

# Evaluation des altérations endothéliales et cardiaques dans un modèle murin de purpura thrombotique thrombocytopénique

Maëlle Le Besnerais/Ygal Benhamou  
Service de Médecine Interne  
CHU Rouen



---

Unité INSERM U770 Kremlin Bicêtre : Dr Cécile Denis et Pr Agnès Veyradier

Université du Michigan : Pr D Motto

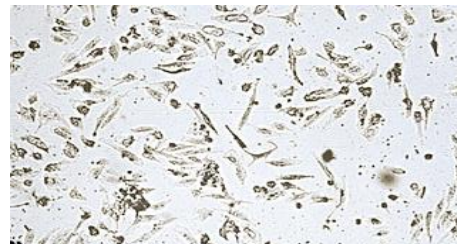
Laboratoire Baxter : Dr Alexandra Schiviz

- **Perte des propriétés physiologiques de l'endothélium :**
  - ✓ Sécrétion du facteur Von Willebrand (FVW), expression de molécules d'adhésion
  - ✓ Diminution de la synthèse de prostacycline

Mitra et al. 1997, Blood

Incubation	Normal Plasma		TTP-2 Plasma	
	Dermal	Pulmonary	Dermal	Pulmonary
Baseline (2 h)	535	448	562	448
16 h	2,417 (4.5)	906 (2.0)	1,797 (3.2)	762 (1.7)
16 h, stimulated	1,743 (3.3)	10,756 (24.0)	1,904 (3.4)	8,197 (18.3)

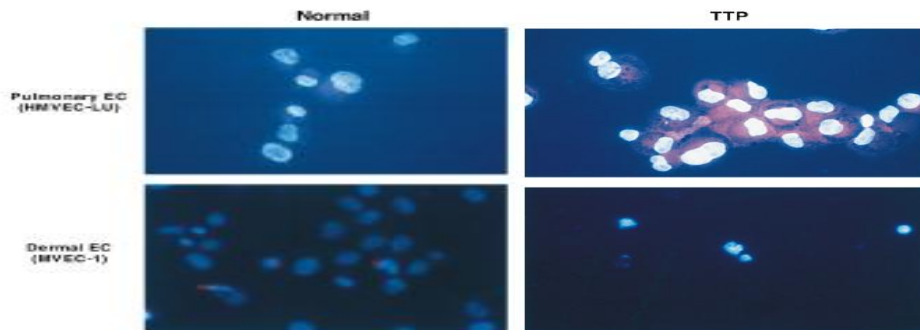
- **Cytotoxicité directe objectivée en anatomopathologie :**



Jimenez et al. 2001, Br. J. Haematol.

