



Journée Recherche filière G2M académique

25 septembre 2020

La bikunine : un biomarqueur des linkéropathies et des troubles de l'homéostasie de l'appareil de Golgi

Walid Haouari

Arnaud Bruneel, François Foulquier, Christian Poüs, Valérie Cormier-Daire

INSERM UMR1193, Université Paris-Sud, Faculté de Pharmacie Châtenay Malabry

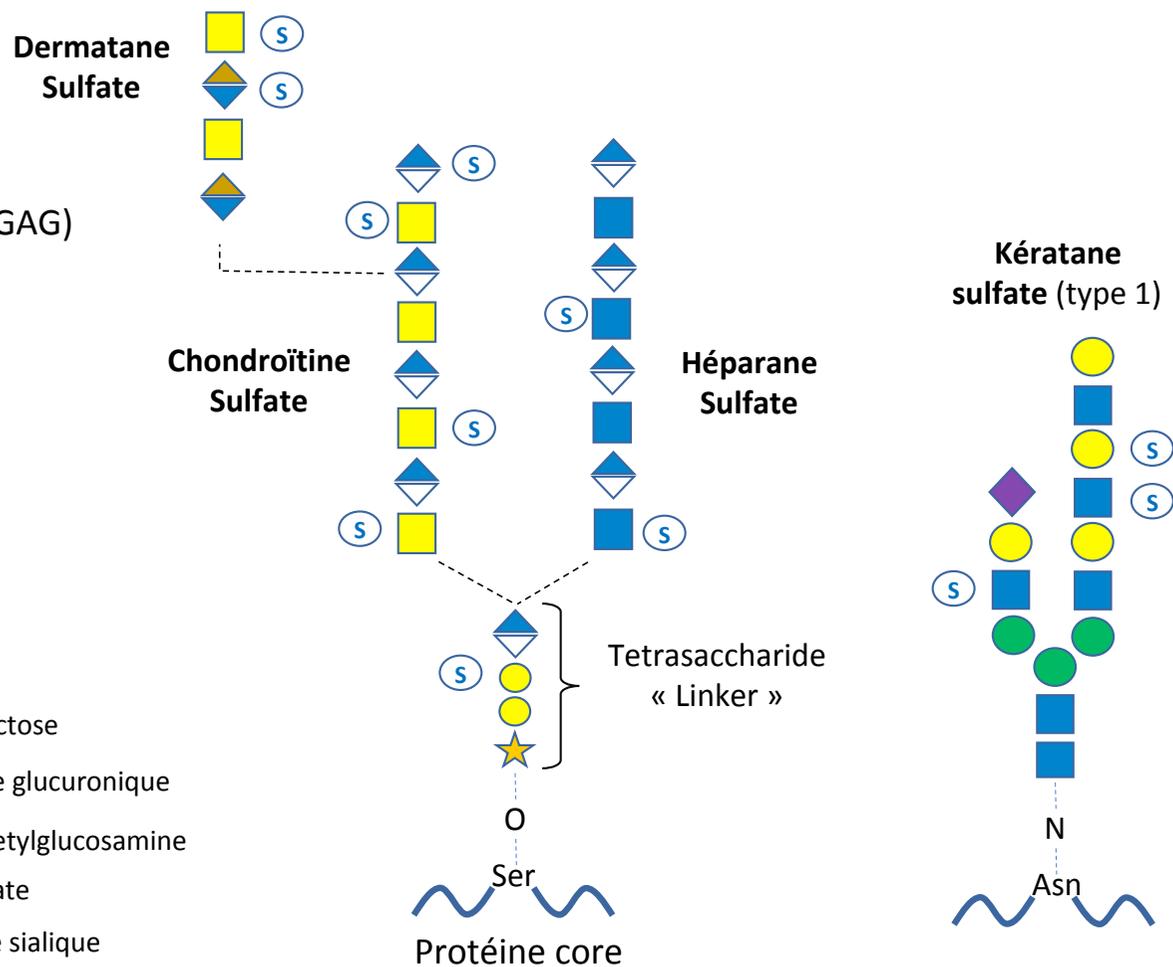
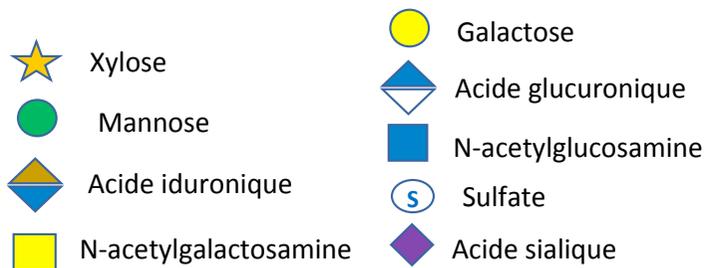
AP-HP, Biochimie Métabolique et cellulaire, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

