

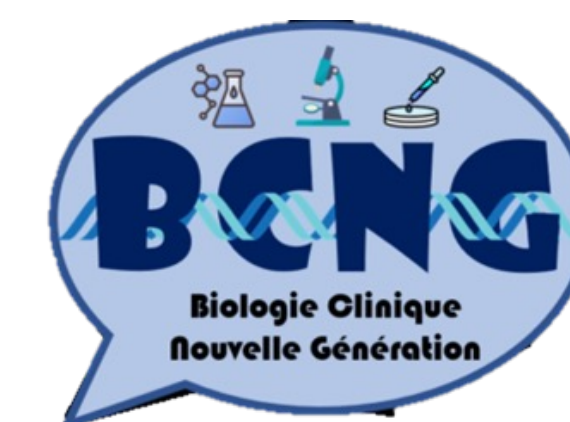
# BIO MED 2024

LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE LA BIOLOGIE MÉDICALE

JEUDI 23 &  
VENDREDI 24  
MAI 2024

Utilisation de la métabolomique ciblée pour élucider  
l'impact biologique du protoxyde d'azote

Laura Plasse  
23 mai 2024



# Introduction

Protoxyde d'azote ( $N_2O$ ) = Problème majeur de santé publique

Un gaz utilisé dans de nombreux domaines



MEOPA



Comburant en  
aérospatial



Alimentaire :  
siphon à crème  
chantilly

# Introduction

Protoxyde d'azote ( $N_2O$ ) = Problème majeur de santé publique

Un gaz utilisé dans de nombreux domaines



MEOPA



Comburant en  
aérospatial



Alimentaire :  
siphon à crème  
chantilly

# Introduction

Protoxyde d'azote ( $N_2O$ ) = Problème majeur de santé publique

Un gaz utilisé dans de nombreux domaines



MEOPA



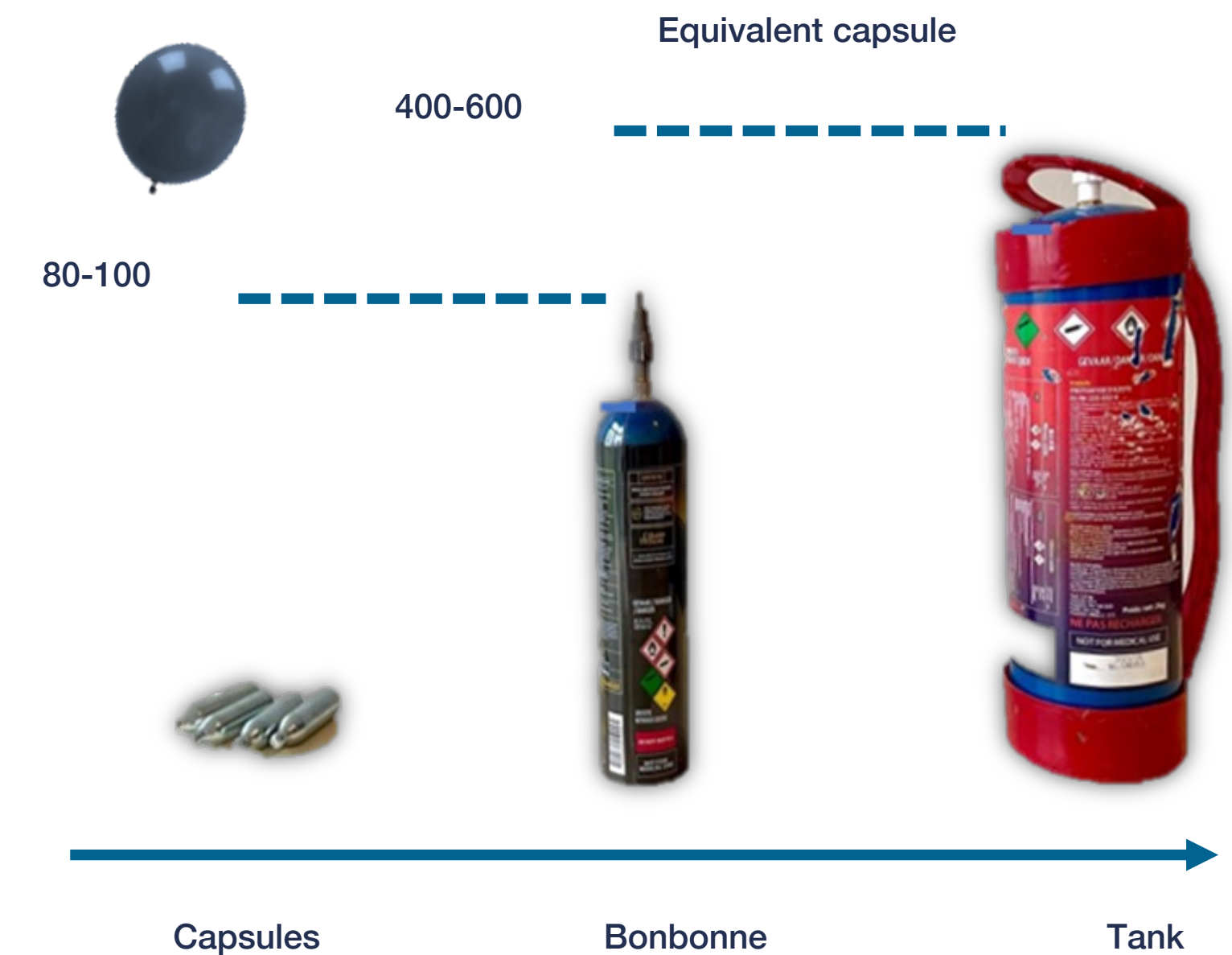
Comburant en aérospatial

Usage détourné



Alimentaire :  
siphon à crème  
chantilly

Une consommation de plus en plus massive



# Introduction

Un marketing agressif pour attirer les jeunes consommateurs

Des packaging à l'effigie de jeux vidéos



# Introduction

Un marketing agressif pour attirer les jeunes consommateurs

Des packaging à l'effigie de jeux vidéos



Des goodies et produits dérivés



# Introduction

Un marketing agressif pour attirer les jeunes consommateurs

Des packaging à l'effigie de jeux vidéos



Des tanks aromatisés

Essayez nos autres saveurs



Des goodies et produits dérivés



# Introduction

Hallucinations



Toxicité aigue

Toxicité chronique



# Introduction

Hallucinations



Toxicité aiguë

Toxicité chronique



Accident de la route

# Introduction

Hallucinations



Brûlures



Toxicité aiguë

Toxicité chronique



Accident de la route

# Introduction

Hallucinations



Brûlures



Toxicité aiguë

Toxicité chronique



Accident de la route



Myélonéuropathie

# Introduction

Hallucinations



Brûlures



Accidents thrombo-emboliques



**Toxicité aiguë**

**Toxicité chronique**



Accident de la route

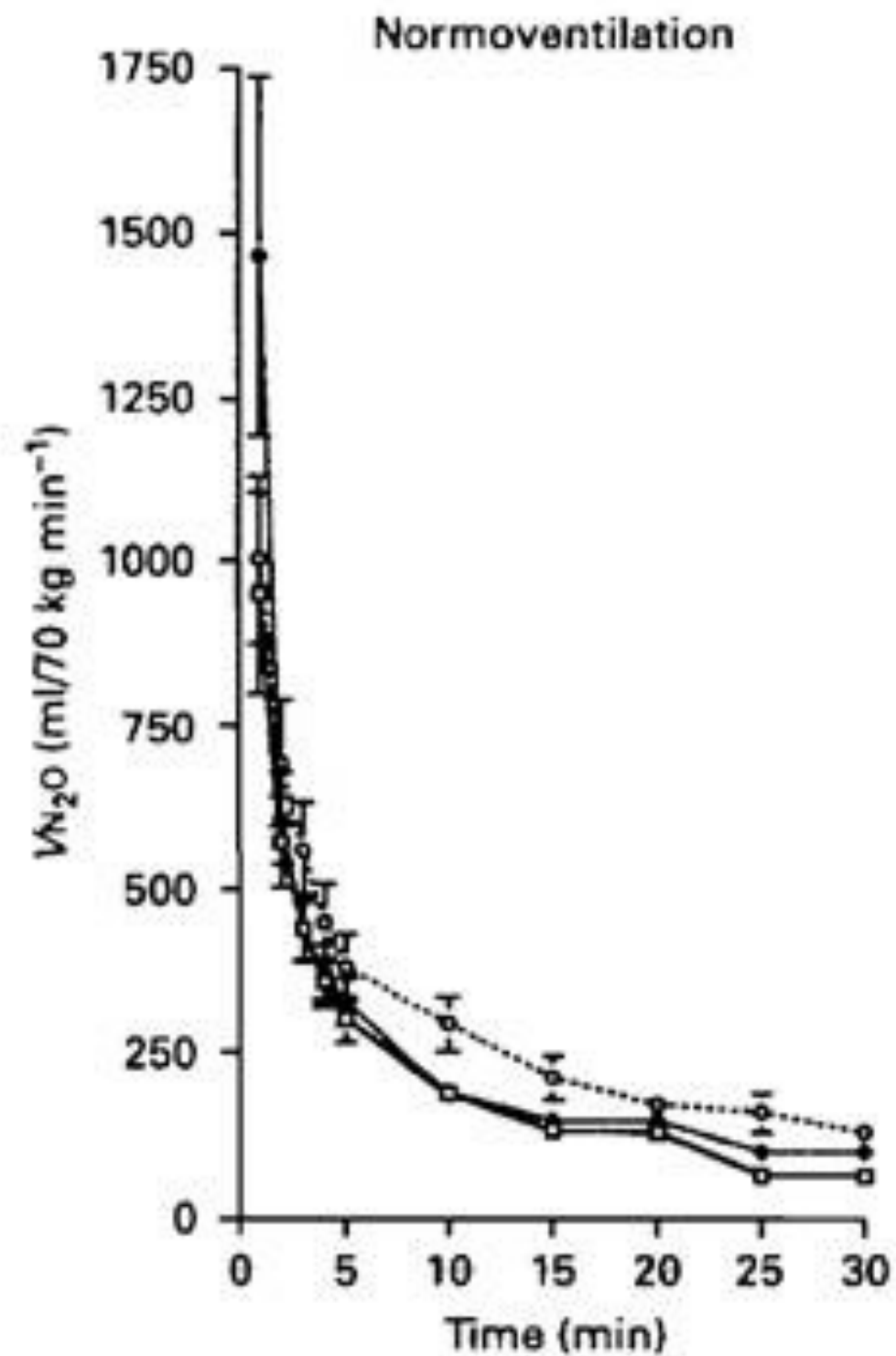


Myélonéuropathie

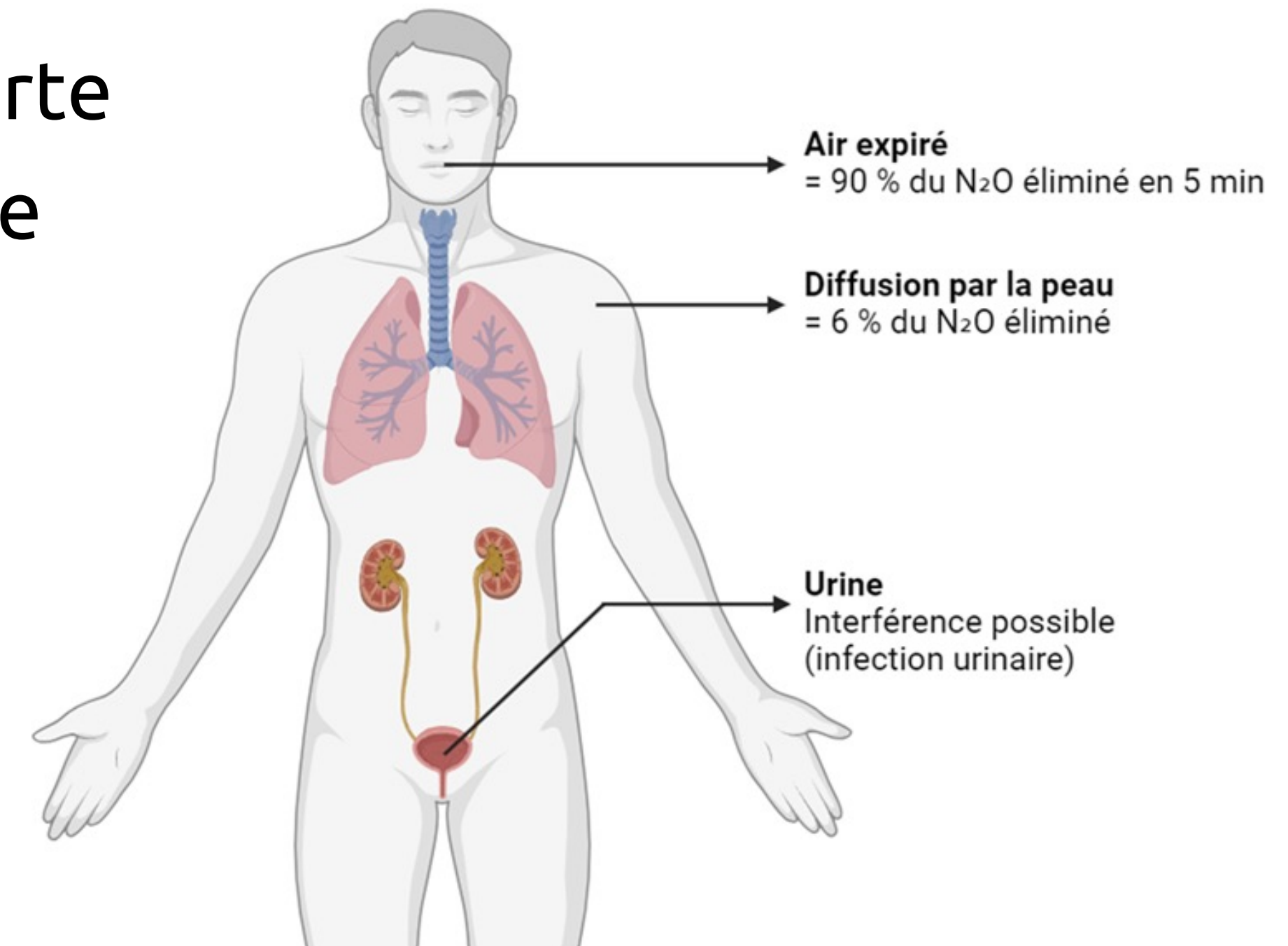
## Problématique

Demi-vie d'élimination du  $N_2O$  : très courte  
=> dosage direct non réalisé en routine