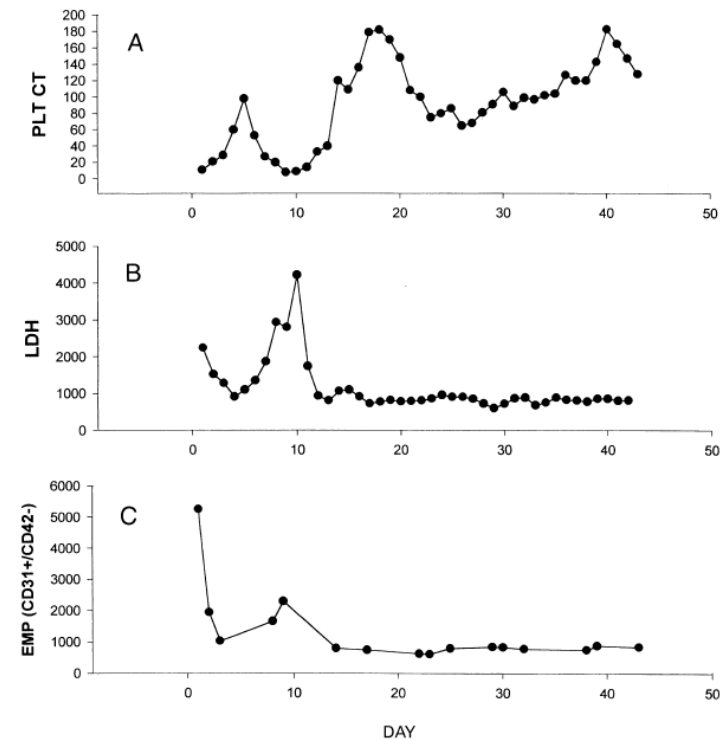
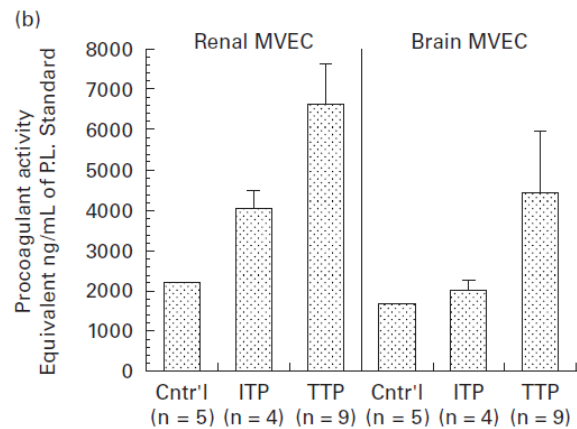
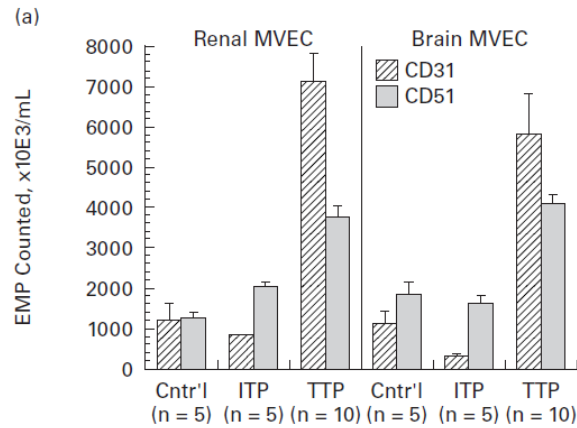
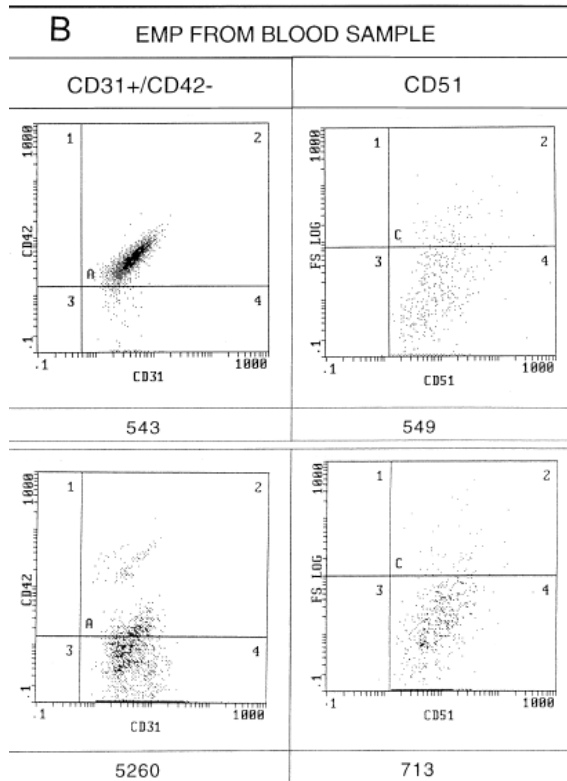
## ■ Apoptose :

- ✓ Le plasma de PTT induit l'apoptose des cellules endothéliales
- ✓ Expression de Fas (CD95)



EC lineage	Dermal	Renal
Cell line designation	MVEC-2	HMVEC-G
Baseline Fas mRNA, fg/ $\mu$ g RNA*	17.7	3.9
1% TTP plasma, without clinical renal dysfunction, fold $\Delta$ Fas mRNA	1.2 $\uparrow$	1.5 $\uparrow$