CNRS UMR 8576 – UGSF, Université de Lille

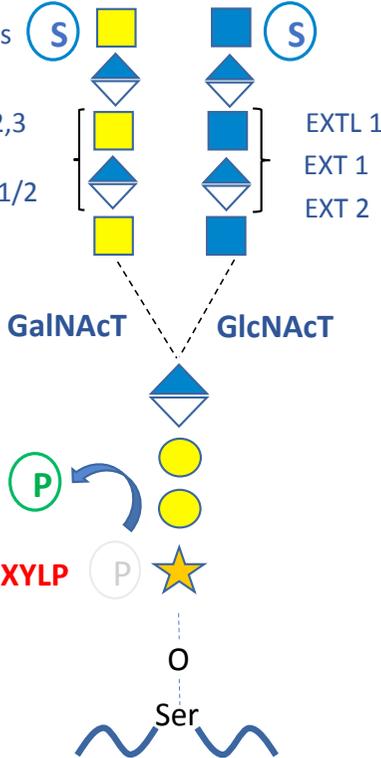
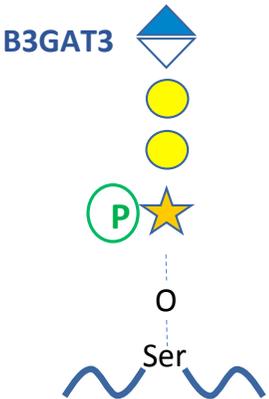
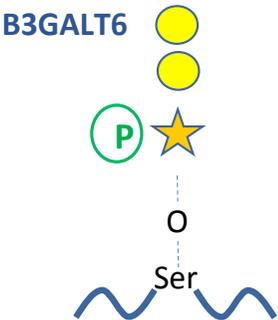
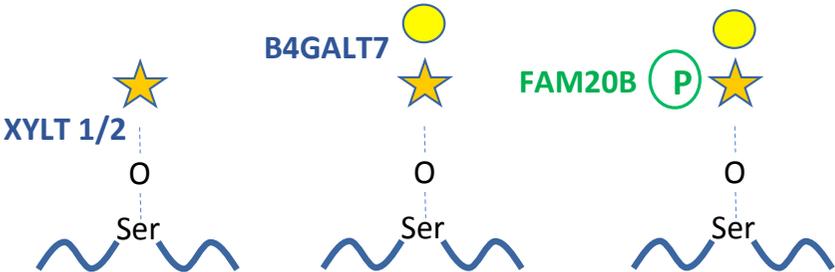
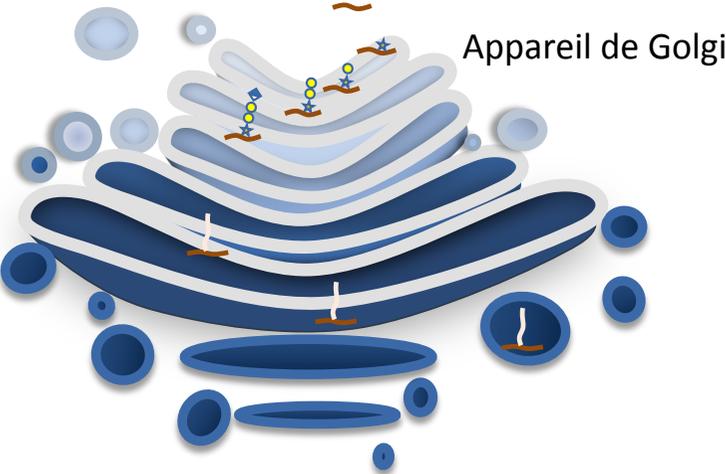
INSERM 1163 Institut Imagine, Paris, France

Les protéoglycane

- PG = Protéine + Chaîne glycosaminoglycane (GAG)
- Propriétés hydrophiles et viscoélastiques des matrices extracellulaires
- Os, articulations, cartilage et peau
- Réponse immunitaire
- Prolifération cellulaire



Biosynthèse des protéoglycanes



- ★ Xylose
- Galactose
- ◆ Glucuronic acid
- N-Acetylgalactosamine
- N-Acetylglucosamine
- (P) Phosphate
- (S) Sulfate

Les linkéropathies: anomalies congénitales de la synthèse des protéoglycanes

Défaut de formation du « linker »

- Mutations dans les gènes codant pour les enzymes de la synthèse ou impliqués dans les modifications du tetrasaccharide initial
- Altération de la synthèse des PGs

Symptomatologie ostéoarticulaire

- Dysplasies squelettiques
- Retard de croissance/ Nanisme
- Fractures multiples
- Luxations et hyperlaxité articulaire

Maladies rares, dépistage difficile

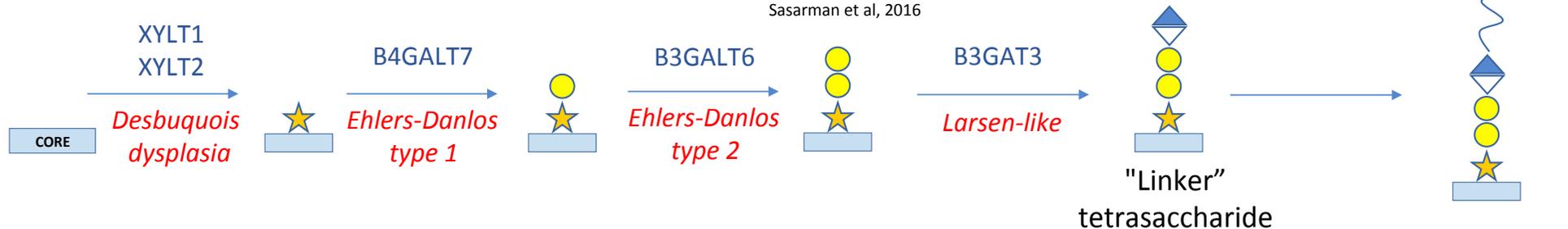
- ~ 200 cas publiés



Sasarman et al, 2016

Autres symptômes

- Déficiences intellectuelles
- Anomalies cutanées, oculaires, cardiopathies, surdité



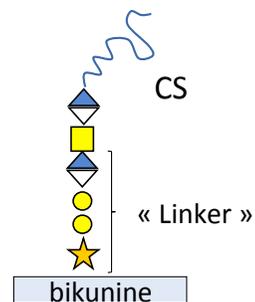
Besoin de biomarqueurs pour le dépistage des linkéropathies

Dépistage difficile

- Quantification des GAG à partir de fibroblastes de patients (HPLC, spectrométrie de masse, mesures d'incorporation de ^{35}S , IHC)
- Mesures d'activité enzymatique et/ou de quantités d'ARNm
- Panel de gènes, WES / WGS