Utilisation de marqueurs indirects  
liés à l'impact métabolique du  $N_2O$

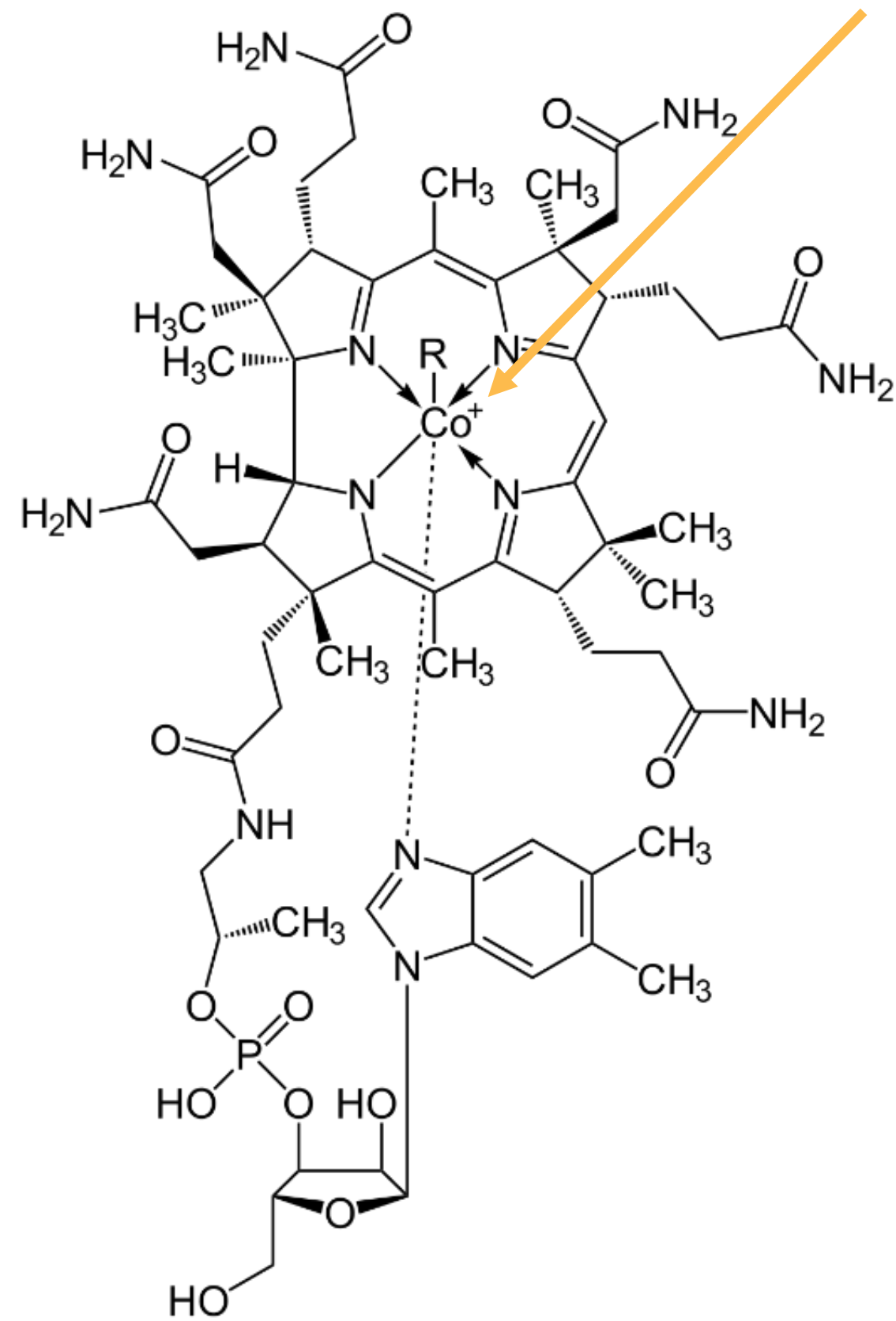


Einarsson S et al, Br J Anaesth. 1993

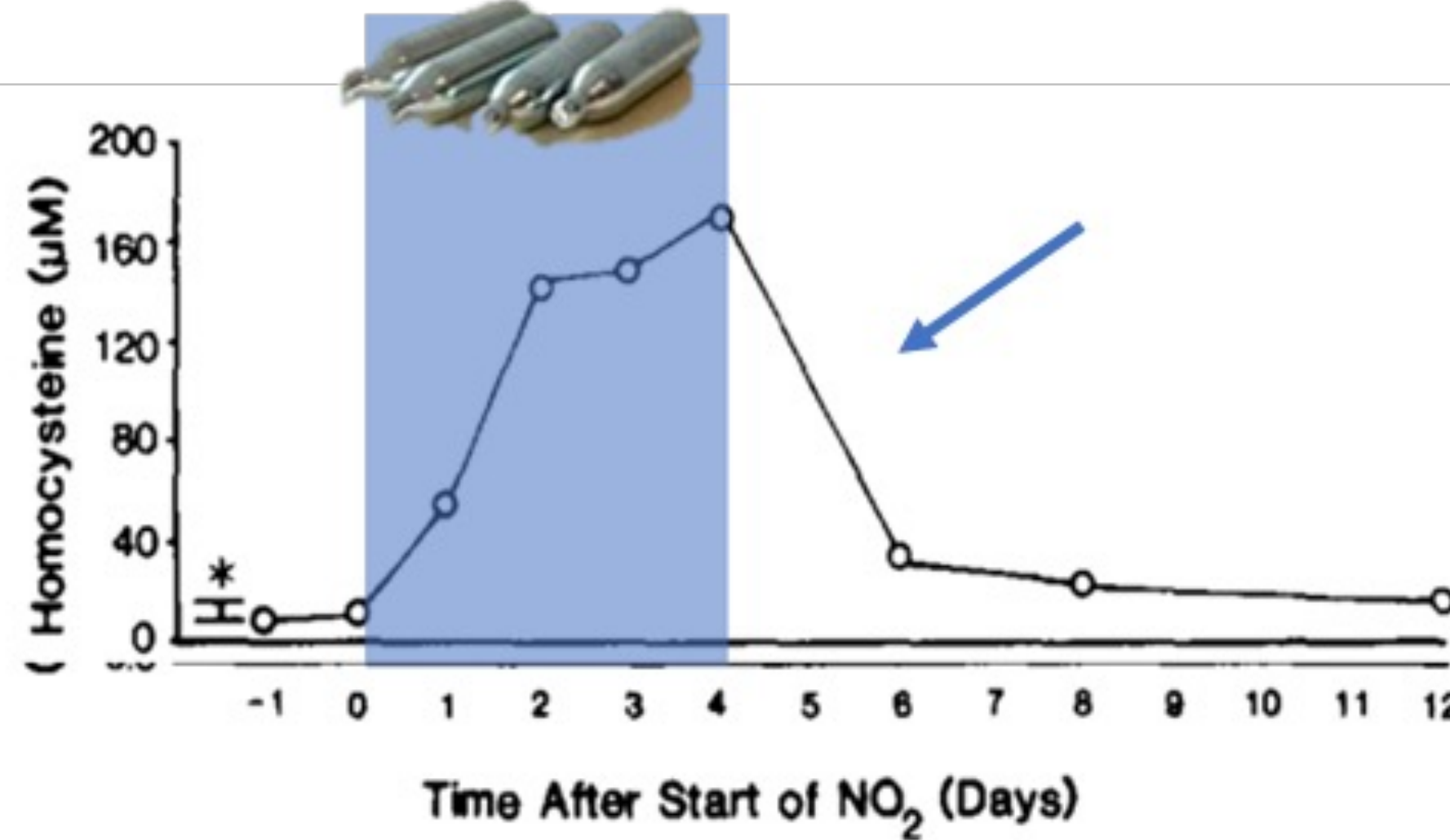
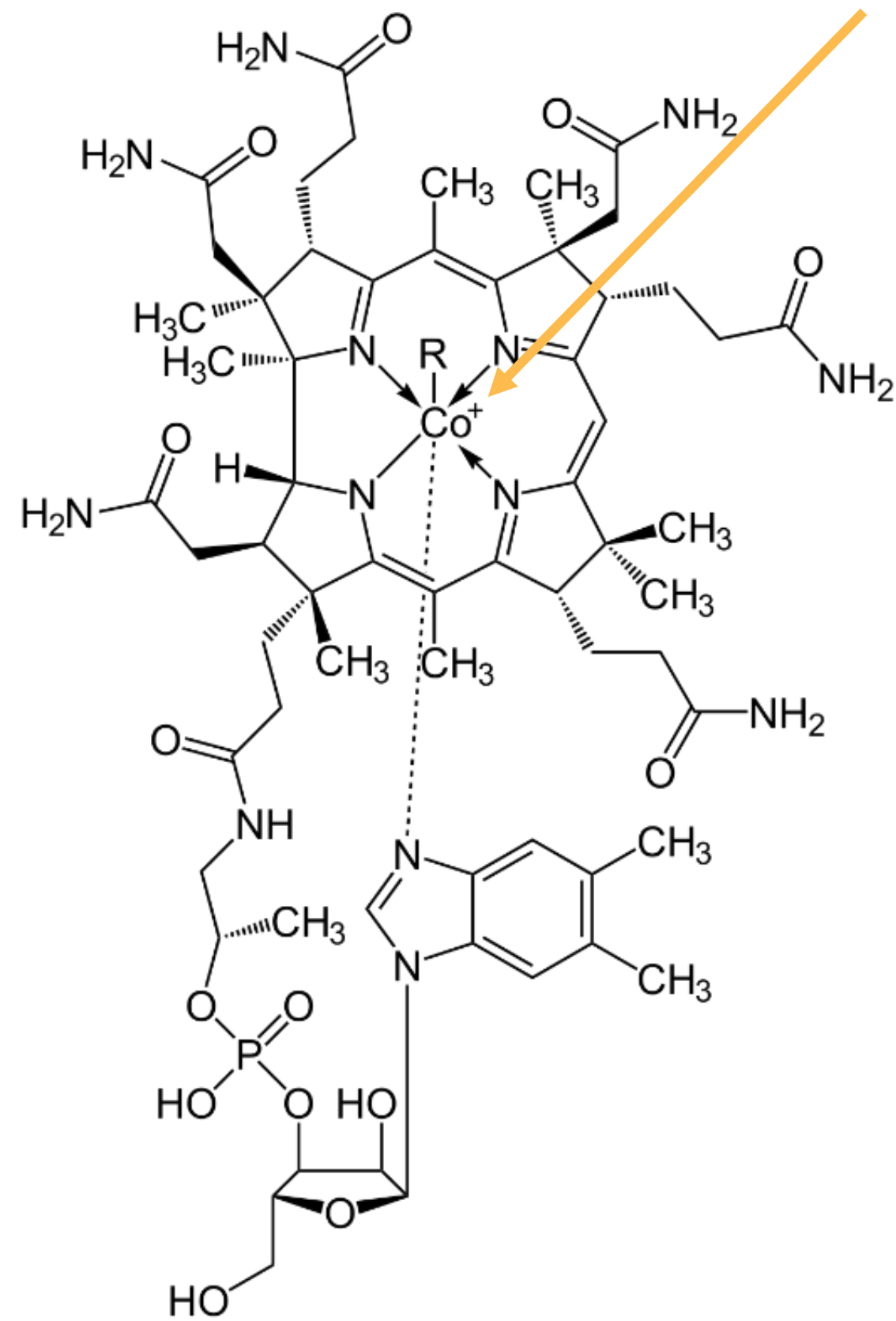


Voies d'élimination du  $N_2O$

## Mécanisme d'action toxique : Oxydation de la vitamine B12 -> inactivation

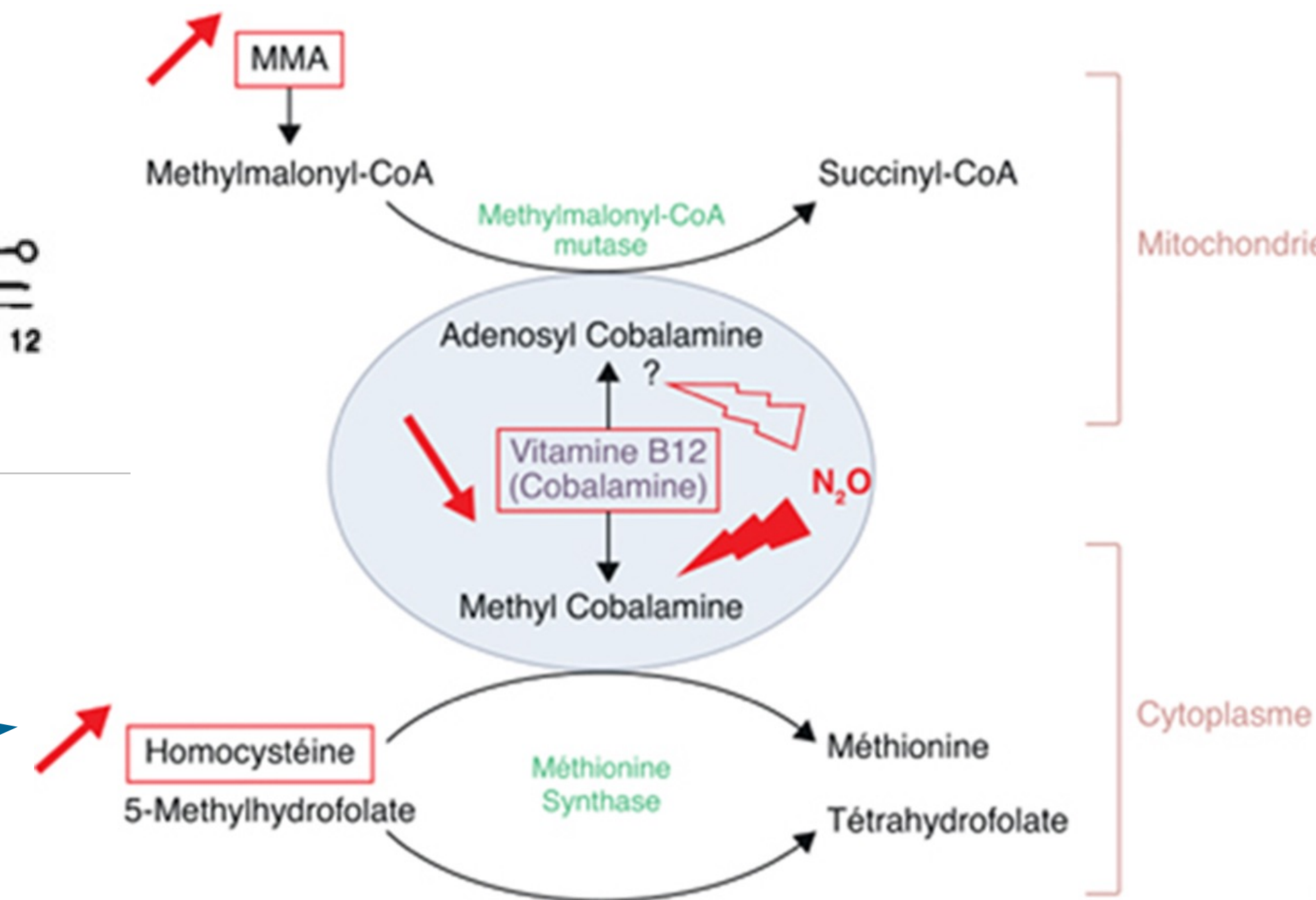


## Mécanisme d'action toxique : Oxydation de la vitamine B12 -> inactivation



Frontiera et al, 1994

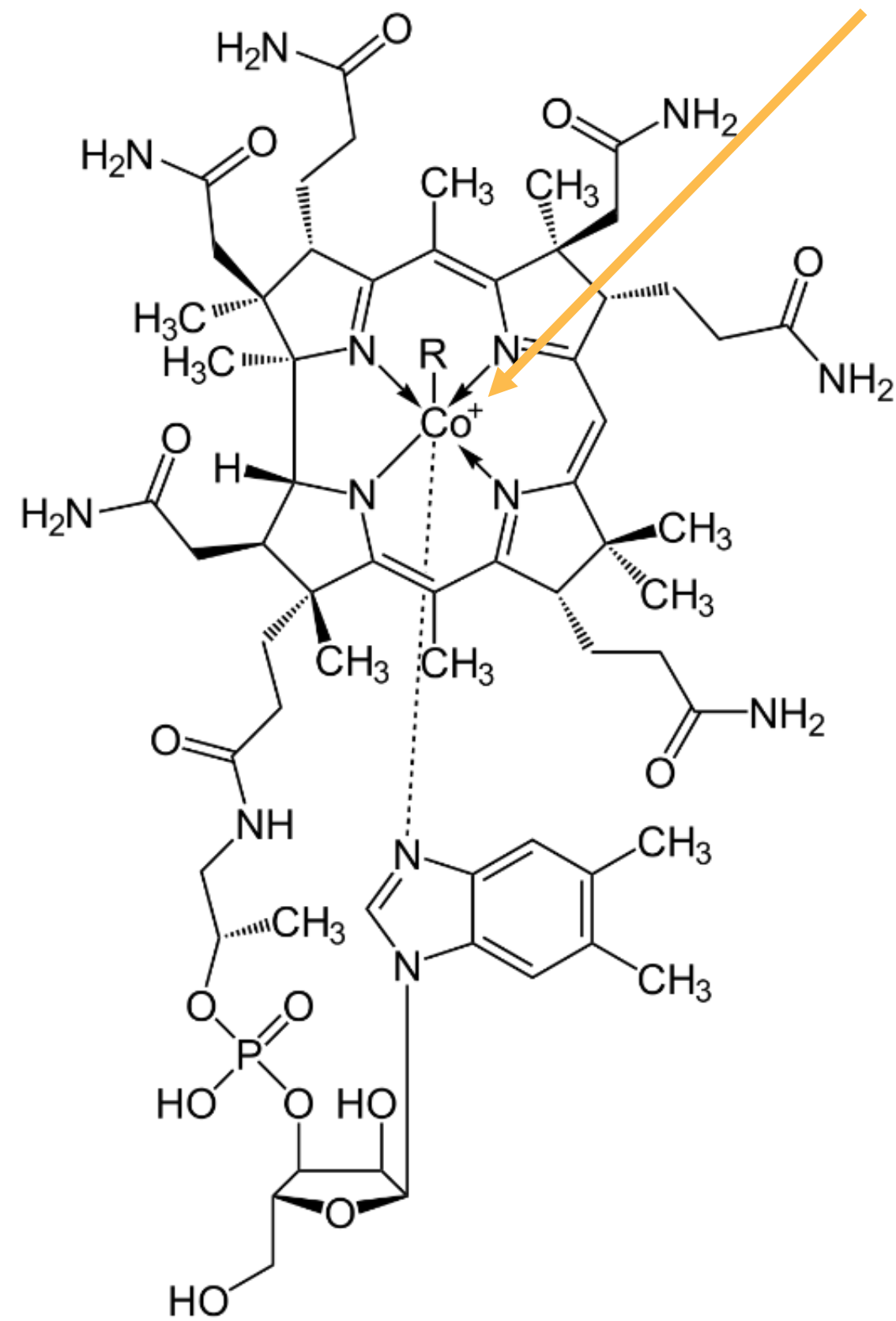
**Marqueur de consommation récente**  
MAIS augmente en cas de carence en vitamines B6, B9, B12 et d'insuffisance rénale