## ■ Production de Microparticules endothéliales : pro-coagulantes





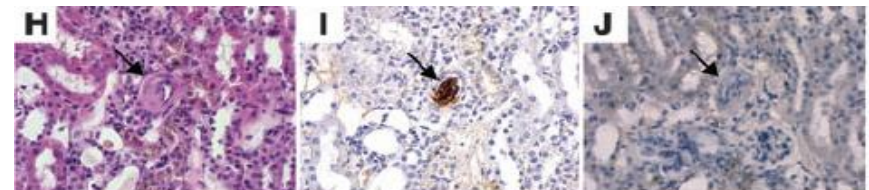
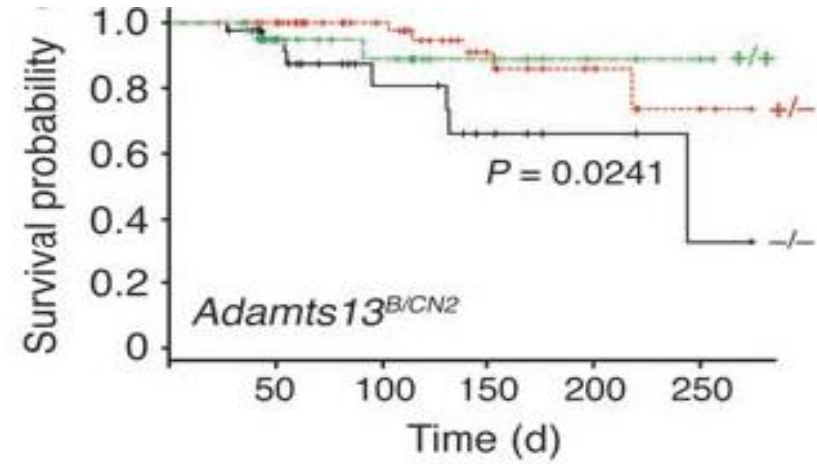
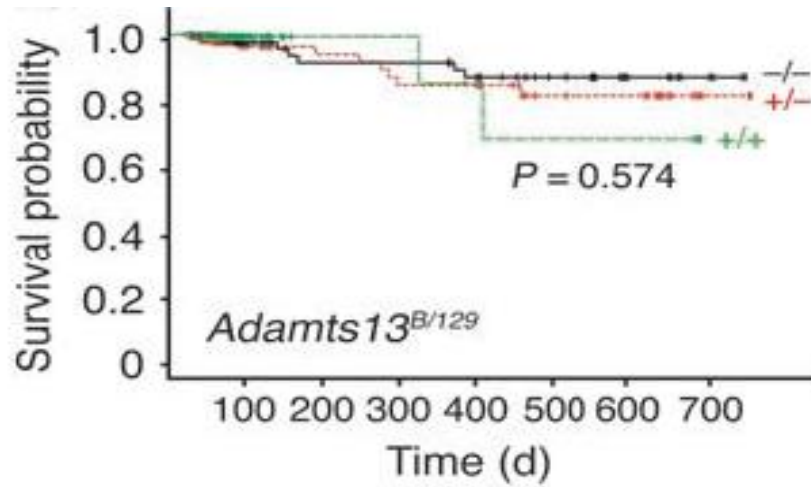
C57Bl6-Adamts13 -/-