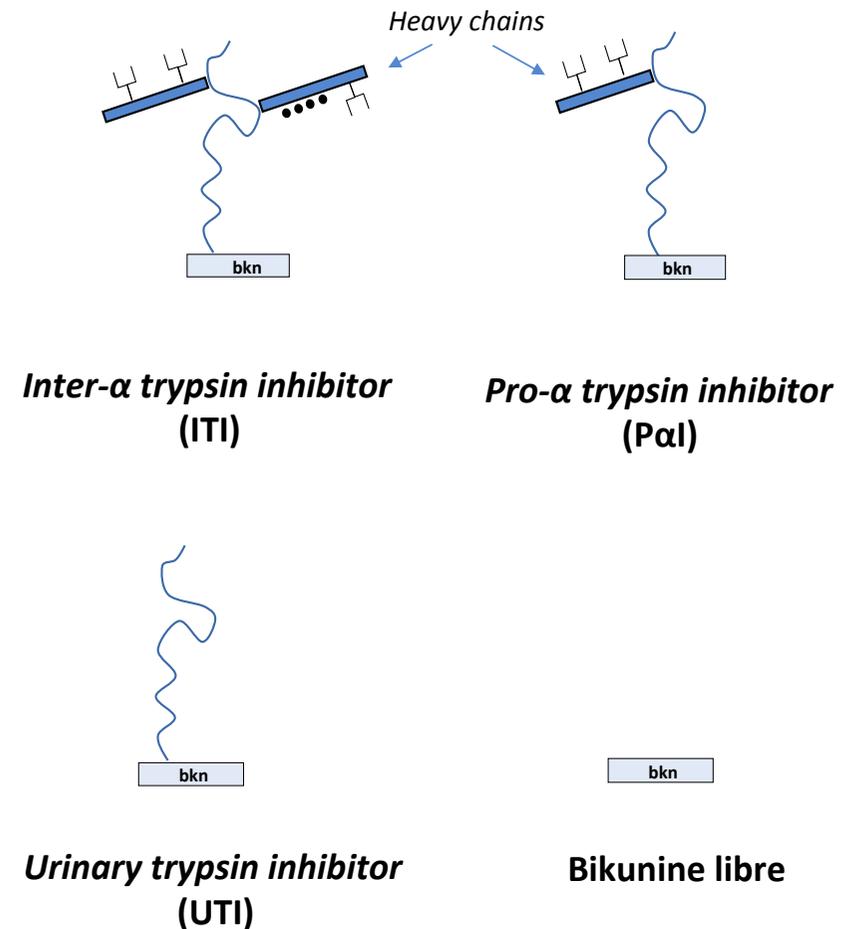
Manque de biomarqueurs

La bikunine sérique



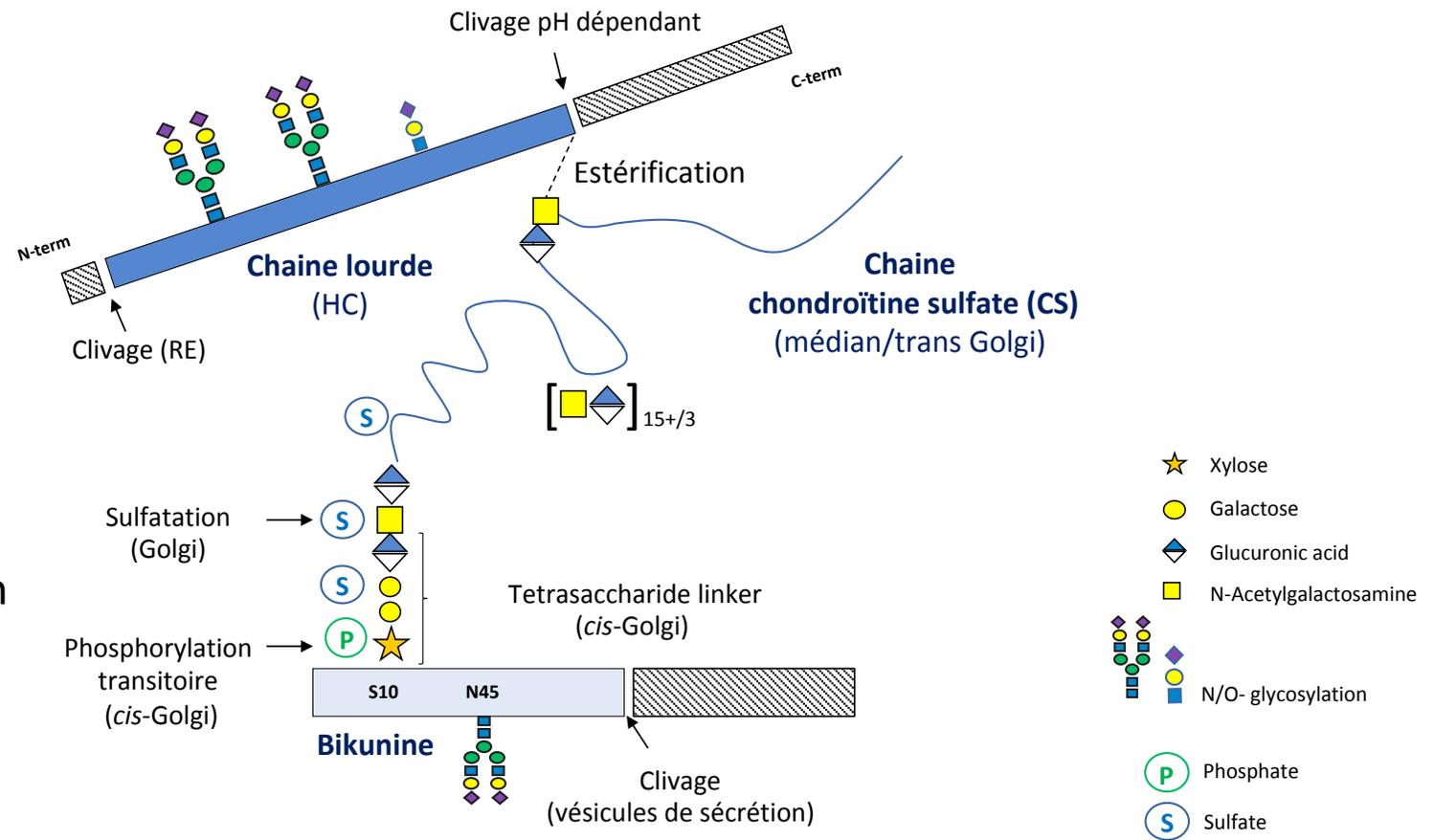
Les isoformes de la bikunine, des protéoglycanes circulants