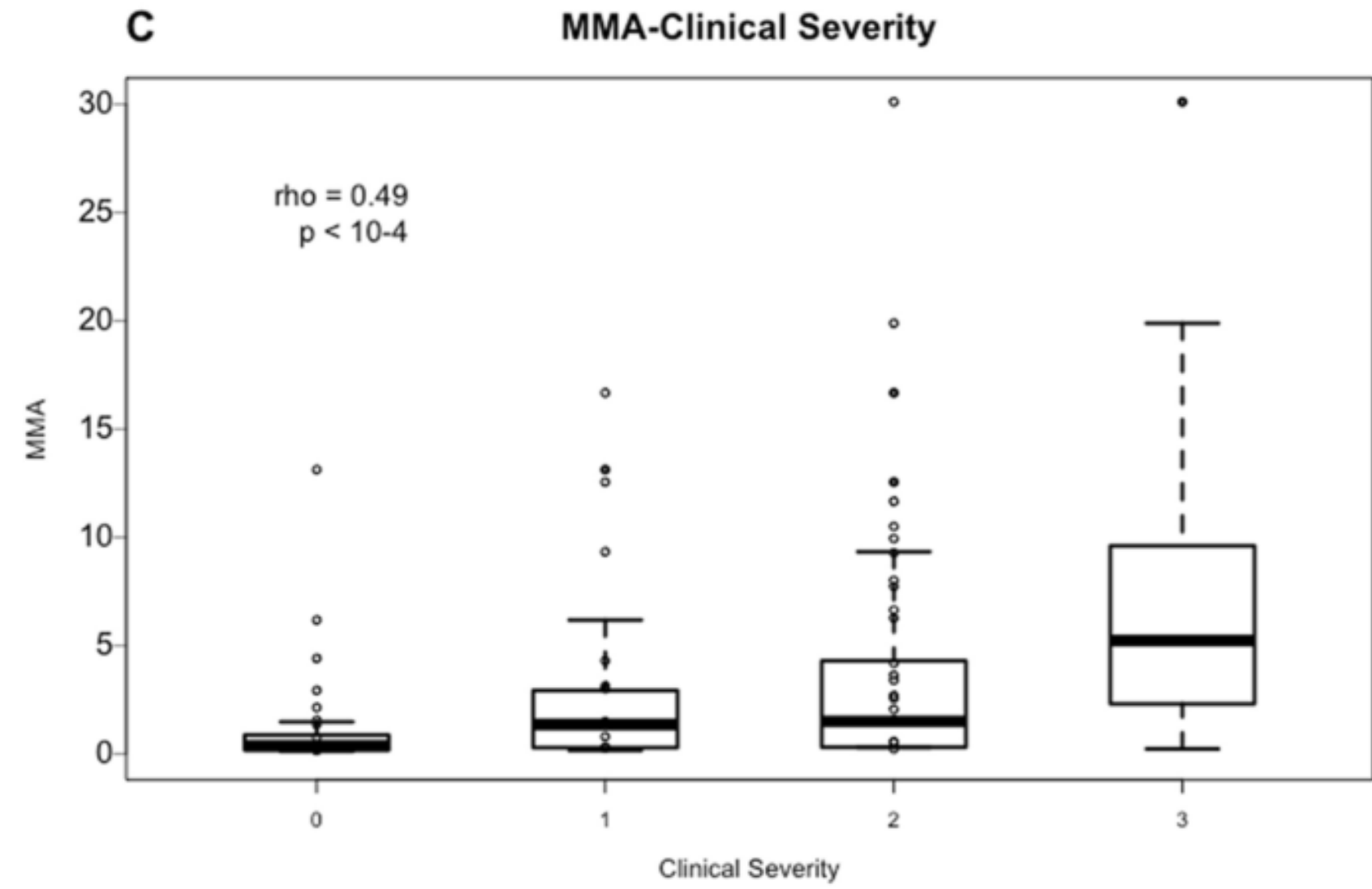
Grzych et al, Annales de Biologie Clinique 2022

# Introduction

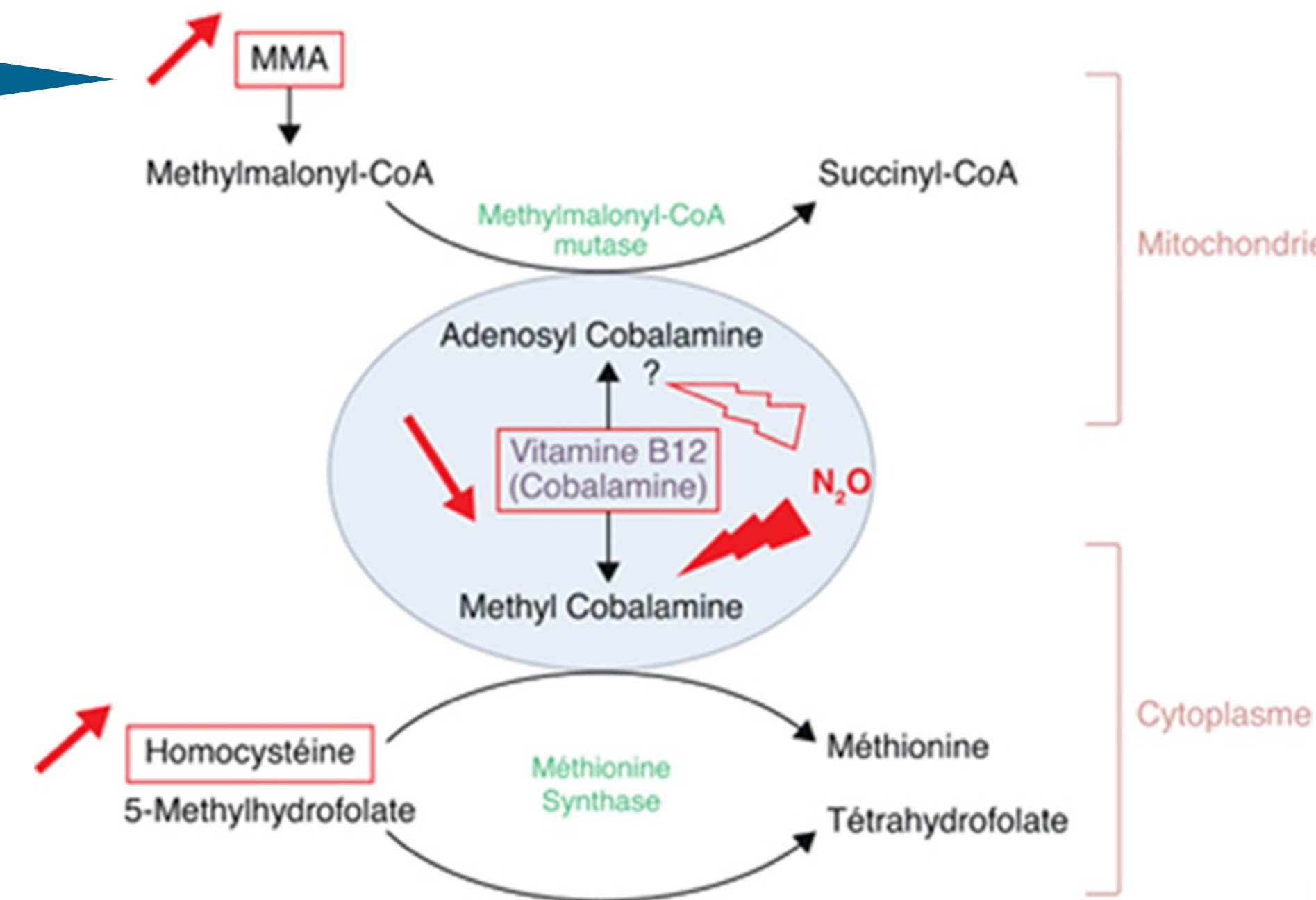
**Mécanisme d'action toxique :**  
Oxydation de la vitamine B12 -> inactivation



**Marqueur de gravité clinique**  
MAIS augmente en cas de carence en vitamine B12



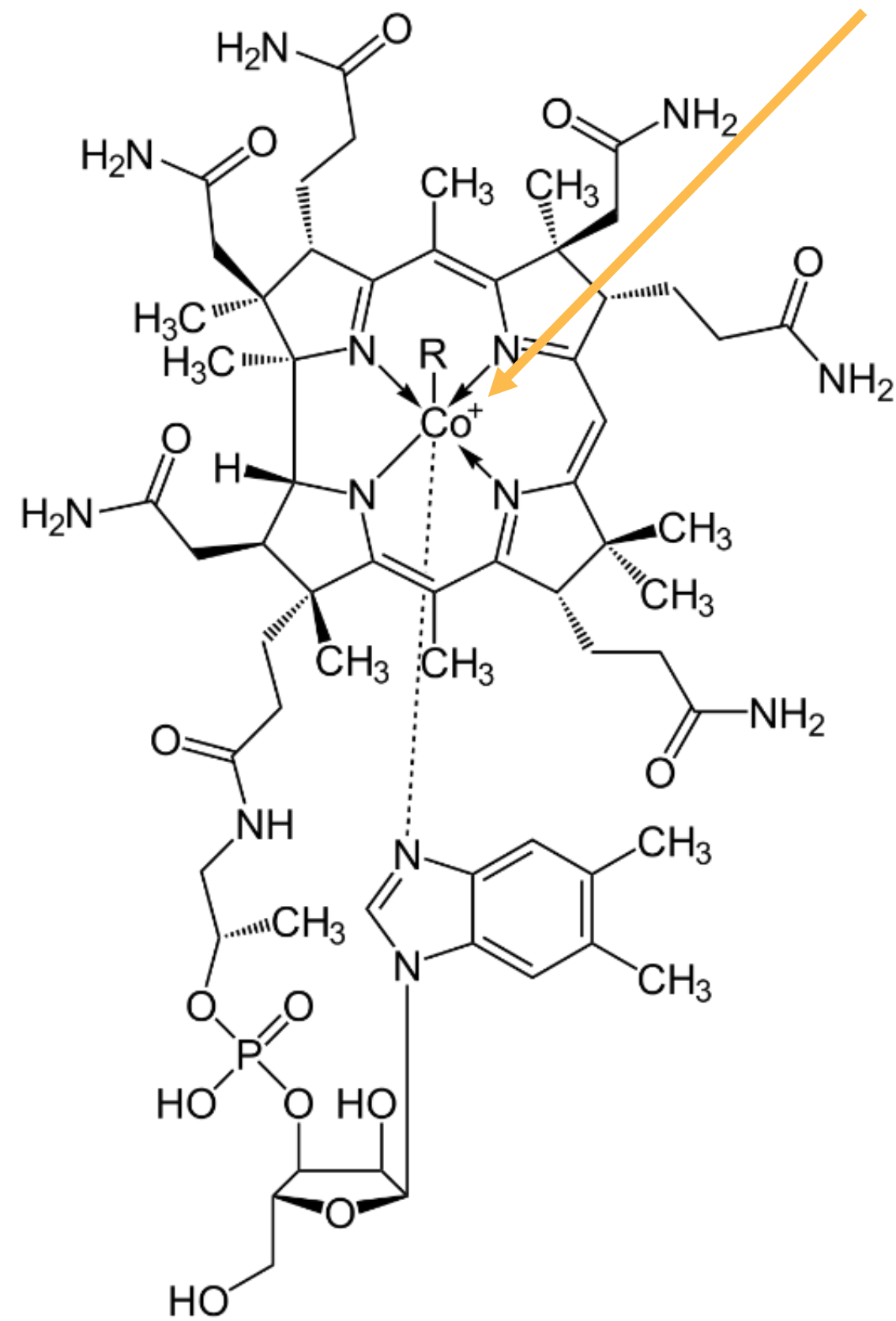
Grzych et al, J Neurol. 2023



Grzych et al, Annales de Biologie Clinique 2022



## Mécanisme d'action toxique : Oxydation de la vitamine B12 -> inactivation

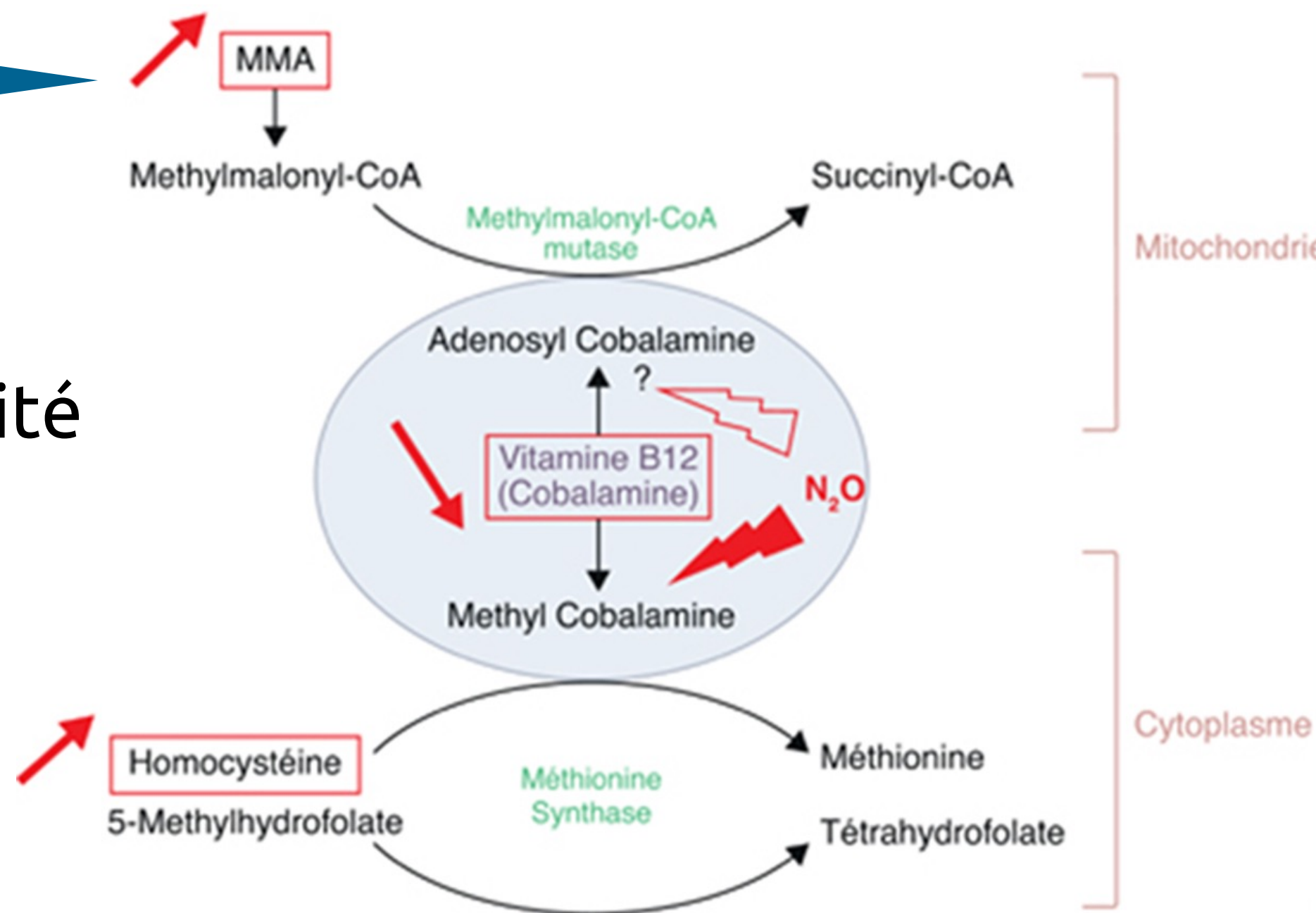


**Marqueur de gravité clinique**  
MAIS augmente en cas de carence en vitamine B12



=> Manque de spécificité

**Marqueur de consommation récente**  
MAIS augmente en cas de carence en vitamines B6, B9, B12 et d'insuffisance rénale



Grzych et al, Annales de Biologie Clinique 2022

**OBJECTIF :**  
**Identifier une signature métabolique de l'intoxication au N<sub>2</sub>O**



# Matériel et méthodes

Etude prospective



N = 37  
Sex ratio (F/H) = 7/30  
Age moyen : 22,6 ans



N = 37  
Sex ratio (F/H) = 7/30  
Age moyen : 26,8 ans



Métabolomique ciblée  
Dosage des acides aminés  
plasmatiques  
SCIEX 3200 QTRAP

# Matériel et méthodes

## Score PND (Peripheral Neuropathy Disability)

- 0 : asymptomatique
- 1: troubles sensitifs distaux avec capacité de marche préservée
- 2 : difficulté de la marche mais s'effectue sans aide
- 3 : marche avec de l'aide, alité, sclérose combinée de la moelle et/ou thrombose

Sélection parmi les patients de l'étude clinique BALON (NCT05540561)

