gold-Standard Method.** Crit Care Med 49, e761–e770. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004946>](#)

[Salmon Gandonnière, C., Helms, J., Le Tilly, O., Benz-de Bretagne, I., Bretagnol, A., Bodet-Contentin, L., Mercier, E., Halimi, J.-M., Benzékri-Lefèvre, D., Meziani, F., Barin-Le Guellec, C., Ehrmann, S., Clinical Research in Intensive Care and Sepsis - TRIal Group for Global Evaluation and Research in SEpsis \(CRICS-TriggerSep\) Network, 2019. **Glomerular Hyper- and Hypofiltration During Acute Circulatory Failure: Iohexol-Based Gold-Standard Descriptive Study.** Crit Care Med 47, e623–e629. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003804>](#)

[Salmon-Gandonnière, C., Benz-de Bretagne, I., Mercier, E., Joret, A., Halimi, J.-M., Ehrmann, S., Barin-Le Guellec, C., 2016. **Iohexol clearance in unstable critically ill patients: a tool to assess glomerular filtration rate.** Clin Chem Lab Med 54, 1777–1786. <https://doi.org/10.1515/ccm-2015-1202>](#)

Brevets : [NA](#)

Devenir du doctorant après la thèse : [Praticien hospitalier, CHU Tours](#)

7. Thèses en cours (par l'encadrant et l'éventuel coencadrant) :

Nom du doctorant : [Anas Alsayed](#)

Encadrant responsable de la thèse : [Cotutelle France-Soudan : V. Maupoil ; M. ElHadi](#)

Date de début - date de soutenance : 2017-fin prévue en février 2022

Financement de la thèse : Etat du Soudan

Publications du doctorant :

Alsayed, A.M.A., Zhang, B.L., Bredeloux, P., Boudesocque-Delaye, L., Yu, A., Peineau, N., Enguehard-Gueiffier, C., Ahmed, E.M., Pasqualin, C., Maupoil, V., 2020. **Aqueous Fraction from Hibiscus sabdariffa Relaxes Mesenteric Arteries of Normotensive and Hypertensive Rats through Calcium Current Reduction and Possibly Potassium Channels Modulation.** Nutrients 12, E1782. <https://doi.org/10.3390/nu12061782>

Brevets : NA

Nom du doctorant : Benjamin Maïer

Encadrant responsable de la thèse : Jean-Michel Halimi

Date de début - date de soutenance : décembre 2019 (fin prévue en octobre 2022)

Financement de la thèse : pas de financement (salarié de la fonction publique)

Publications du doctorant : dans le cadre de sa thèse :

Maïer, B., Gory, B., Lapergue, B., Sibon, I., Escalard, S., Kyheng, M., Labreuche, J., de Havenon, A., Petersen, N., Anadani, M., Gayat, E., Boursin, P., Ben Maacha, M., Desilles, J.-P., Blanc, R., Piotin, M., Halimi, J.-M., Mazighi, M., BP-TARGET investigators, 2021. **Effect of blood pressure variability in the randomized controlled BP TARGET trial.** Eur J Neurol. <https://doi.org/10.1111/ene.15194>

Brevets : NA

7. Cinq publications principales ou brevets de l'encadrant (et de l'éventuel coencadrant) au cours des 4 dernières années :

Maïer, B., Gory, B., Lapergue, B., Sibon, I., Escalard, S., Kyheng, M., Labreuche, J., de Havenon, A., Petersen, N., Anadani, M., Gayat, E., Boursin, P., Ben Maacha, M., Desilles, J.-P., Blanc, R., Piotin, M., Halimi, J.-M., Mazighi, M., BP-TARGET investigators, 2021. **Effect of blood pressure variability in the randomized controlled BP TARGET trial.** Eur J Neurol. <https://doi.org/10.1111/ene.15194>

Thoreau, B., von Tokarski, F., Bauvois, A., Bayer, G., Barbet, C., Cloarec, S., Mérieau, E., Lachot, S., Garot, D., Bernard, L., Gyan, E., Perrotin, F., Pouplard, C., Maillot, F., Gatault, P., Sautenet, B., Rusch, E., Frémeaux-Bacchi, V., Vigneau, C., Fakhouri, F., Halimi, J.-M., 2021. **Infection in Patients with Suspected Thrombotic Microangiopathy Based on Clinical Presentation.** Clin J Am Soc Nephrol 16, 1355–1364. <https://doi.org/10.2215/CJN.17511120>