- Synthèse hépatique
- Concentration sanguine : 0,1 à 0,5 g/L
- 4 isoformes sériques
- Stabilisation des matrices extracellulaires
- Inhibition de protéases inflammatoires

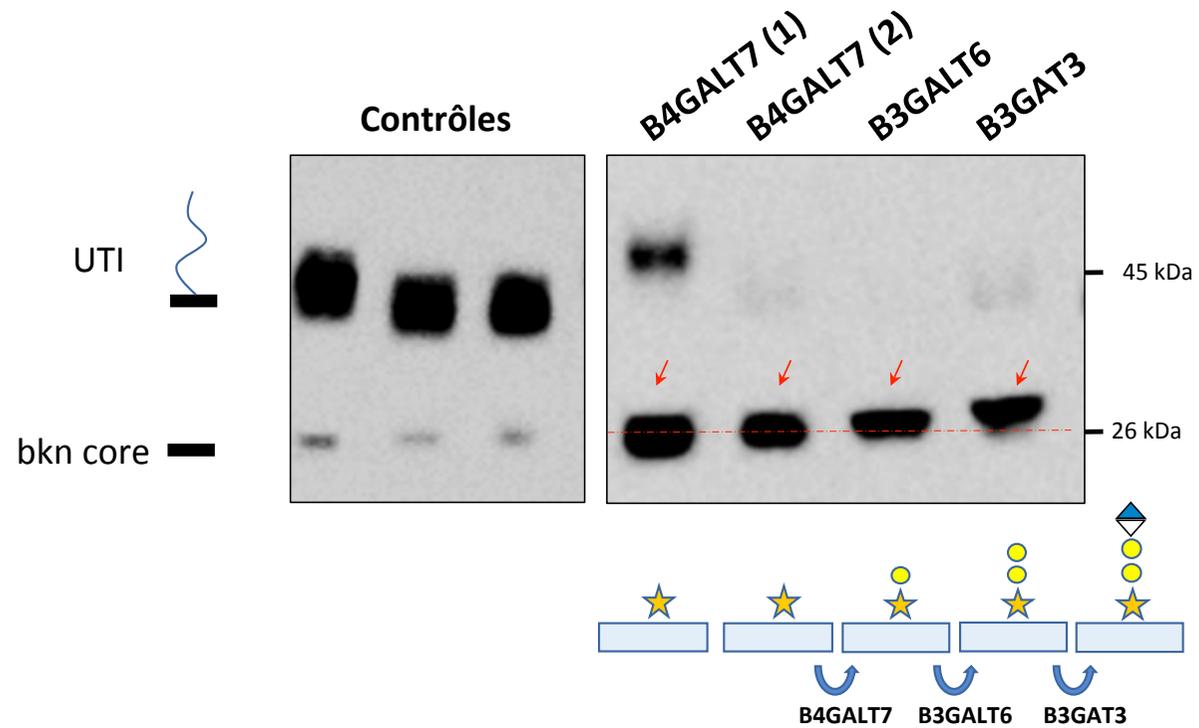


Nombreuses modifications post-traductionnelles

- O-xylosylation
- Chaîne GAG (CS)
- Estérification
- Phosphorylation
- Sulfatation
- N- et O-glycosylation
- Clivages