### Critères d'inclusion

- PND  $\geq 1$
- Consommation de N<sub>2</sub>O datant de moins d'une semaine

### Critère d'exclusion

- Carence en vitamine B9

Etude prospective



N = 37  
Sex ratio (F/H) = 7/30  
Age moyen : 22,6 ans



N = 37  
Sex ratio (F/H) = 7/30  
Age moyen : 26,8 ans



Métabolomique ciblée  
Dosage des acides aminés  
plasmatiques  
SCIEX 3200 QTRAP

# Matériel et méthodes

## Score PND (Peripheral Neuropathy Disability)

- 0 : asymptomatique
- 1: troubles sensitifs distaux avec capacité de marche préservée
- 2 : difficulté de la marche mais s'effectue sans aide
- 3 : marche avec de l'aide, alité, sclérose combinée de la moelle et/ou thrombose

Etude prospective



N = 37  
Sex ratio (F/H) = 7/30  
Age moyen : 22,6 ans



N = 37  
Sex ratio (F/H) = 7/30  
Age moyen : 26,8 ans

Sélection parmi les patients de l'étude clinique BALON (NCT05540561)

### Critères d'inclusion

- PND  $\geq$  1
- Consommation de N<sub>2</sub>O datant de moins d'une semaine

### Critère d'exclusion

- Carence en vitamine B9



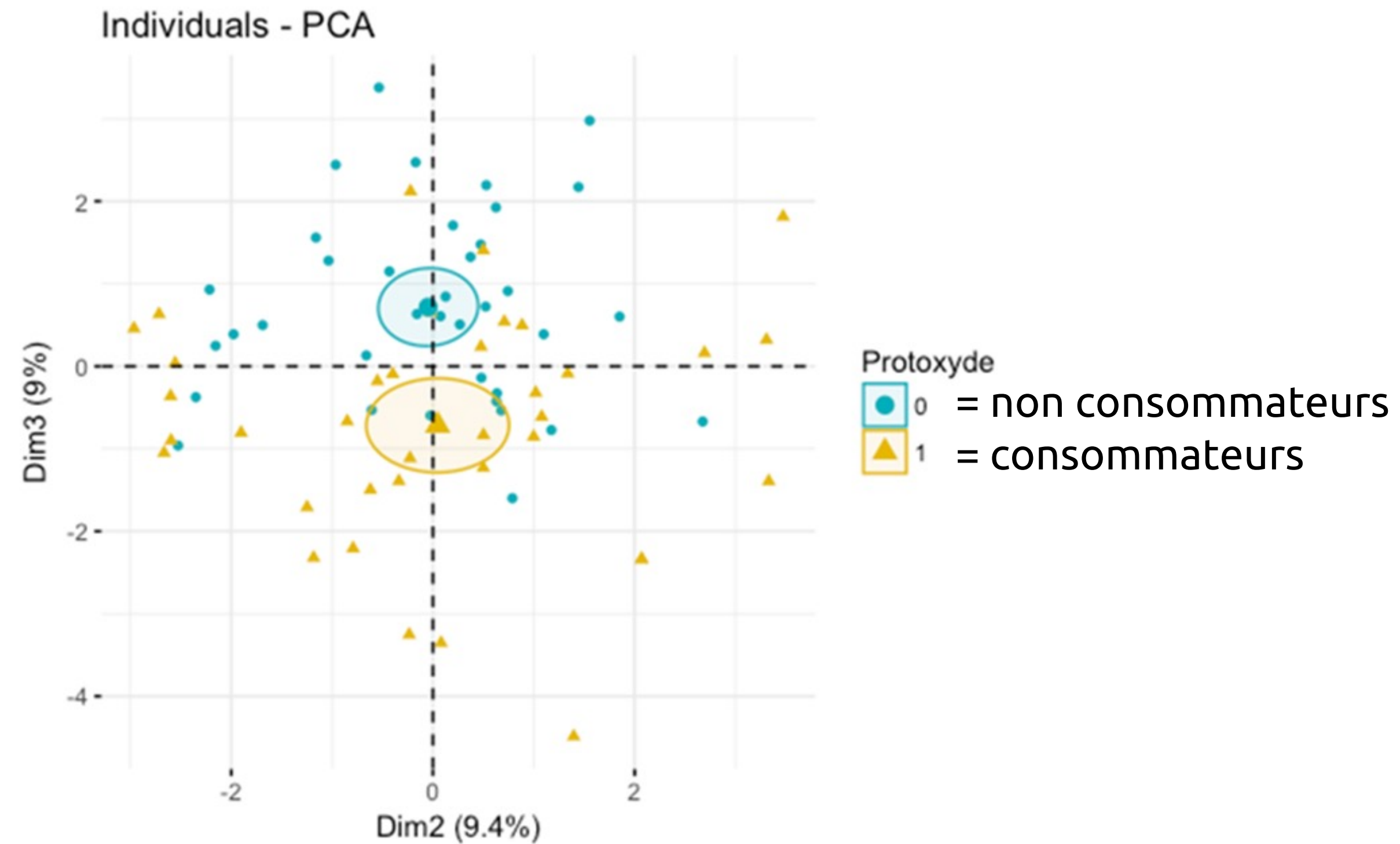
Métabolomique ciblée  
Dosage des acides aminés plasmatiques  
SCIEX 3200 QTRAP

Sélection parmi les patients ayant bénéficié d'un dosage des acides aminés plasmatiques

### Critères d'exclusion

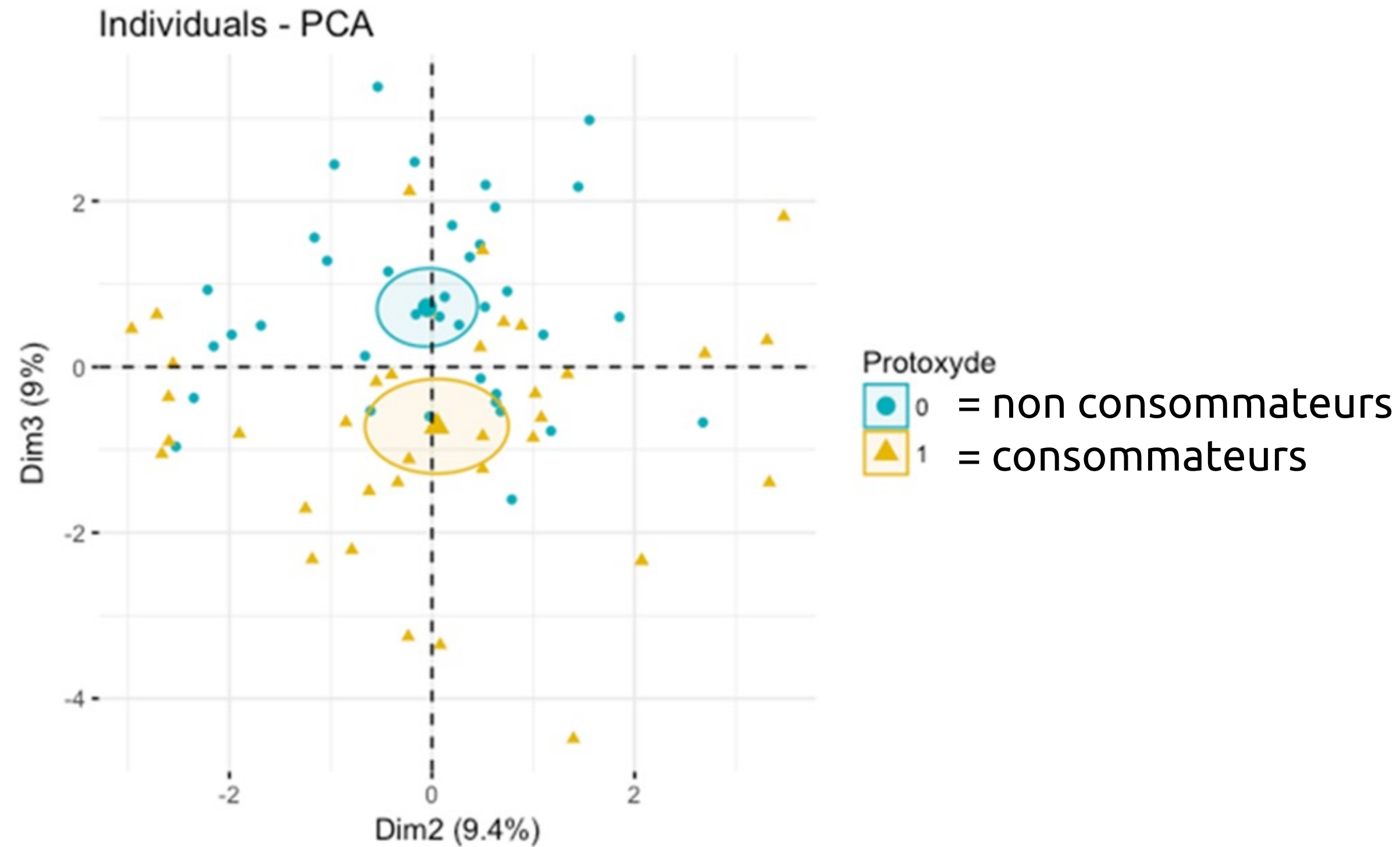
- Carences en B9 et/ou B12
- Insuffisance rénale
- Insuffisance hépatique
- Maladie métabolique connue

## Analyse en composantes principales



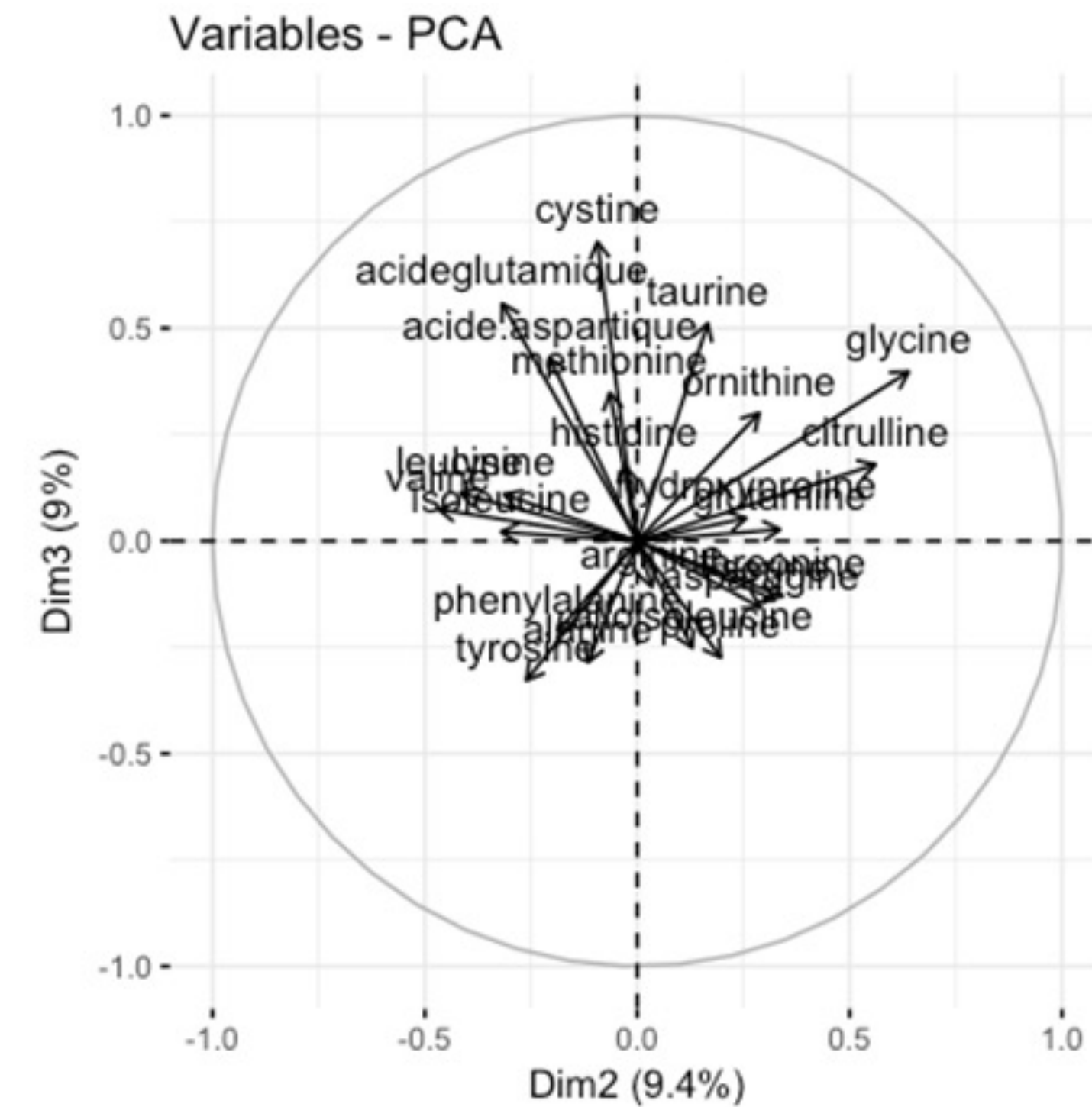
=> Séparation efficace des groupes de patients selon l'axe des abscisses

## Analyse en composantes principales



=> Séparation efficace des groupes de patients selon l'axe des abscisses

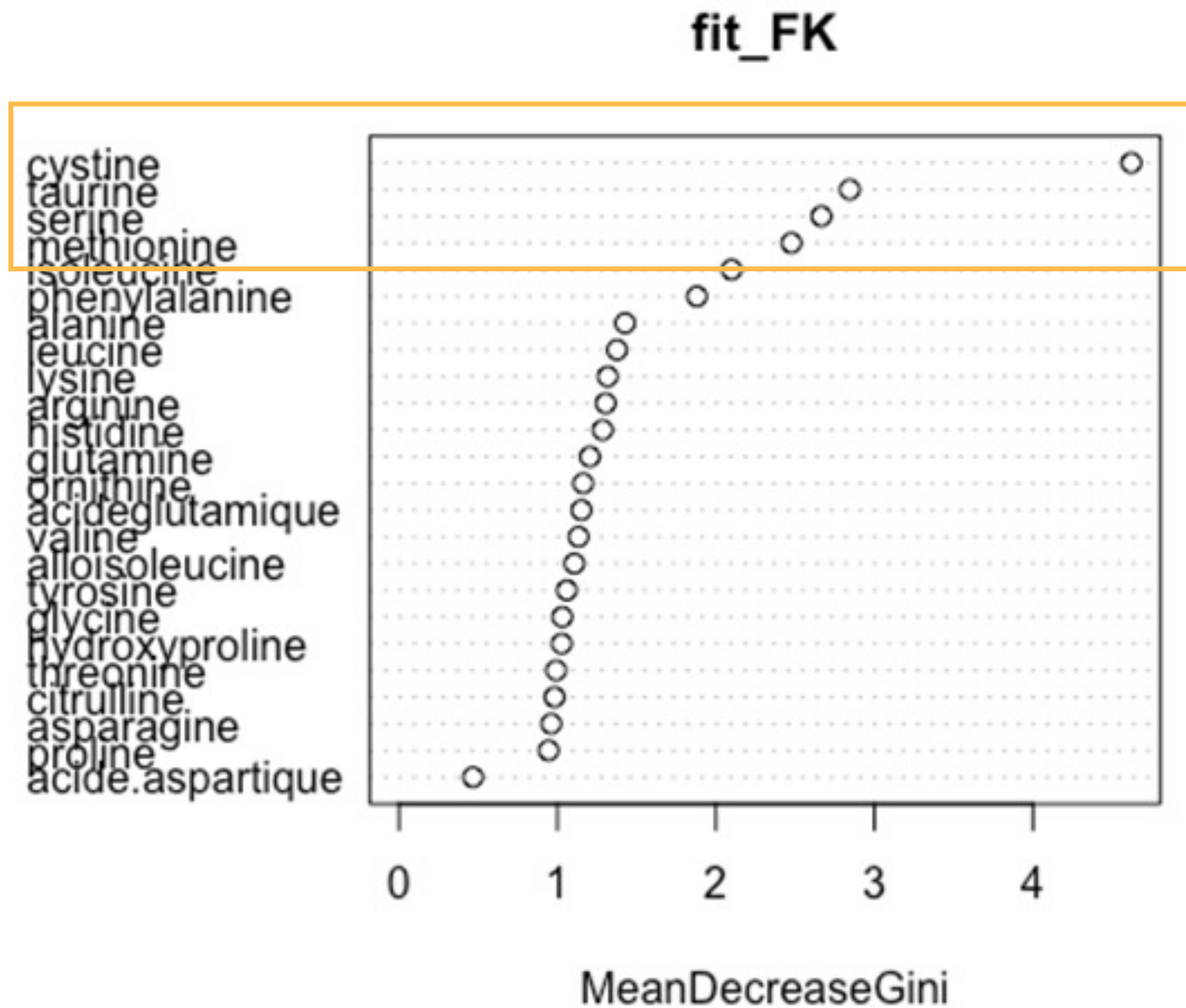
## Loading Plot



=> Variables permettant de discriminer les groupes de patients : cystine, taurine et méthionine