C57Bl6-Adamts13 -/-

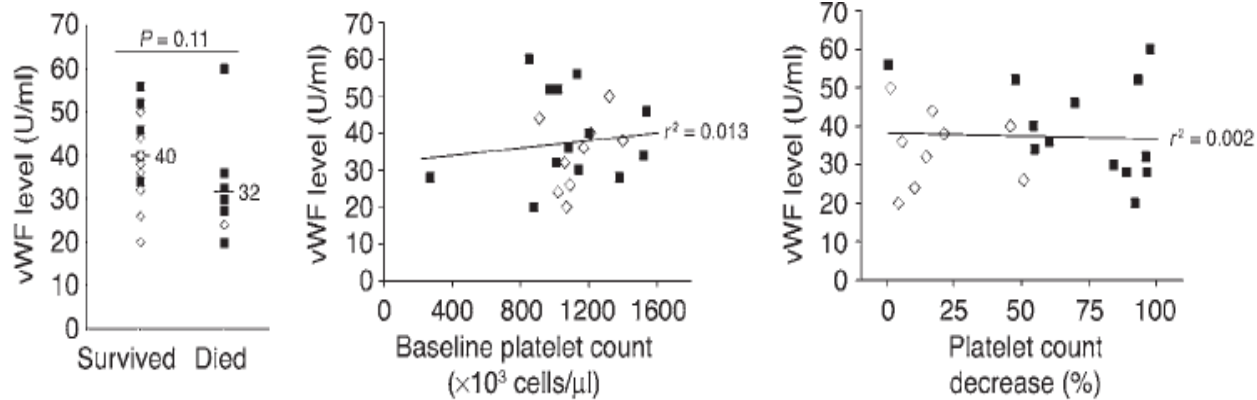


Casa,rk



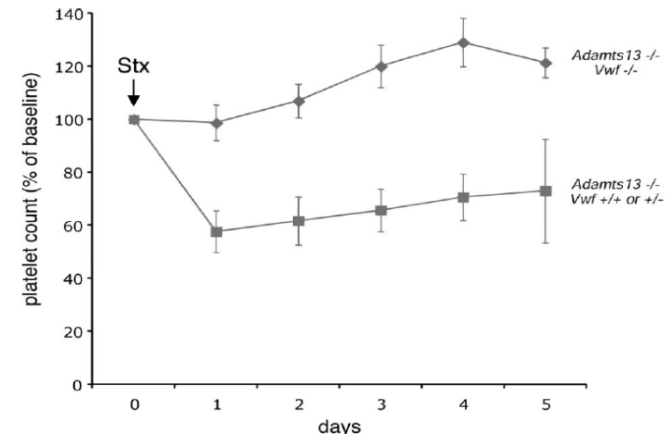
Motto et al. 2005, J Clin Inv

- Absence de corrélation entre le taux de FvW et les manifestations de MAT



Motto et al. 2005, JCI

- FvW nécessaire à la survenue de la thrombopénie



Chauhan et al. 2008, Blood

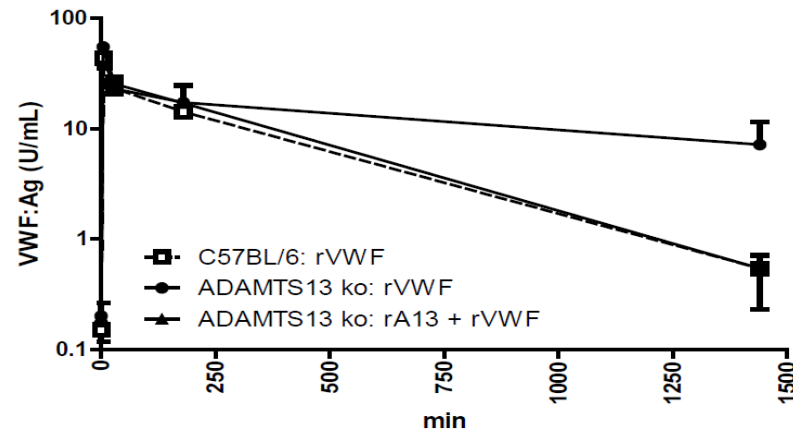
- Seuil de FvW nécessaire au déclenchement de la MAT