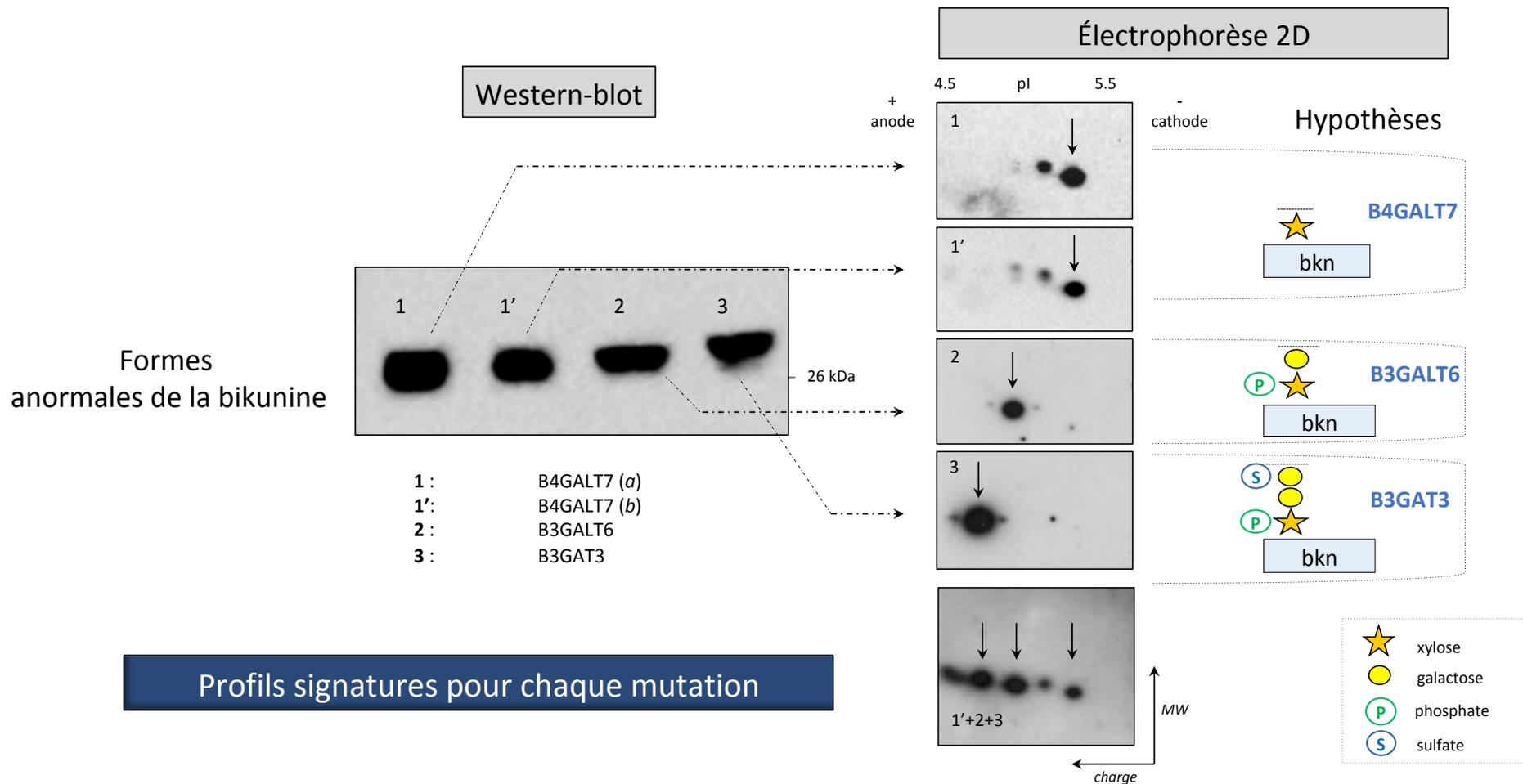


Formes légères anormales de la bikunine dans les linkéropathies

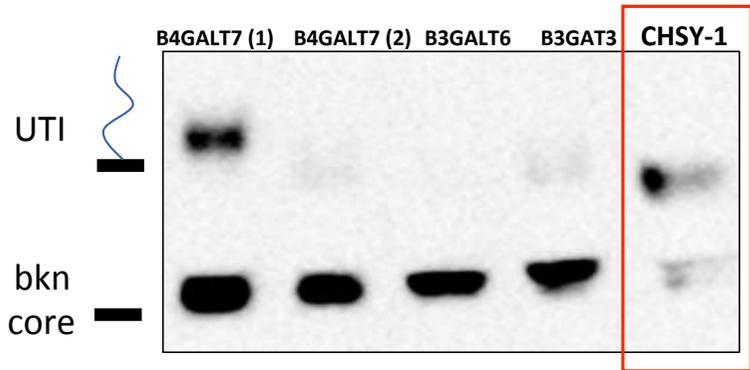


Formes anormales de masse moléculaire croissante

Caractérisation des formes anormales de la bikunine dans les linkéropathies (1)

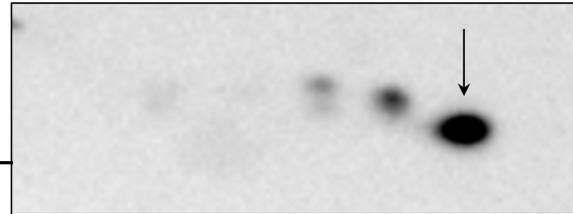


Chondroïtine synthase-1 (CHSY-1)