# Résultats

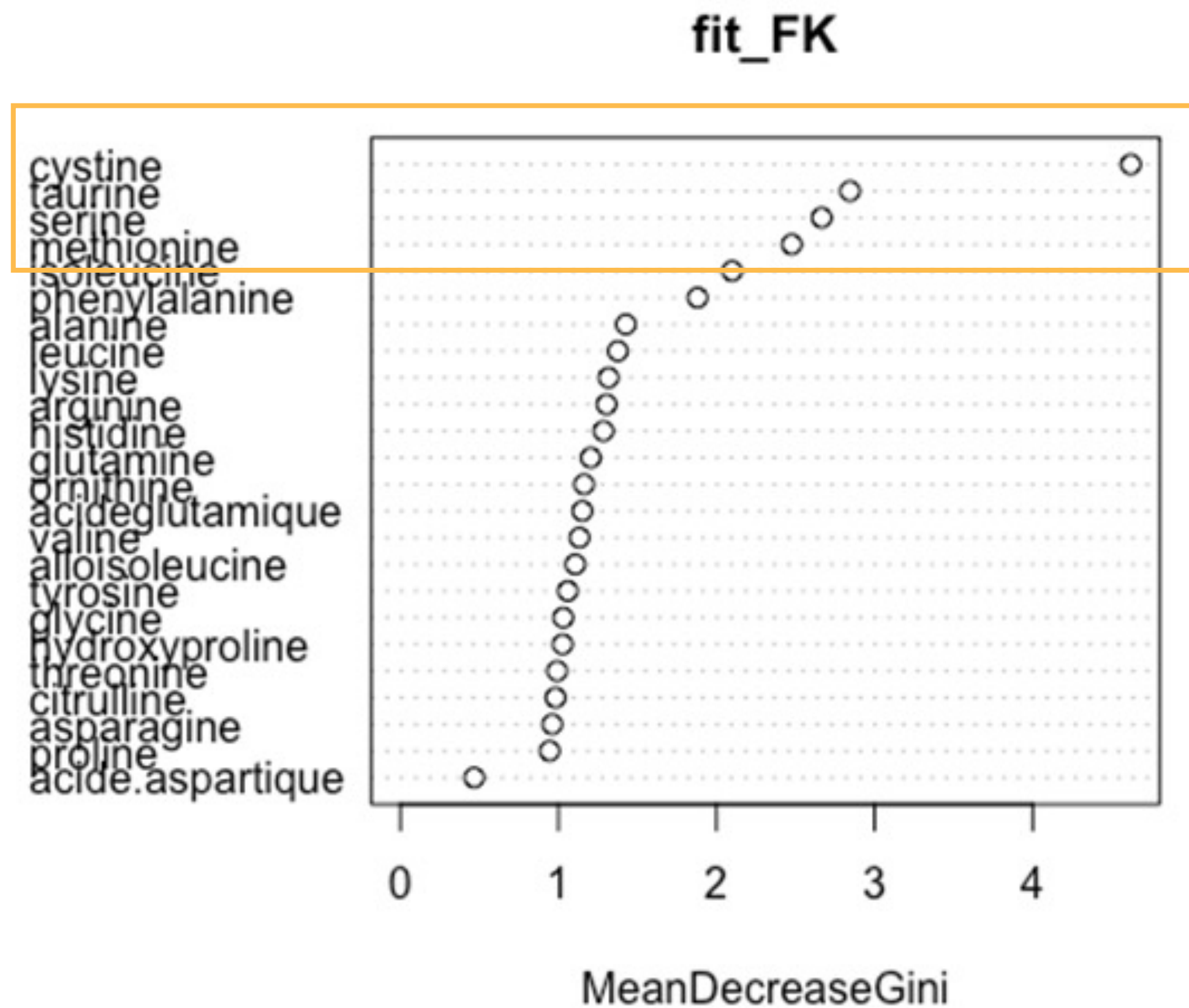
## Random forest



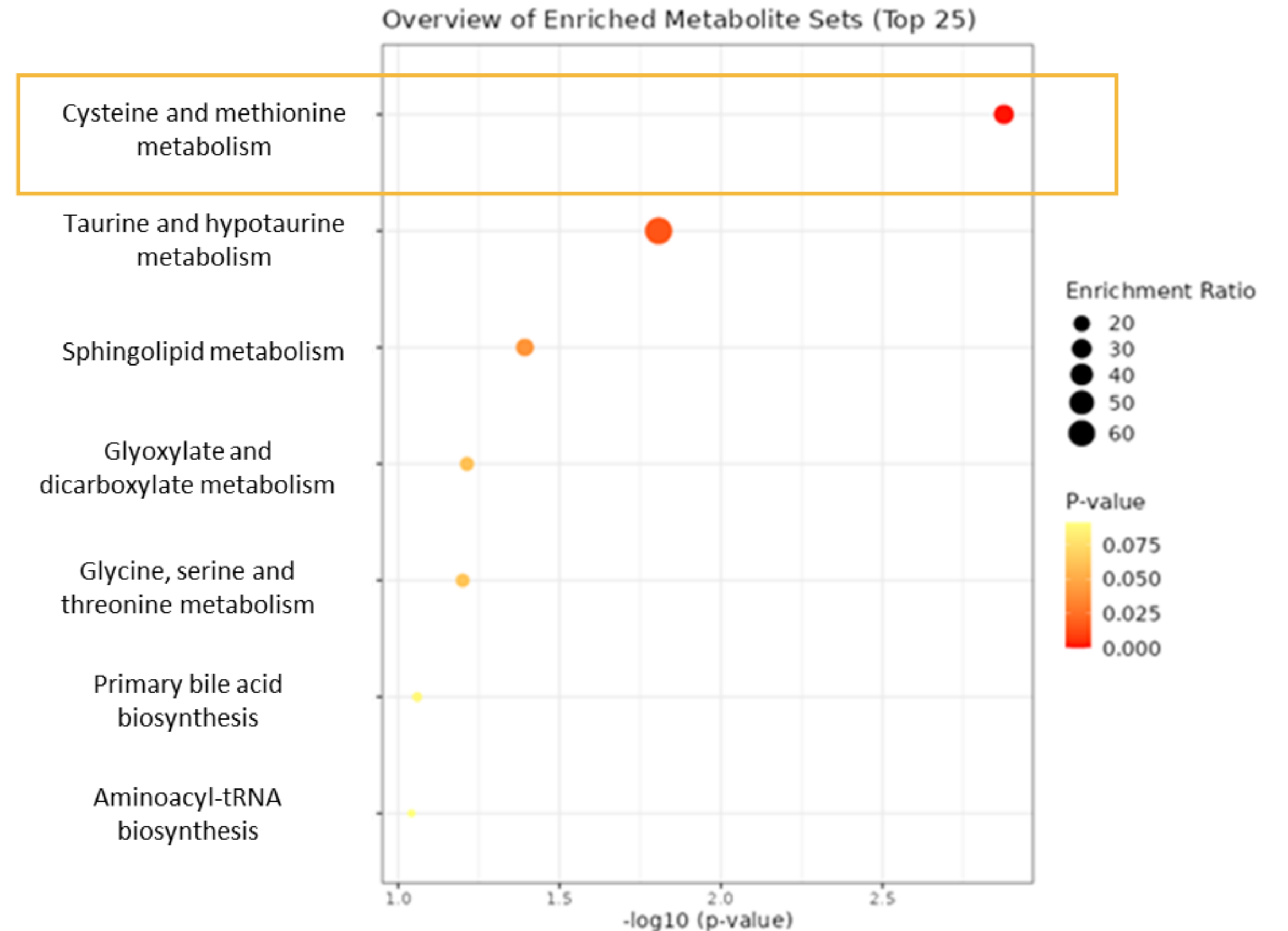
=> Modification significative de la cystine, taurine, sérine et méthionine entre les 2 groupes



## Random forest



## Enrichissement métabolique



=> Modification significative de la cystine, taurine, sérine et méthionine entre les 2 groupes

=> Voie métabolique de la cystéine et de la méthionine semble expliquer au mieux les différences entre les groupes





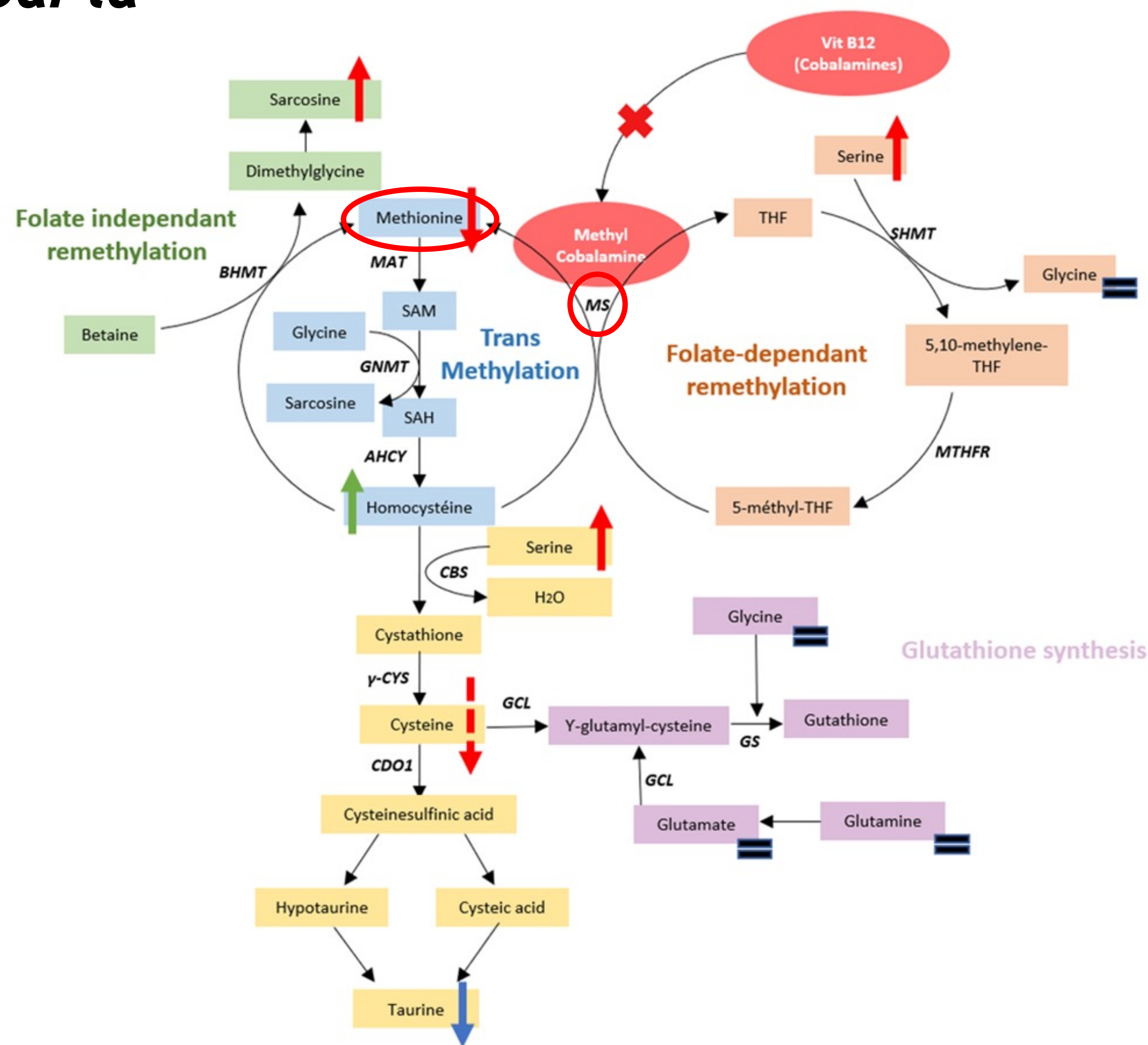
## *Focus sur les acides aminés de la voie métabolique de la cystéine et de la méthionine*

Patients	Témoins	Patients N <sub>2</sub> O	Variation	p-value
N	37	37	-	-
Sex ratio (F/H)	7/30	7/30	-	-
Age moyen (années)	22,6	26,8	-	-
Taurine plasmatique (μmol/L)	75,7 ± 16,9	61,7 ± 23,4	↘	0,06
Sérine plasmatique (μmol/L)	112,9 ± 25,7	133,8 ± 28	↗	<b>&lt; 0,01</b>
Cystine plasmatique (μmol/L)	43,2 ± 9,6	30,4 ± 12,3	↘	<b>&lt; 0,001</b>
Méthionine plasmatique (μmol/L)	23,6 ± 5,4	20 ± 9	↘	<b>0,01</b>
Sarcosine plasmatique (μmol/L)	0,68 ± 0,94	2 ± 2,66	↗	<b>0,03</b>

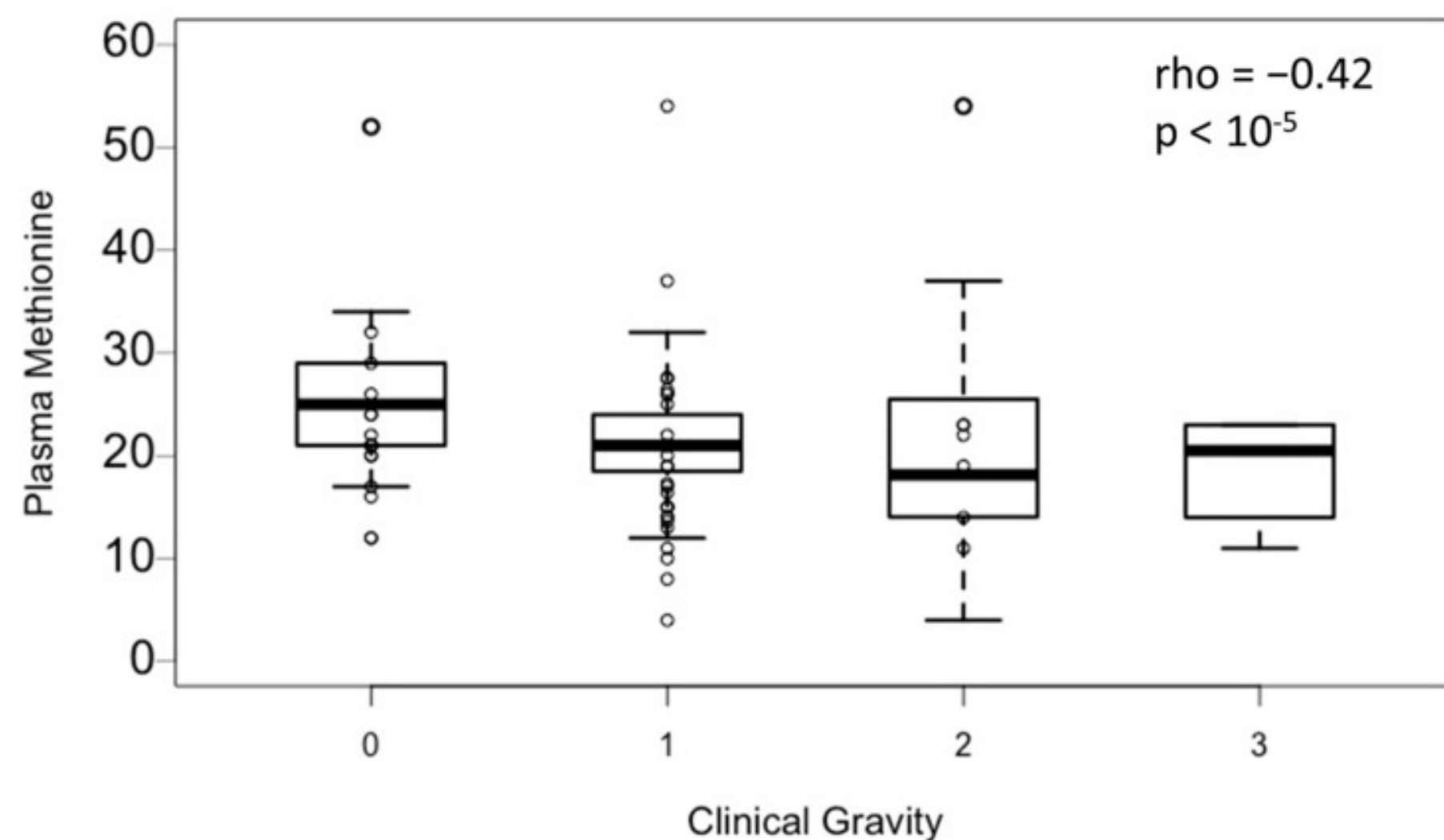
# Discussion

## Modifications métaboliques induite par la consommation de N<sub>2</sub>O sur la voie métabolique de la cystéine et de la méthionine

