

ET LA RECHERCHE ?

EN 2024, l'association DAVID a été en mesure, grâce à tous vos dons, de subventionner en partie des projets de recherche menés au Centre de recherche de l'Hôpital Européen Georges Pompidou

PORTEURS DE PROJETS

- Centre de Référence des Maladies Artérielles Rares MARS (Pr Tristan Mirault)
- Equipe de recherche INSERM U970 – PARCC – HEGP (Pr Xavier Jeunemaitre)

1.Projet 2024 : ASTRA-VEDS: Aorta Single-cell Transcriptomics in Vascular Ehlers- Danlos Syndrome mice - financement 50 K€ Association DAVID – PARCC INSERM

Introduction

Introduction

Cette étude se propose de comprendre mieux quel est le retentissement d'une mutation du gène COL3A1 sur l'expression génique au niveau de la paroi artérielle. En effet, même si nous savons bien que le SED vasculaire se caractérise par une fragilité artérielle, nous ne savons pas précisément si cette fragilité atteint les trois couches de la paroi artérielle (intima, média, adventice) ou bien si le défaut en collagène de type III entraîne préférentiellement un défaut de l'une ou l'autre de ces 3 couches. L'analyse anatomo-pathologique des artères chez les sujets humains ne peut se faire que lors d'une complication nécessitant une intervention, et dans ce cas, les artères sont l'objet d'une dissection ou d'une rupture avec des phénomènes aigus de retentissement ou d'adaptation qui ne permettent pas d'analyser la situation de base.

La création dans notre laboratoire de souris transgéniques porteuses d'une mutation « glycine » hétérozygote du gène *col3a1* – type de mutation le plus fréquent rencontré chez les patients – permet de faire ces analyses avant la survenue d'événements artériels. Ce modèle de souris *col3a1*^{+G182R} a montré sa pertinence, avec la survenue de ruptures aortiques au cours des 6 premiers mois de vie – une souris est considérée comme adulte à environ 2 mois de vie – reproduisant en partie la fragilité artérielle observée chez l'homme (Legrand, Plos Genet 2022). L'examen anatomo-pathologique des artères ne montre pas

d'inflammation ni d'anomalie particulière de l'une des 3 couches, mais un amincissement global de l'épaisseur de l'intima média de l'ordre de 10-20%.

Une première analyse transcriptomique (aortique issue de souris sacrifiées à 8 semaines de vie, a mis en évidence un certain nombre de gènes différentiellement exprimés. Parmi ceux-ci, 17 gènes sont exprimés dans les cellules endothéliales (12 surexprimés et 5 sous-exprimés, voir table ci-dessous) ce qui oriente vers une possible dysfonction endothéliale (la couche des cellules endothéliales compose l'intima). Ceci ne renseigne pas sur d'autres anomalies, en particulier des cellules musculaires lisses (composant essentiel de la media), ou des fibroblastes (composant essentiel de l'adventice).

L'analyse de l'expression génique au niveau de chaque cellule d'un tissu - séquençage d'ARN à cellule unique, scRNA-seq - représente une avancée majeure, car elle permet d'analyser les cellules dans un tissu avec une résolution sans précédent. Cette analyse permet d'identifier des sous-populations cellulaires distinctes au sein d'un échantillon, de comprendre donc la diversité des cellules dans un tissu complexe comme l'aorte, les variations induites dans cette diversité, associées à un état pathologique ou à une mutation constitutionnelle, et les réseaux de gènes corégulés par cet état.

Objectif principal :

Identifier l'expression différentielle des ARN messagers selon le type cellulaire composant la paroi aortique entre des souris $col3a1^{+/G182R}$ et des souris témoins. Analyser quantitativement et qualitativement les types et sous-types cellulaires des souris en fonction i) de la présence ou non de la mutation, ii) en fonction du fond génétique (BALBc ou BL6/J) qui influence la survenue d'une rupture aortique dans notre expérience, iii) en fonction du sexe des animaux (la mortalité des souris males mutées étant plus élevée que celle des souris femelles), en fonction du statut hormonal (rôle suggéré de la testostérone dans la rupture aortique) en comparant des souris males castrées ou non.

