

Rapport intermédiaire de projet de recherche

Equipe 3 du PARCC (X Jeunemaitre) - AFSED

Projet : Nouveau modèle murin du Syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire

But du projet de recherche : Caractériser un modèle animal de la pathologie permettant l'étude du mécanisme de la maladie ainsi que de tester de nouvelles thérapeutiques.

Avancées du projet :

A- Elevage : Premières souris knock-in disponibles courant 2013 : purification du fond génétique (BL6) par accouplements successifs. La mutation choisie (mutation glycine G183R) correspond au groupe des mutations les plus fréquentes (2/3 des cas) ainsi qu'à celle d'un patient du Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares de l'HEGP.

B- Caractérisation de ce nouveau modèle

1. Calcul de la mortalité, paramètres hémodynamiques, poids, diamètre aortique. Les souris hétérozygotes ($col3a1^{+/G183R}$) sont viables mais il existe une surmortalité néonatale des souris homozygotes $col3a1^{G183R/G183R}$. Les souris hétérozygotes présentent une mortalité spontanée de l'ordre de 50% dans les 4 premiers mois de vie (une souris est jeune adulte à environ l'âge de 2 mois). Les souris mâles présentent une mortalité (60% environ) plus forte que celle des souris femelles (30% environ). Cette mortalité est causée par une rupture aortique (aorte thoracique dans 80% des cas). Elle n'est pas associée ou causée par une différence de pression artérielle. Les ruptures de l'aorte thoracique surviennent sans dilatation préalable, tel qu'on peut en juger par l'analyse de l'échographie aortique à l'âge de 8-12 semaines.

2. Caractérisation microscopique : dissection des animaux décédés précocement, mise en paraffine des aortes thoraciques et du cœur, colorations classiques sur coupes en paraffine, microscopie électronique. Les colorations classiques ne mettent pas en évidence d'anomalies particulières sur les vaisseaux non lésés : pas d'anomalies des fibres élastiques, pas d'infiltrat inflammatoire. L'analyse d'un grand nombre de coupes montre une épaisseur de la paroi artérielle significativement diminuée.

La microscopie électronique d'aortes de souris hétérozygotes et de souris non mutées témoins a permis de montrer des anomalies (hétérogénéité du diamètre, densité moindre) des fibres de collagène ; ainsi que des aortes anormales avec présence de vacuoles dans les fibroblastes adventitiels. Cela résulte d'un stress du réticulum endoplasmique induit par la rétention de protéines probablement mal conformées.

3. Caractérisation moléculaire à partir des tissus aortiques : PCR quantitative des ARNm des gènes codant pour les protéines de la matrice extra-cellulaire et celles impliquées dans la réaction de rétention de protéines malformées (UPR) ou encore de l'autophagie. Travail en cours.

4. Caractérisation protéique à partir des tissus aortiques : Western-blot sur les protéines des collagènes de type I et de type III, sur les protéines de la matrice extracellulaire, sur les protéines de la voie du TGF-Beta. Travail en cours

5. Dosages plasmatiques de cytokines et analyse de la concentration urinaire des peptides de collagène : en cours.

C. Tests thérapeutiques

La mortalité spontanée des souris hétérozygotes $col3a1^{+/G183R}$ offre l'opportunité unique de tester des stratégies thérapeutiques des ruptures artérielles aortiques, stratégies qui pourraient être transposées à l'homme.

Les traitements sont testés dans des cages en parallèle sur des croisements $col3a1^{+/G183R} \times col3a1^{+/G183R}$. Traitement à partir de la naissance, sur une période de 24 semaines. Médicaments distribués dans l'eau de biberon sur les 3 génotypes ($col3a1^{+/+}$, $+/G183R$, $G183R/G183R$) avec mesure du poids, de la pression artérielle systolique et de la fréquence cardiaque (tail-cuff) tous les mois (à partir de 8 semaines) et de la mortalité par rupture aortique (critère principal de jugement).

Effet du propranolol (β -bloquant non sélectif, molécule de référence de cette classe thérapeutique). Près de 100 animaux ont été traités. Il n'y a pas de baisse significative de la pression artérielle, malgré la baisse de fréquence cardiaque attendue. Il n'y a pas de baisse significative de la mortalité, en contradiction avec ce qui était possiblement attendu.

Effet du céliprolol (β -bloquant, traitement de référence des patients SEDv. Il s'agit d'un β -bloquant β_1 sélectif avec une activité β_2 agoniste). Molécule non encore testée.

Losartan (antagoniste des récepteurs de type I de l'angiotensine II) : Plus de 100 animaux des 3 génotypes ont été traités. il existe une baisse très significative de la pression artérielle (de l'ordre de 25 mmHg) qui est associée à une amélioration de la survie des animaux, en particulier significative chez les souris mâles hétérozygotes $col3a1^{+/+}$, $+/G183R$. II

Amlodipine (antagoniste calcique vasodilatateur) : en cours

Conclusions, perspectives :

Les résultats actuels sont très encourageants dans le sens où il s'agit du premier modèle de souris de la pathologie qui présente des lésions artérielles spontanées suffisamment sévères pour être exploitable tant sur le plan d'une physiopathologie fine que celui d'une thérapeutique préventive. Comme chez l'homme, les animaux hétérozygotes présentent une pathologie artérielle spontanée. Les résultats actuels montrent l'importance de diminuer le stress artériel induit par la pression artérielle mais aussi suggèrent un effet propre du système rénine angiotensine. Ceci serait évidemment important dans une transposition à l'homme.

Les 6 prochains mois devraient permettre de finir la caractérisation du modèle et de soumettre les résultats correspondants pour publication.