-  méthionine ->
  activité de la méthionine synthase



Methionine-Clinical Gravity

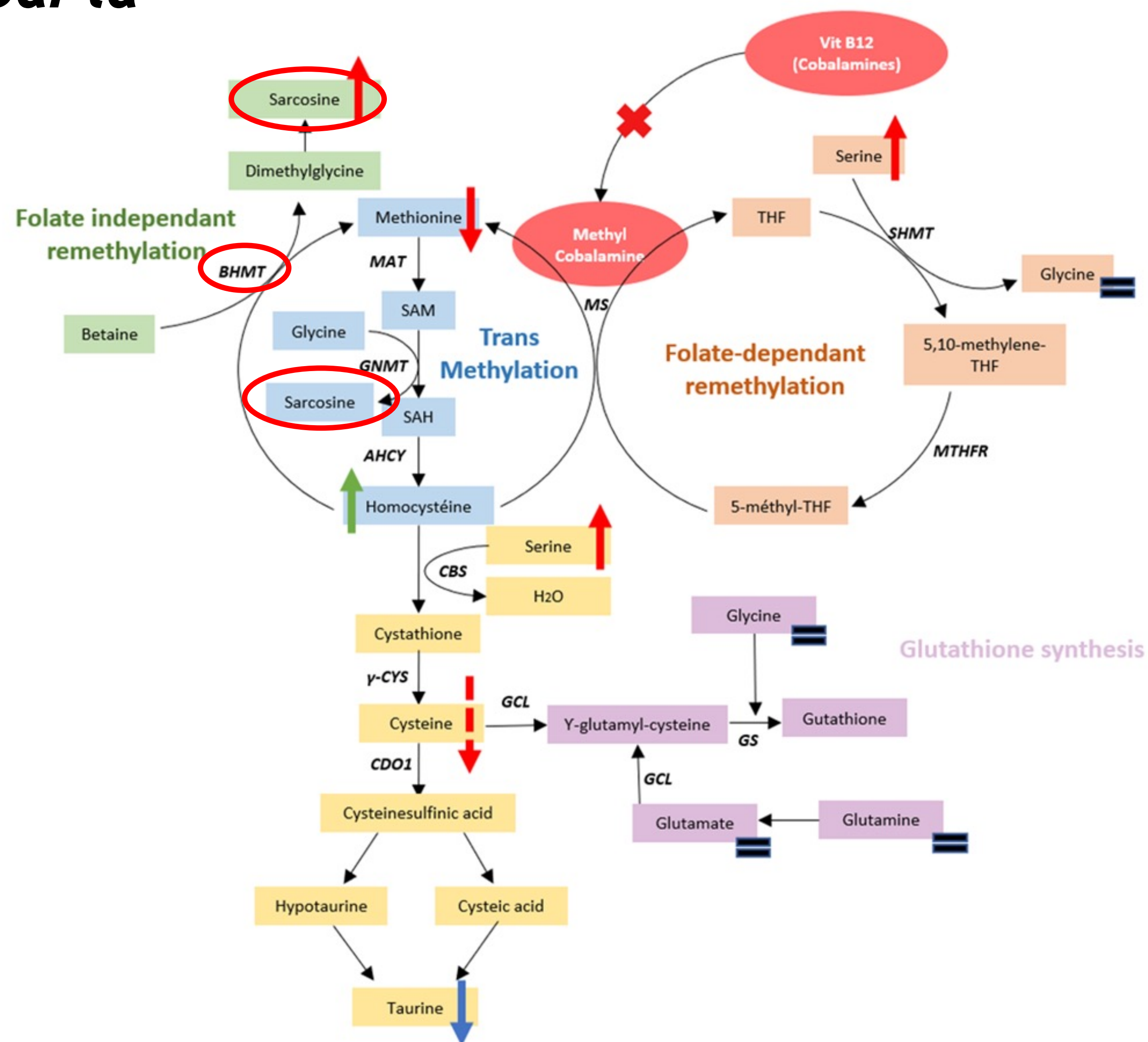


Gernez E et al, Toxics. 2022

# Discussion

## Modifications métaboliques induite par la consommation de $N_2O$ sur la voie métabolique de la cystéine et de la méthionine

- méthionine  $\rightarrow$  activité de la méthionine synthase
- sarcosine  $\rightarrow$  activité de BHMT et/ou dérégulation de la méthylation (GNMT)?



# Discussion

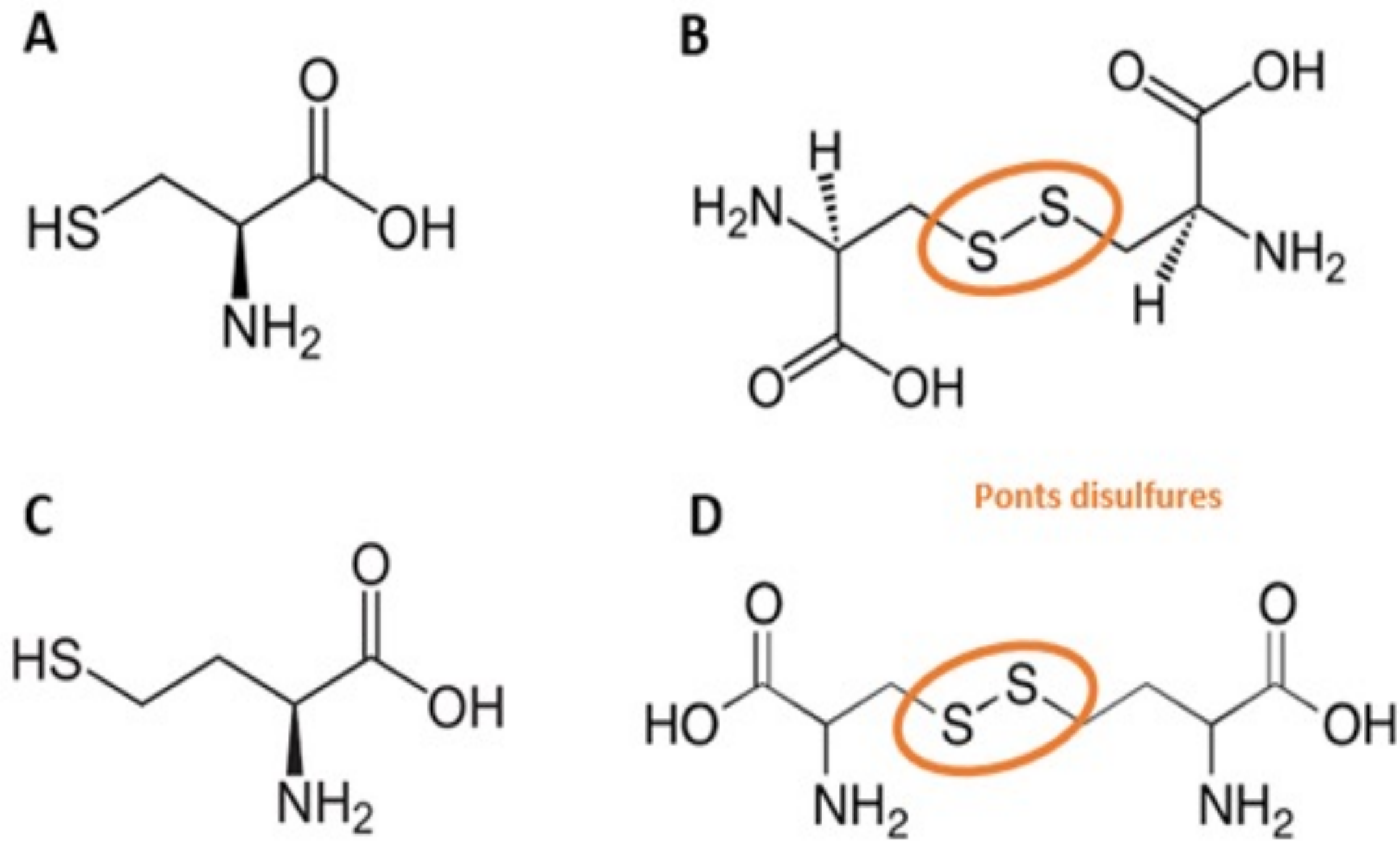
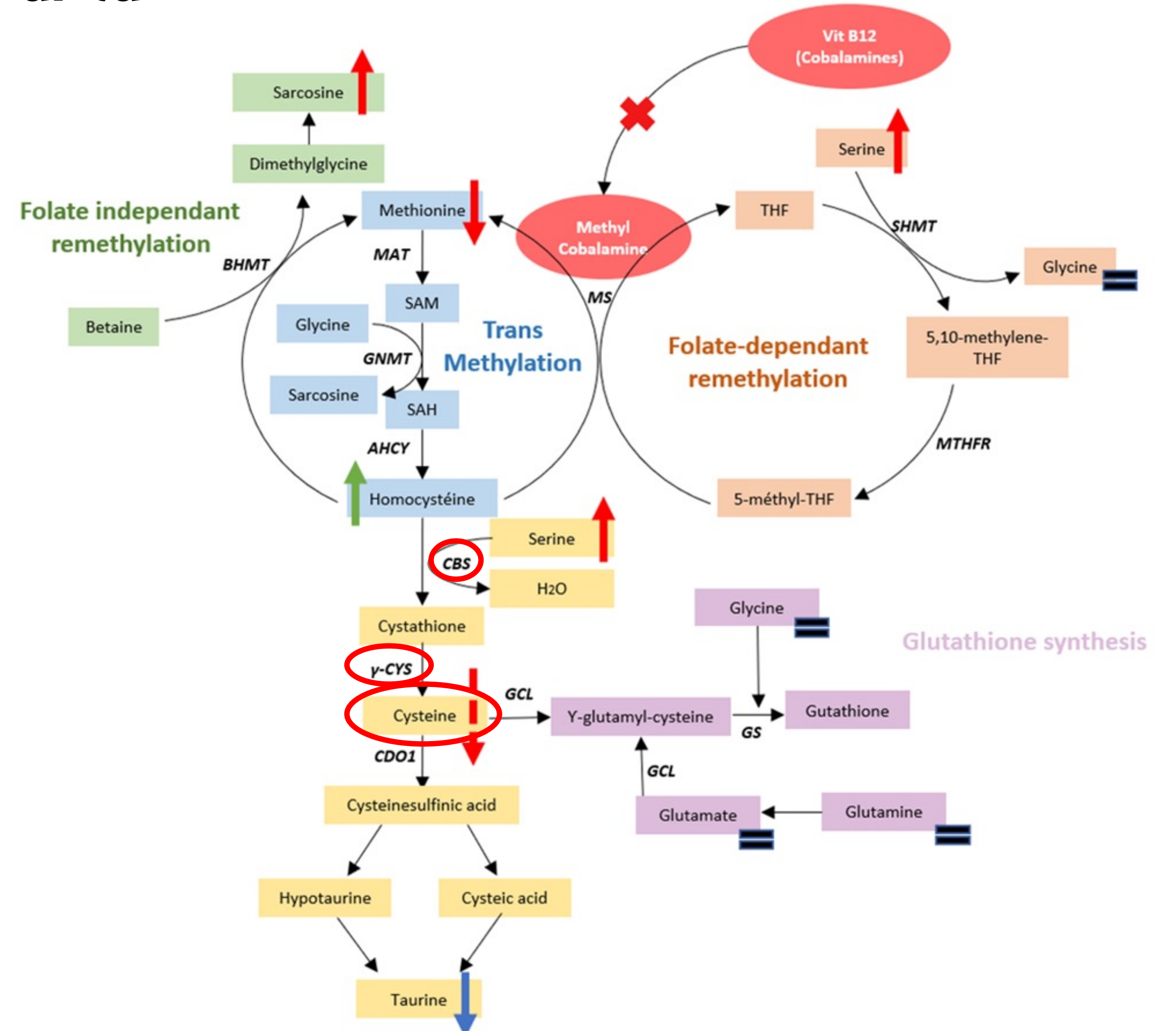


Figure 1 : Formule chimique de la cystéine (A), la cystine (B), L'homocystéine (C) et du complexe homocystéine-cystéine(D)

- cystine -> impact sur CBS et gamma-CYS?

par la



# Discussion

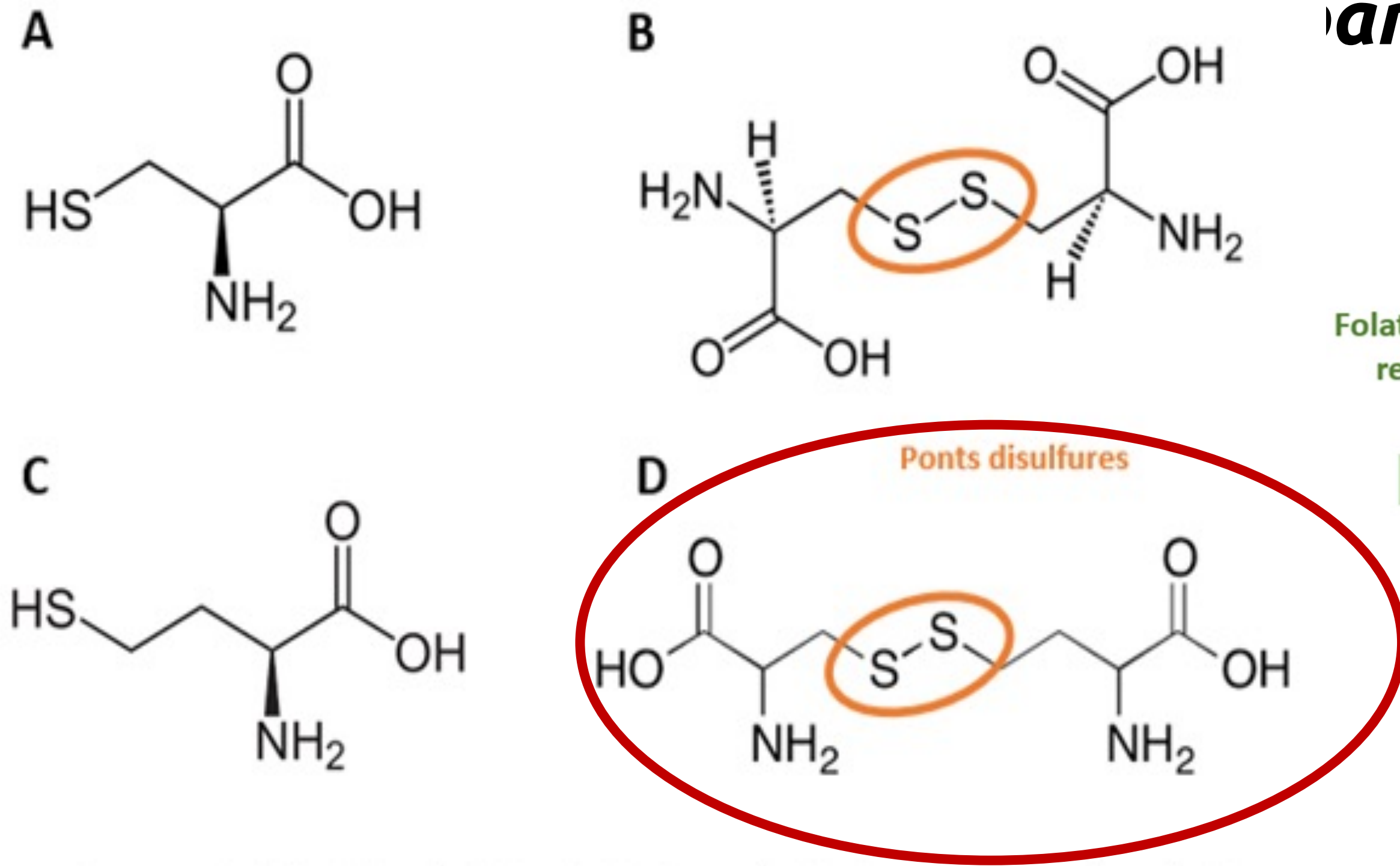
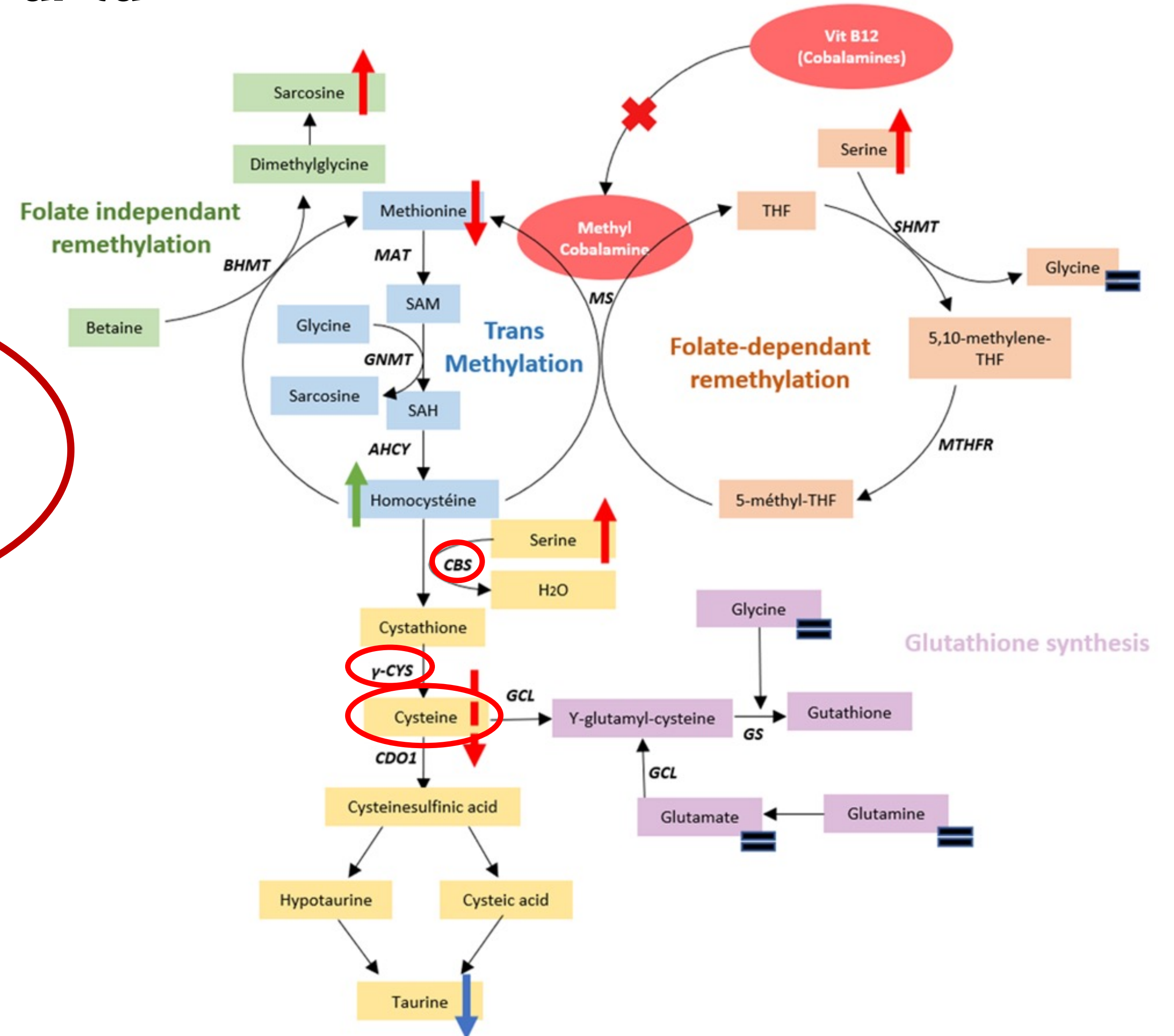