Une analyse finalisée est attendue pour juillet 2025. En fonction des résultats, l'étude de cellules et/ou de gènes d'intérêt fera l'objet d'analyses complémentaires afin de comprendre au mieux les mécanismes sous-jacents à la fragilité artérielle dans ce modèle de souris muté pour le gène COL3A1

2. Projet MACITENTAN dans le modèle murin $Col3a1^{+/G182R}$ 4. (financement Association DAVID et INSERM)

Introduction

Nous avons créé un modèle murin muté pour le gène $Col3a1^{+/G182R}$ avec une mortalité spontanée causée par une rupture de l'aorte thoracique qui récapitule le SEDv. L'analyse transcriptomique de l'aorte a montré 131 gènes exprimés différemment (40 régulés à la hausse et 91 régulés à la baisse) entre les souris mâles $Col3a1^{+/G182R}$ et les souris mâles de type sauvage ($Col3a1^{+/+}$).

Parmi eux, le gène endothéline-1 (ET-1) (*edn1*), qui est un puissant vasoconstricteur principalement produit par les cellules endothéliales vasculaires (CE), s'est avéré régulé à la hausse

Objectif

Démontrer in vivo par une étude thérapeutique l'implication de l'endothélium vasculaire dans la fragilité artérielle dans le SEDv

Etude de l'effet du Macitentan (inhibiteur des récepteurs de l'endothéline de type A et de type B) sur la survenue de la rupture aortique dans notre modèle murin $Col3a1^{+/G182R}$ afin de confirmer le rôle majeur d'ET-1 dans la physiopathologie des lésions artérielles dans le SEDv.

Protocole

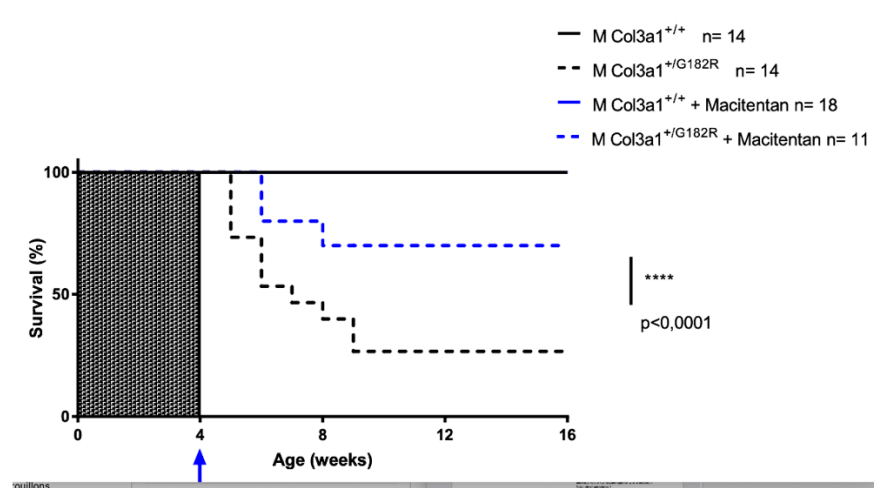
L'essai est effectué chez des souris mâles $Col3a1^{+/G182R}$, âgées de 4-5 semaines (au sevrage) et se poursuit jusqu'à l'âge de 16 semaines.

Le Macitentan est administré par voie orale pendant 12 semaines à la dose de 30 mg/kg/jour, connu pour normaliser la dysfonction endothéliale (Steven et al. Oxid Med Cell Longev 2018 ; Kuntic et al. Eur Heart J 2020). La dose minimale requise de Macitentan est de 3 g.

Premiers résultats

Les premiers résultats portent sur les courbes de survie des animaux traités ou non par Macitentan et sont très encourageants.

Ils montrent une réduction significative d'environ 50% de la mortalité des souris males mutées par rupture aortique.



Poursuite de l'étude

Les résultats de mortalité doivent être étendus sur une 2^o série d'animaux pour obtenir au moins n=20 souris / groupe.

Ils doivent de plus faire l'objet d'une compréhension tissulaire mécanistique par analyse protéique de l'ensemble de la voie ET1 avant traitement en fonction de la mutation chez les souris BL6/J males et femelles, puis sous traitement par Macitentan.

Ces résultats seront enrichis par les expériences de single-cell RNA, explicitées plus haut dans l'étude ASTRA-vEDS.