Halimi, J.-M., Gatault, P., Longuet, H., Barbet, C., Bisson, A., Sautenet, B., Herbert, J., Buchler, M., Grammatico-Guillon, L., Fauchier, L., 2020. **Major Bleeding and Risk of Death after Percutaneous Native Kidney Biopsies: A French Nationwide Cohort Study.** Clin J Am Soc Nephrol 15, 1587–1594. <https://doi.org/10.2215/CJN.14721219>

Salmon Gandonnière, C., Helms, J., Le Tilly, O., Benz-de Bretagne, I., Bretagnol, A., Bodet-Contentin, L., Mercier, E., Halimi, J.-M., Benzékri-Lefèvre, D., Meziani, F., Barin-Le Guellec, C., Ehrmann, S., Clinical Research in Intensive Care and Sepsis - TRIal Group for Global Evaluation and Research in SEPs (CRICS-TriggerSep) Network, 2019. **Glomerular Hyper- and Hypofiltration During Acute Circulatory Failure: Iohexol-Based Gold-Standard Descriptive Study.** Crit Care Med 47, e623–e629. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003804>

Bayer, G., von Tokarski, F., Thoreau, B., Bauvois, A., Barbet, C., Cloarec, S., Mérieau, E., Lachot, S., Garot, D., Bernard, L., Gyan, E., Perrotin, F., Pouplard, C., Maillot, F., Gatault, P., Sautenet, B., Rusch, E., Buchler, M., Vigneau, C., Fakhouri, F., Halimi, J.-M., 2019. **Etiology and Outcomes of Thrombotic Microangiopathies.** Clin J Am Soc Nephrol 14, 557–566. <https://doi.org/10.2215/CJN.11470918>

Bredeloux, P., Findlay, I., Pasqualin, C., Hocini, M., Bernus, O., Maupoil, V., 2020. **Selective inhibition of electrical conduction within the pulmonary veins by α 1-adrenergic receptors activation in the Rat.** Sci Rep 10, 5390. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62349-5>

Alsayed, A.M.A., Zhang, B.L., Bredeloux, P., Boudesocque-Delaye, L., Yu, A., Peineau, N., Enguehard-Gueiffier, C., Ahmed, E.M., Pasqualin, C., Maupoil, V., 2020. **Aqueous Fraction from Hibiscus sabdariffa Relaxes Mesenteric Arteries of Normotensive and Hypertensive Rats through Calcium Current Reduction and Possibly Potassium Channels Modulation.** Nutrients 12, E1782. <https://doi.org/10.3390/nu12061782>

Pasqualin, C., Yu, A., Malécot, C.O., Gannier, F., Cognard, C., Godin-Ribuot, D., Morand, J., Bredeloux, P., Maupoil, V., 2018. **Structural heterogeneity of the rat pulmonary vein myocardium: consequences on intracellular calcium dynamics and arrhythmogenic potential.** Sci Rep 8, 3244. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21671-9>

Pasqualin, C., Gannier, F., Yu, A., Malécot, C.O., Bredeloux, P., Maupoil, V., 2017. **SarConfoCal: simultaneous sarcomere length and cytoplasmic calcium measurements for laser scanning confocal microscopy images.** Bioinformatics 33, 789–790. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw754>

Arthur-Ataam, J., Bideaux, P., Charrabi, A., Sicard, P., Fromy, B., Liu, K., Eddahibi, S., Pasqualin, C., Jouy, N., Richard, S., Virsolvy, A., 2019. **Dietary Supplementation with Silicon-Enriched Spirulina Improves Arterial Remodeling and Function in Hypertensive Rats.** Nutrients 11, 2574. <https://doi.org/10.3390/nu11112574>

8. Principaux contrats de recherche obtenus par l'encadrant (et l'éventuel coencadrant) au cours des 4 dernières années :

Contrat de recherche avec le laboratoire Astra Zeneca (Goteborg) : 2018-2021.

9. Remarques éventuelles à signaler :

La 1^{re} publication citée entre dans le cadre du travail de thèse de Benjamin Maïer, encadrée par Jean-Michel Halimi.