Figure 1 : Formule chimique de la cystéine (A), la cystine (B), L'homocystéine (C) et du complexe homocystéine-cystéine(D)

- cystine -> impact sur CBS et gamma-CYS?

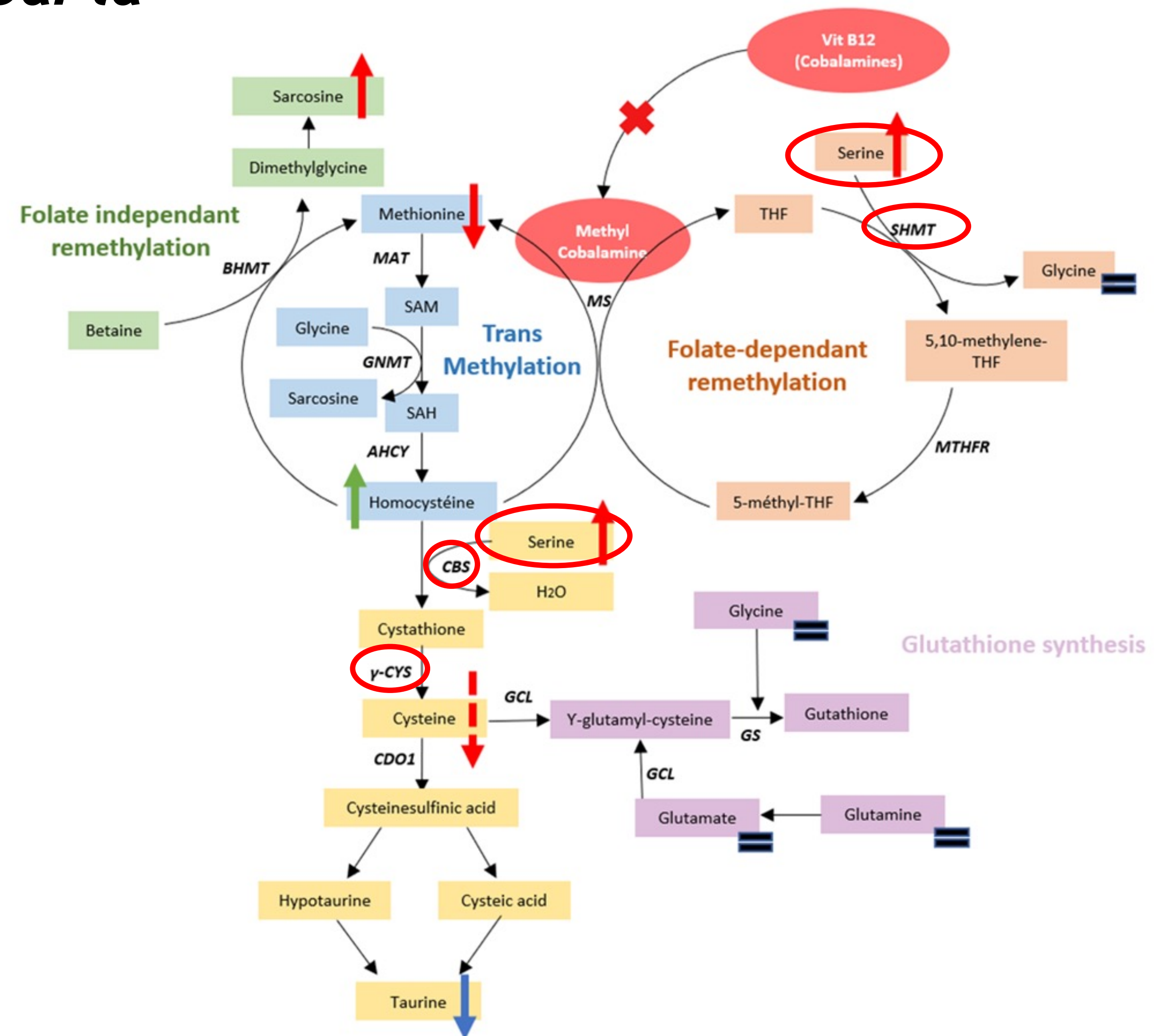
par la



# Discussion

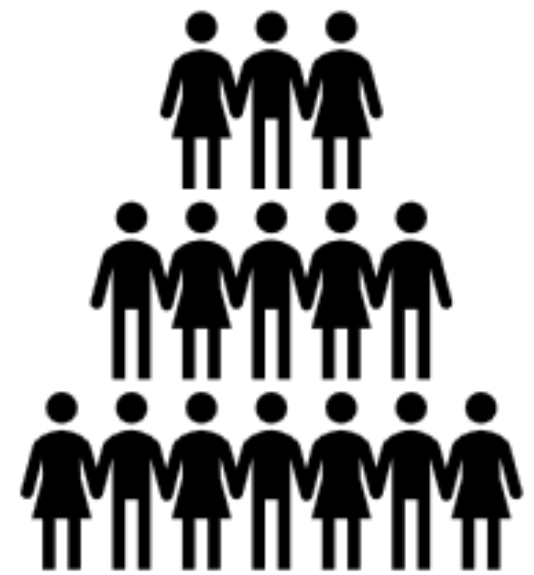
## Modifications métaboliques induite par la consommation de $N_2O$ sur la voie métabolique de la cystéine et de la méthionine

- méthionine -> activité de la méthionine synthase
- sarcosine -> activité de BHMT et/ou dérégulation de la méthylation (GNMT)?
- cystine -> impact sur CBS et gamma-CYS?
- sérine -> impact sur SHMT, CBS et gamma-CYS?

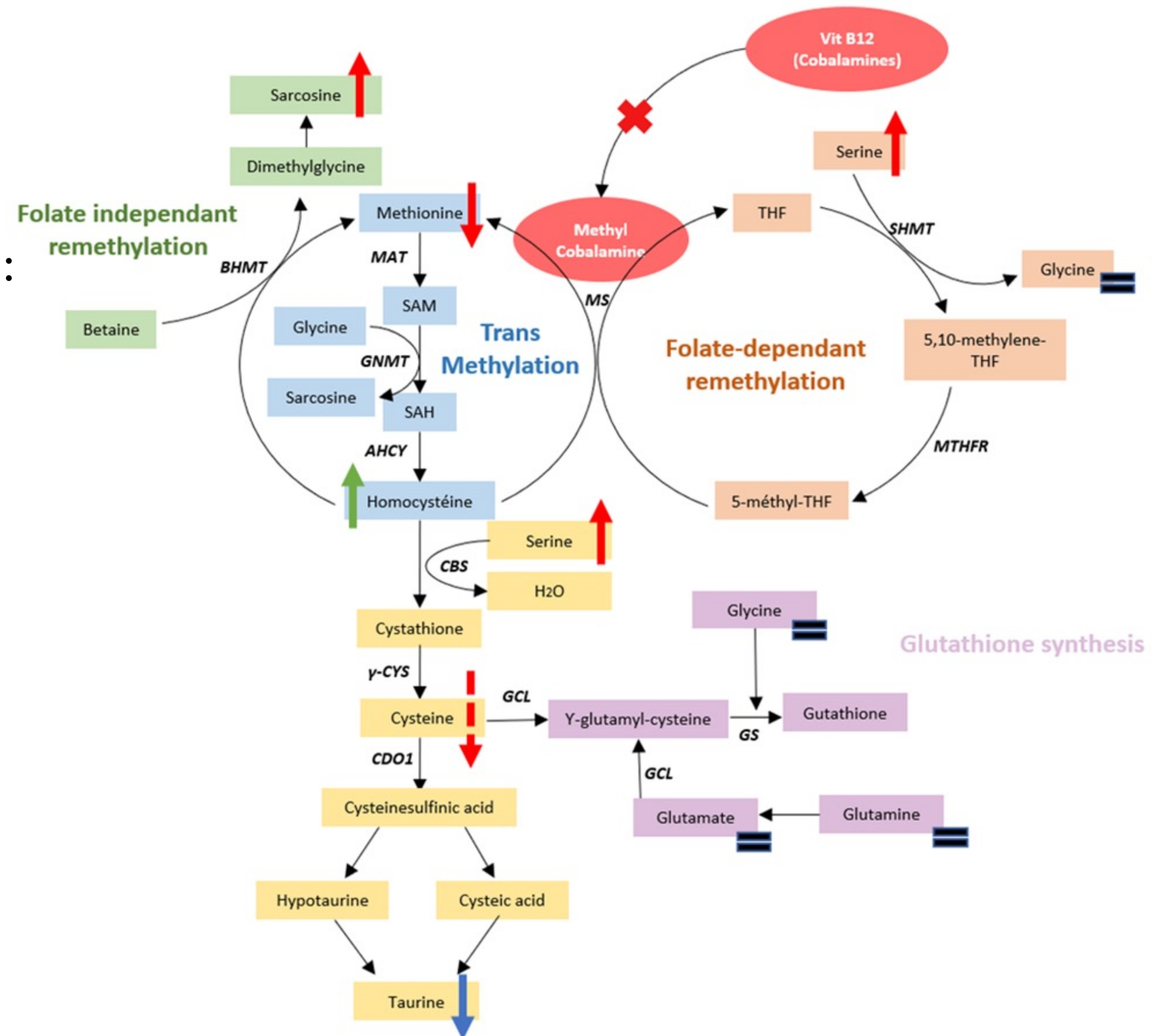


# Discussion

## Perspectives



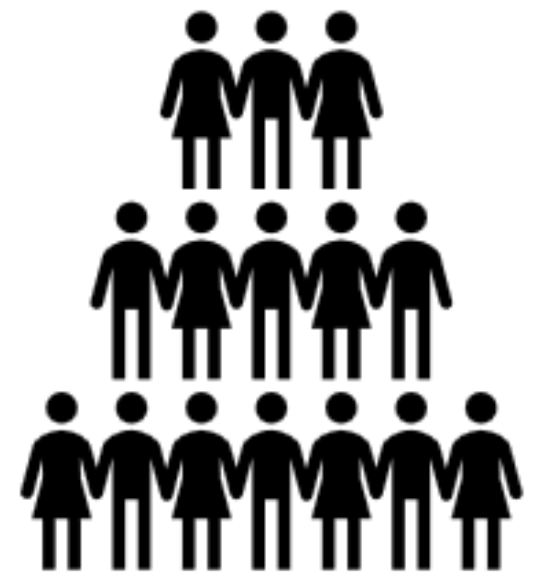
- Groupe de patients plus important
- Classification plus fine des groupes :
  - gravité clinique
  - niveau de consommation





# Discussion

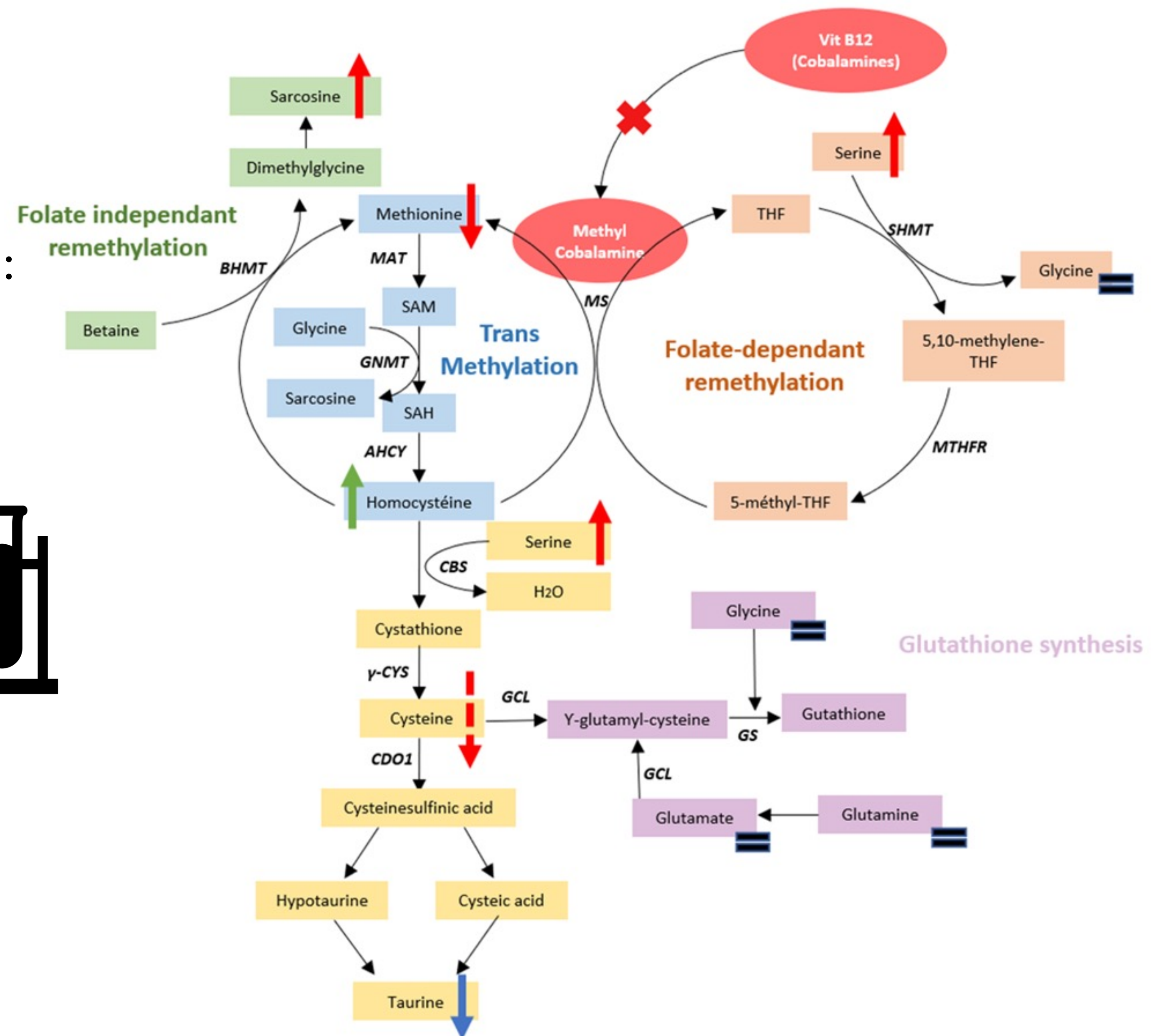
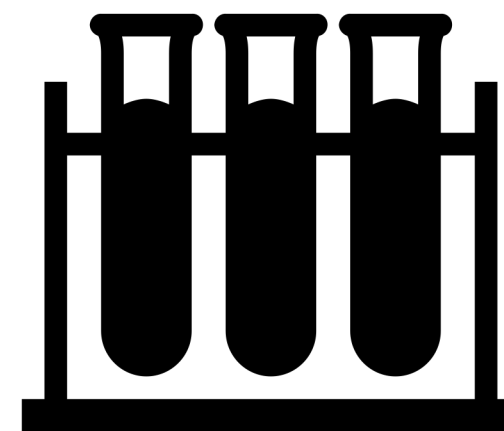
## Perspectives