3 ETUDE ARCADE : Efficacité de l'IRBESARTAN associé au Céliprolol chez les patients atteints de SED vasculaire

Cette étude a été menée pendant 2 ans au CRMVR par le Pr Jeunemaitre. (IRBESARTAN contre placebo en association avec le CELIPROLOL). Les résultats montrent une diminution significative des accidents hémorragiques par rupture artérielles et des lésions de dissection asymptomatiques visualisées à l'angioscanner chez les patientes traités par IRBESARTAN ET CELIPROLOL par rapport au CELIPROLOL seul. Ces résultats très encourageants vont amener les praticiens à prescrire l'IRBESARTAN en complément du CELIPROLOL

L'étude ARCADE a été publiée en février 2025 dans la revue CIRCULATION. L'association DAVID y est remerciée ..

4 PROJET VASCLEDS (VAscular Aspects in Classical like Ehlers-Danlos Syndrome :

Elucidation des mécanismes responsables de la fragilité vasculaire dans le Syndrome d'Ehlers Danlos classical like (SEDcl)

Porteur de projet : Pr ULRICH VALCOURT UNR 5305 CNRS Lyon

Le SED cl est une forme très rare des SED caractérisé par une déficience totale en Ténascéine X (TNX) une protéine de la matrice extra cellulaire. Les patients atteints de SEDcl présentent des complications hémorragiques allant de la formation d'ecchymose (85% des patients) à des complications hémorragiques graves.

Le but de cette étude vise à démontrer le rôle de la TNX dans l'architecture et la fonction vasculaire, grâce à une approche intégrée, à l'aide de modèles murins, afin de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques pour les patients.

Pour ce projet, l'association DAVID a financé le salaire d'un Assistant-ingénieur pour 4 mois supplémentaires ainsi que du matériel (20 000 €). Grâce à ce financement le jeune assistant a pu présenter le concours de l'Ecole Doctorale et a obtenu un contrat doctoral qui lui finance sa thèse pour les 3 années à venir et lui permettra de poursuivre le projet. L'équipe de chercheurs nous a adressé ses remerciement chaleureux pour ce soutien

PROJETS QUI VONT ÊTRE SOUTENUS EN 2025

Lors de la réunion du CA du 16 février et suite à, la demande du Pr Jeunemaitre et du Pr Mirault, le choix des projets de recherche soutenus par l'association, DAVID sont les suivants :

- **1 POURSUITE DU SOUTIEN AU PROJET ASTRA-VEDS (25 000 €)**

Financement d'un stage pour une étudiante en M2 pour 6 mois, et achat de matériel.

- **2 POURSUITE DU SOUTIEN AU PROJET MACITENTAN. (25 000 €)**

Financement partiel d'un Aide ingénieur pour 1 an.

Ces 2 projets feront l'objet d'une convention de Mécénat avec la Fondation Robert Debré de l'APhP

- **3- RaDiCoSEdVasc : AIDE AU FINANCEMENT D'UN TEC (Technicien d'Etude Clinique) pour 1 an afin de finaliser les données de la cohorte (50 000 €)**

La cohorte RaDiCoSEdVasc est une étude non interventionnelle, multicentrique nationale, longitudinale promue par l'Inserm, et coordonnée par le Professeur Xavier JEUNEMAITRE . Cette cohorte a reçu une aide de l'état gérée par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) dans le cadre du Programme « Cohortes » des Investissements d'Avenir (PIA). Elle a été lancée le 01/12/2016., la dernière inclusion a eu lieu de 31/12/2023.

Il s'agit de *la plus importante cohorte mondiale de patients atteints de SEDV*. Les patients ont été inclus dans le CR et les 16 CC répartis en France. 5 publications ont déjà pu être effectuées grâce à cette cohorte.

L'aide d'un TEC est indispensable pour entrer les données et les exploiter au mieux.

Ce projet fera l'objet d'une convention avec l'unité de Recherche Clinique de l'HEGP.

4- POURSUITE DU SOUTIEN AU PROJET VASCLEDS (20 000€)

Ce soutien sera effectif au 2 ème semestre de l'année 2025, conformément à la demande du Pr Valcourt.

Encore un immense merci à vous tous qui nous soutenez et permettez ainsi la poursuite des travaux de recherche, et leurs futures implications thérapeutiques.

Claire GUERRIER

Présidente de l'Association DAVID