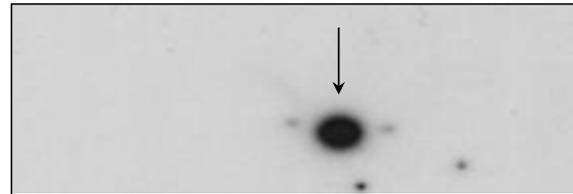


B4GALT7

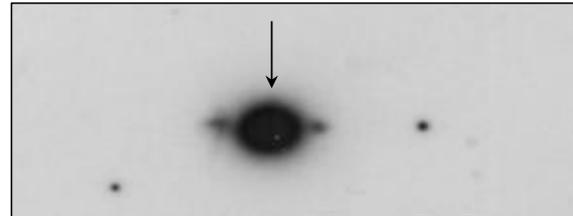
26 kDa



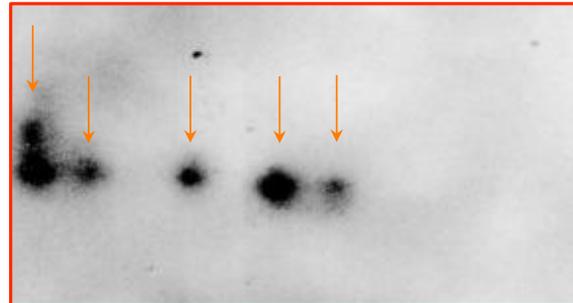
B3GALT6



B3GAT3



CHSY-1



Hypothèses



bkn

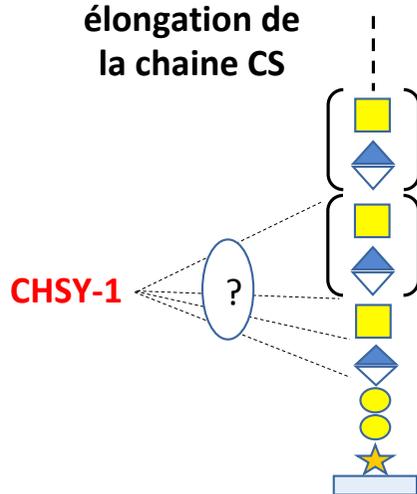


bkn



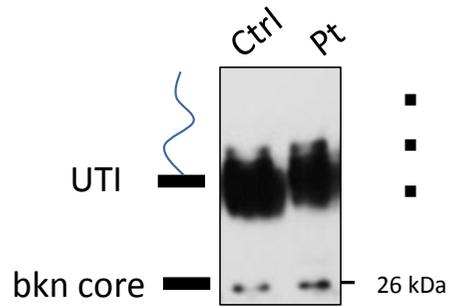
bkn

élongation de la chaîne CS

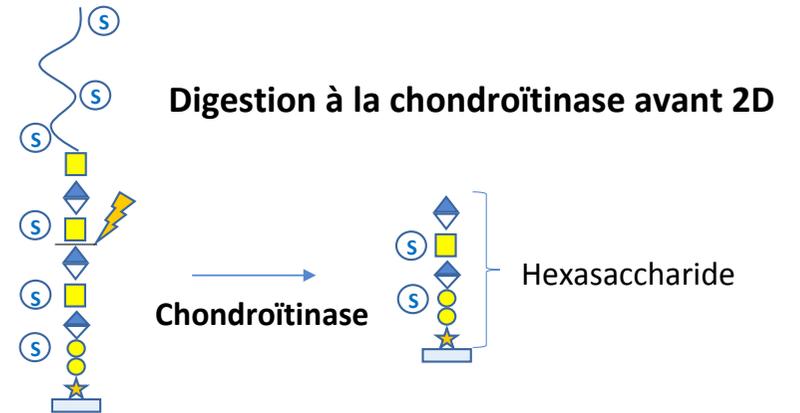


Profil hétérogène

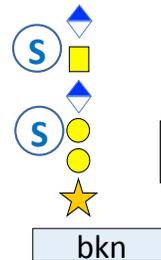
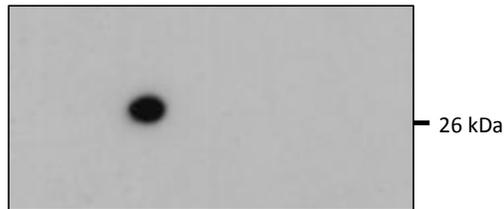
Stratégie pour détecter des défauts de sulfatation



- Mutation transporteur de sulfate
- Profil normal en Western blot 1D
- Chaîne CS trop chargée pour une 2D

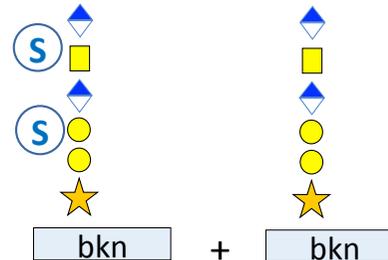
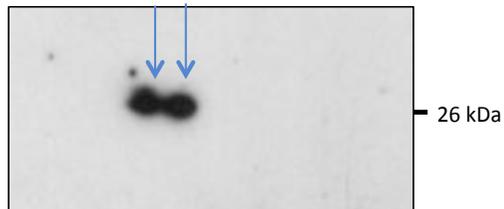


Sérum contrôle
+ chondroïtinase



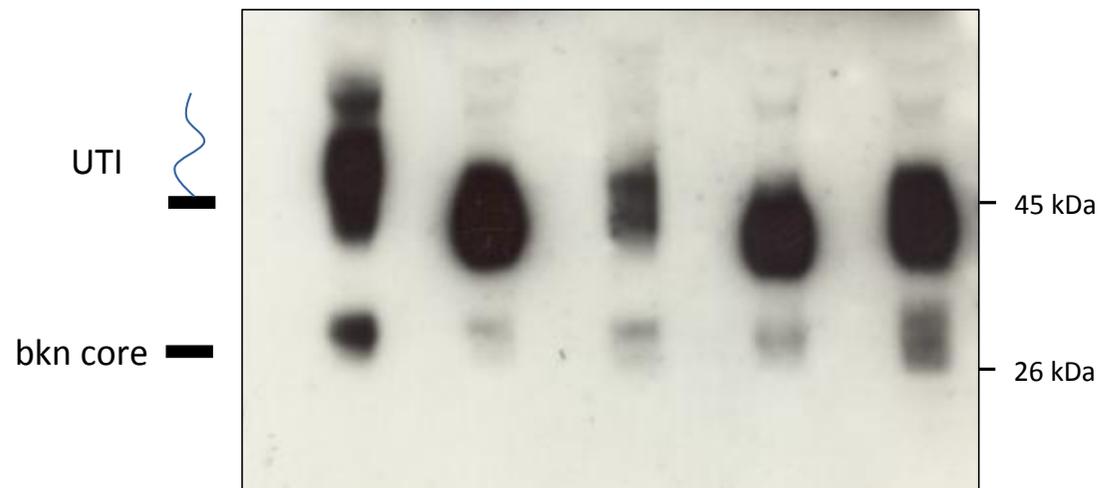
Sulfatation homogène

Sérum du patient
+ chondroïtinase



Présence de formes hypo-sulfatées

Analyses à partir de papier Guthrie



Les désordres congénitaux de la glycosylation (CDG)