- Groupe de patients plus important
- Classification plus fine des groupes :
  - gravité clinique
  - niveau de consommation

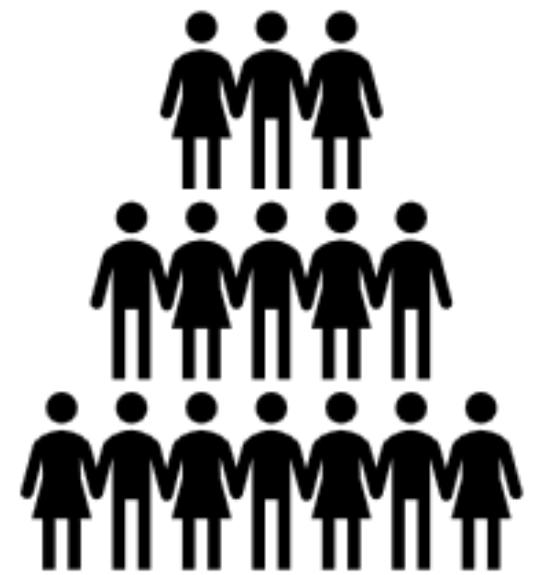
### Dosage d'autres métabolites :

- Voie des monocarbone,
- Intermédiaires du cycle de reméthylation folate-dépendant
- Métabolomique non ciblée



# Discussion

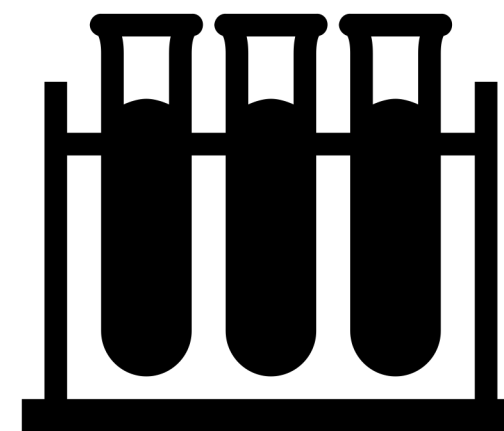
## Perspectives



- Groupe de patients plus important
- Classification plus fine des groupes :
  - gravité clinique
  - niveau de consommation

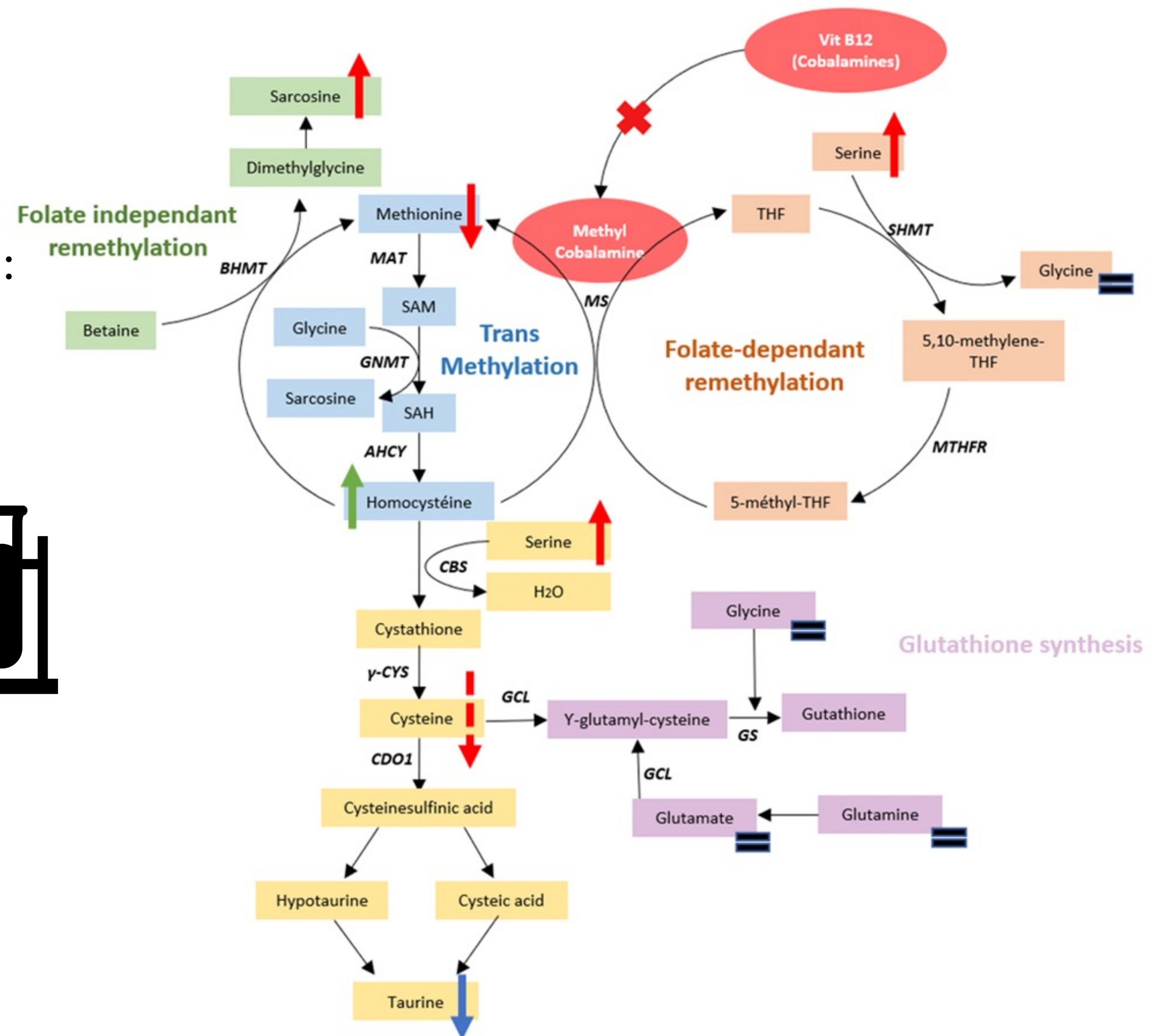
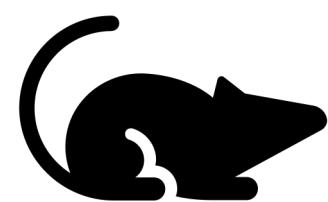
### Dosage d'autres métabolites :

- Voie des monocarbone,
- Intermédiaire du cycle de reméthylation folate-dépendant
- Métabolomique non ciblée



### Sur modèles cellulaires et animaux

- Mesure des activités enzymatiques
- Etude transcriptomique

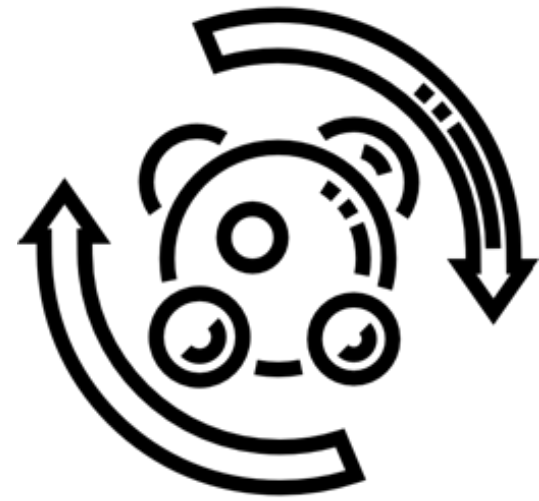


# Conclusion

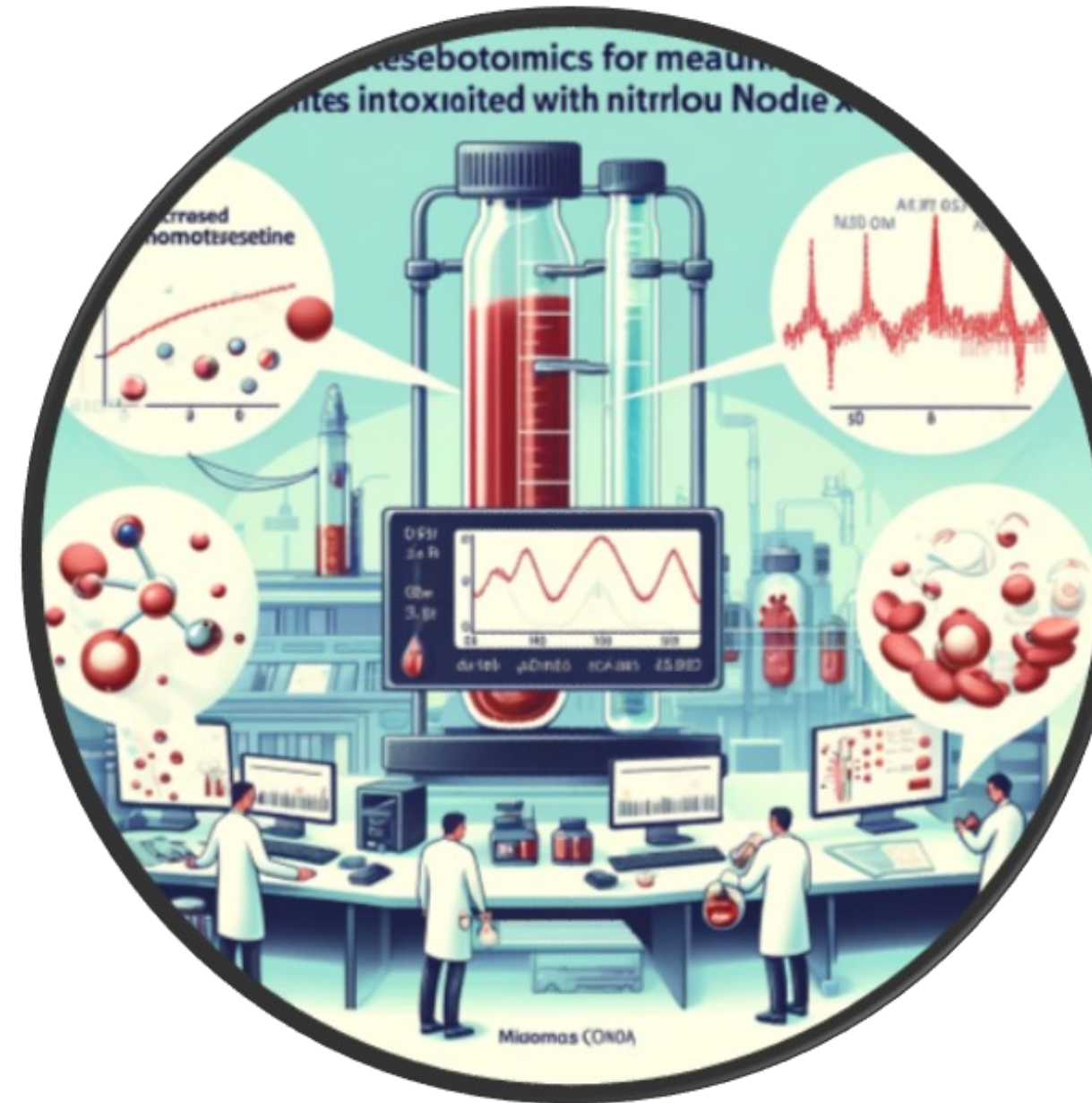


**Protoxyde d'Azote**

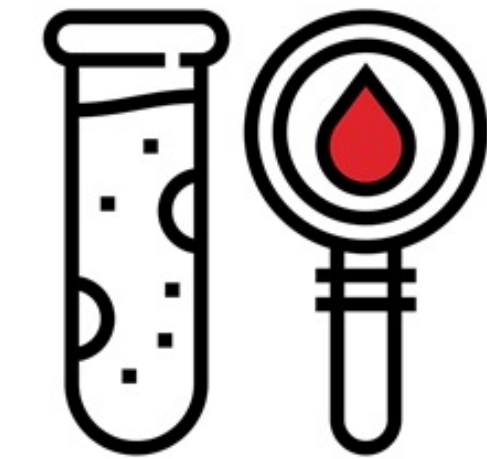
## Physiopathologie



- Modification de voies métaboliques
- Cibles thérapeutiques
- Prédire d'autres complications

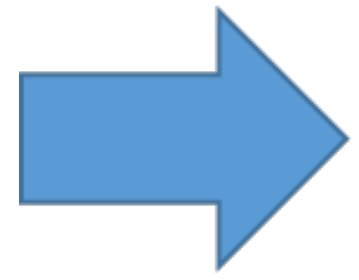


## Biomarqueurs

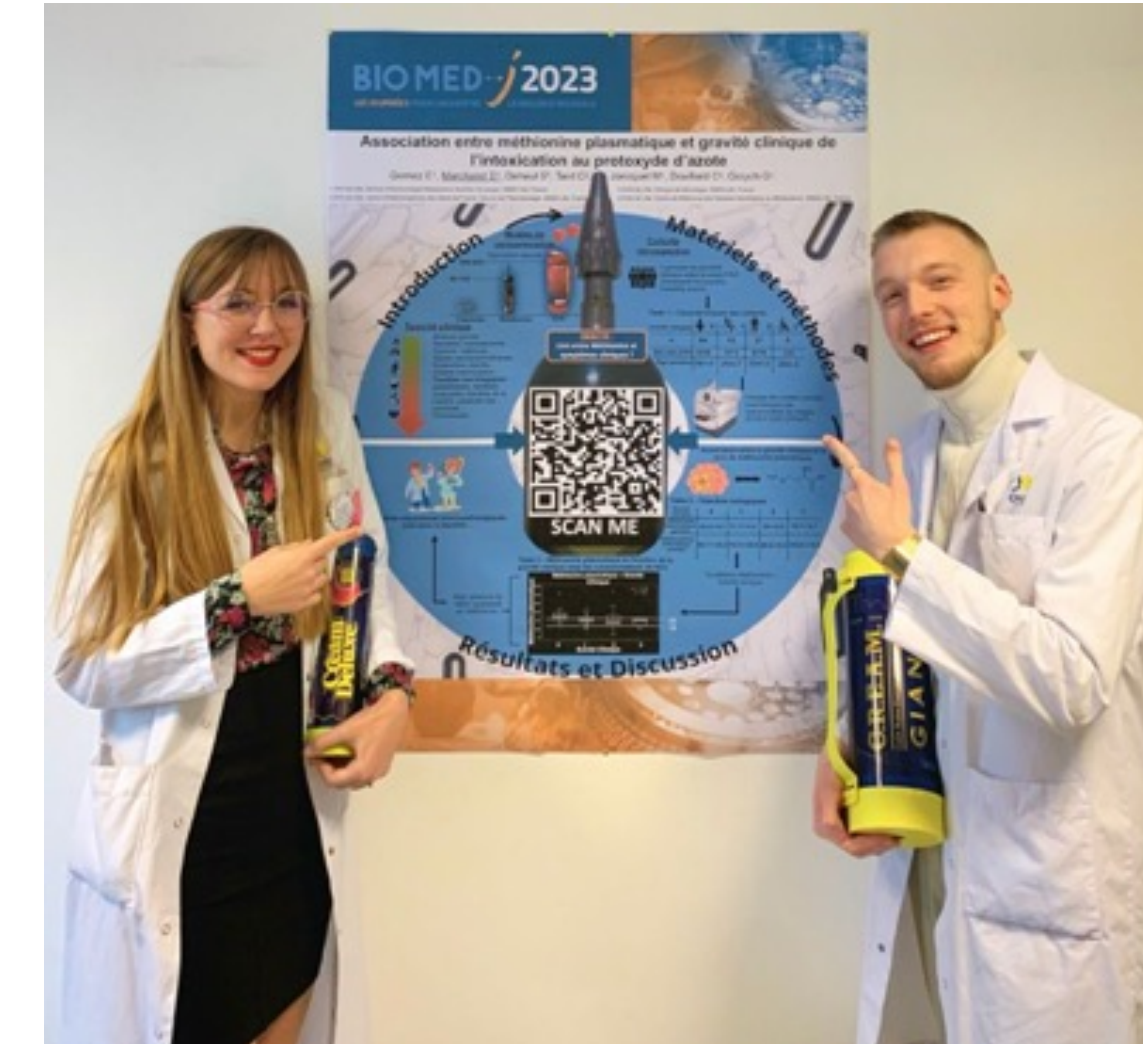


- Marqueurs de gravité et/ou consommation
- Scores biologiques impliquant les AA

# Remerciements/Contacts



[www.protoside.com](http://www.protoside.com)



Des questions ? Besoin  
d'informations  
supplémentaires ?  
RDV au Stand PROTOSIDE