Environ 150 gènes impliqués

- Glycosyltransférases, glycosidases, transporteurs sucres
- Régulateurs de l'homéostasie intracellulaire (Golgi +++)

Maladies rares et sous-diagnostiquées

- 1 à 2 cas / 100.000 naissances
- ± 2500 cas en Europe (2016)

Variabilité clinique

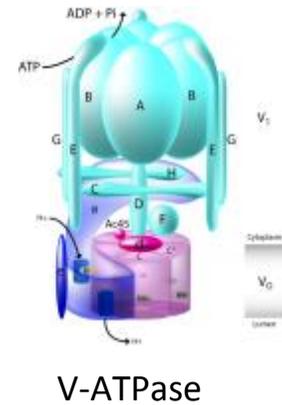
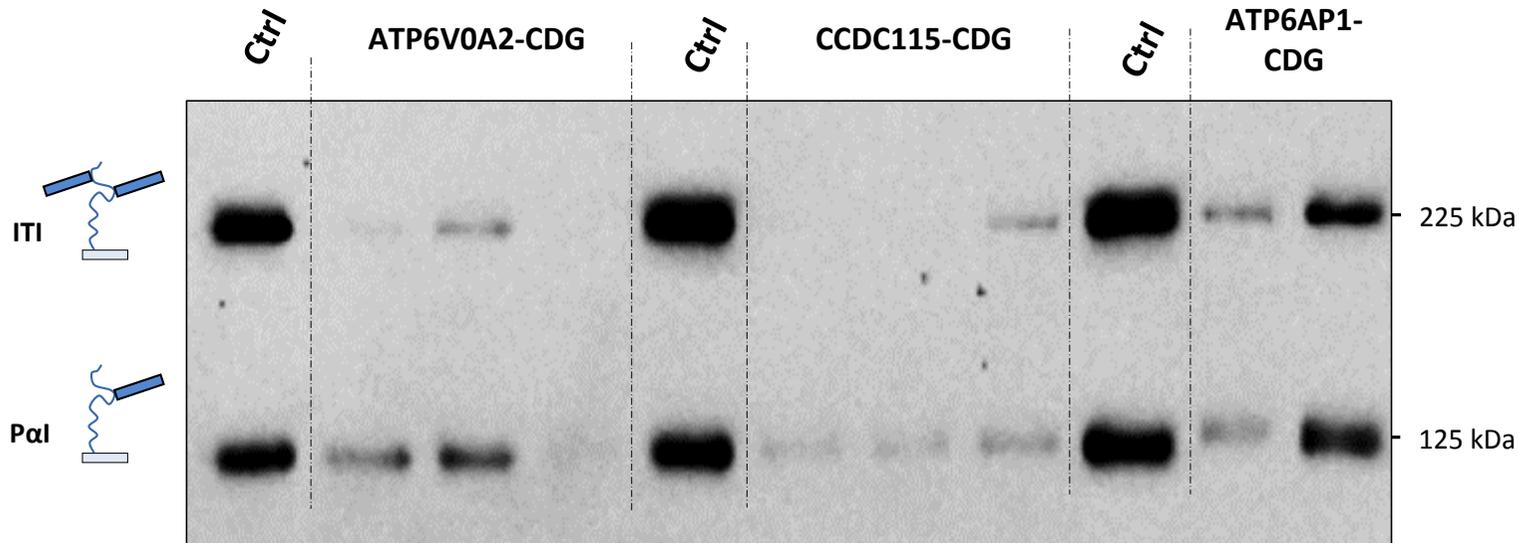
- Atteintes multiviscérales (cerveau, foie, os...)

Dépistage biochimique

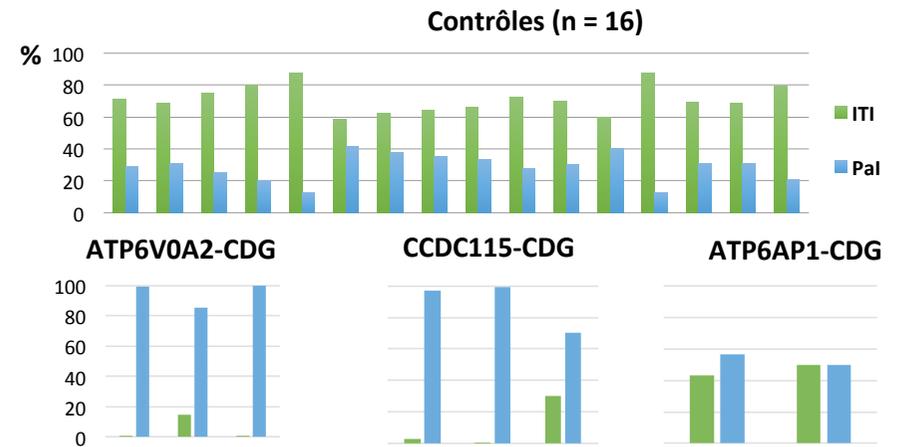
- Transferrine : N-glycosylation
- apoC-III : O-glycosylation
- Spectrométrie de masse, séquençage

La bikunine,
un biomarqueur additionnel ?

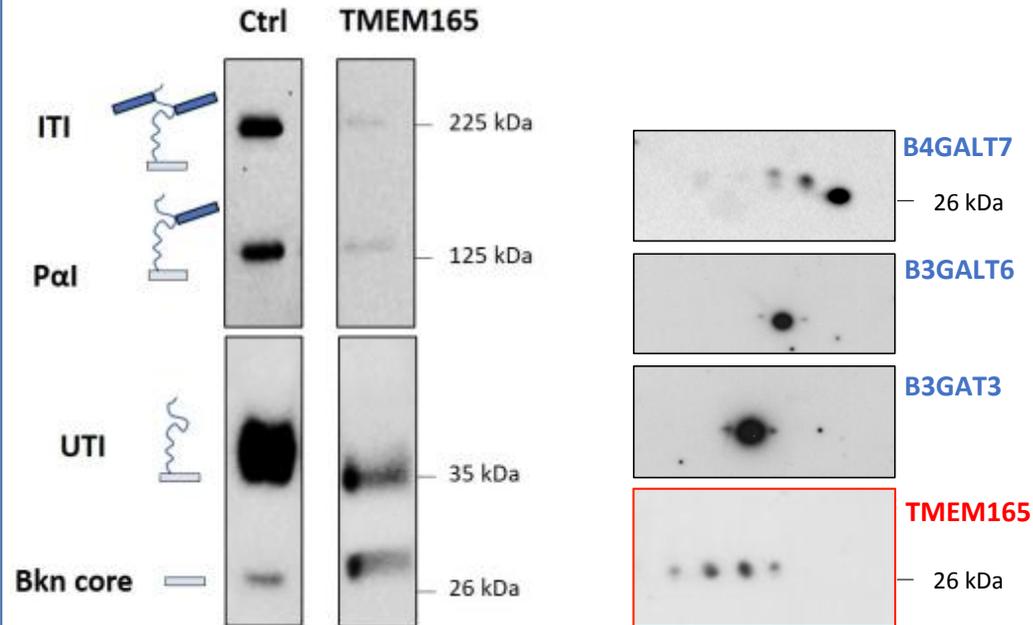
Altération des formes lourdes dans les CDG avec troubles du pH golgien



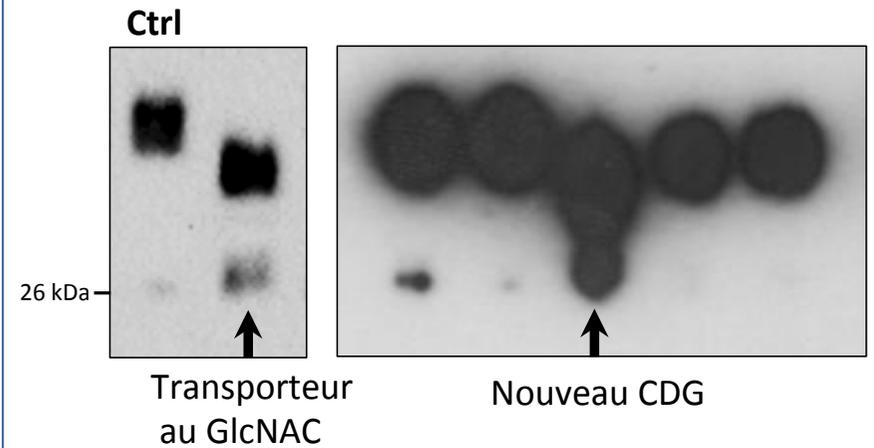
- Diminution des quantités
- Inversion du ratio ITI/PaI



Autres profils anormaux de la bikunine



- TMEM165 = Transporteur de Mn^{2+} dans le Golgi
- Manifestations ostéoarticulaires,
- Troubles de la N- & O- glycosylation
- Altération des 4 isoformes de la Bkn et profil 2D anormal



- Autres CDG avec anomalies de la N- & O- glycosylation
- Trouble de l'homéostasie du Golgi
- Manifestations ostéoarticulaires
- Altération des formes légères de la bikunine

Conclusion

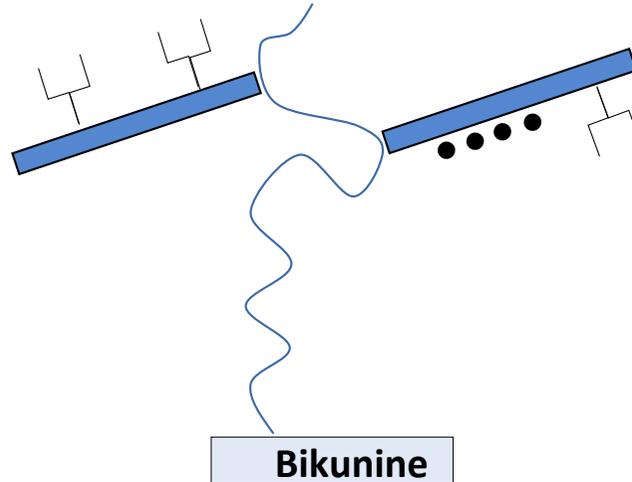
Un biomarqueur polyvalent

Troubles de la synthèse des protéoglycanes

Troubles de l'homéostasie de l'appareil de Golgi

Désordres congénitaux de la glycosylation

Sérum/Plasma/Guthrie



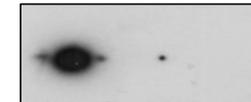
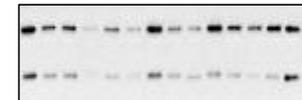
Bikunine



Simplicité d'analyse

Western-blot

Électrophorèse 2D



Remerciements

Coordinateurs

Arnaud BRUNEEL
Christian POÛS
Valérie CORMIER-DAIRE



université
PARIS-SACLAY



INSERM U1193

“Mécanismes cellulaires et moléculaires de l’adaptation au stress et cancérogenèse”

Collaborateurs

François FOULQUIER



Antoine PILON
Anita BAILLET
Béatrice BENOIT
Daniel PERDIZ
Najet CHAREF
Sara MERABET
Isabelle CANTALOUBE
Ameetha RATIER
Christian POÛS

Joëlle SALAMEH
Samra OUARAS
Sahra MUHAMMED
Charles ROSEAU
Pierre PRADA
Rizk BENNANI