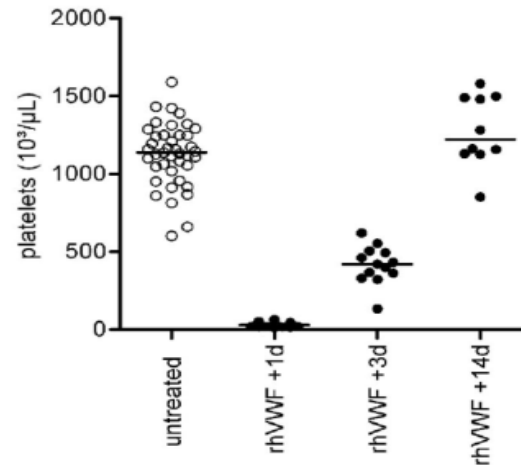


C57Bl6-Adamts13 -/-

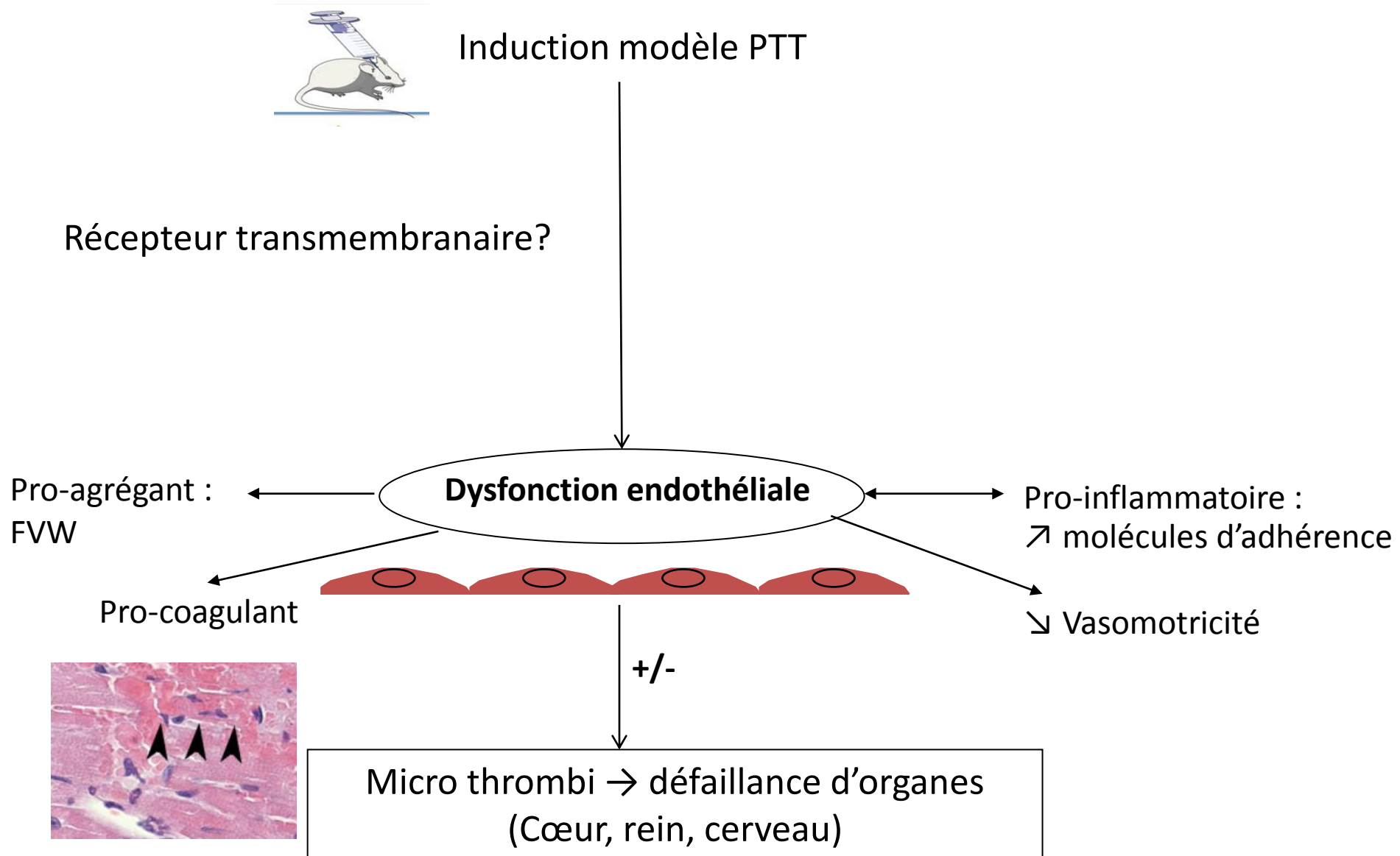
- Augmentation du taux de FVW et UL vWF



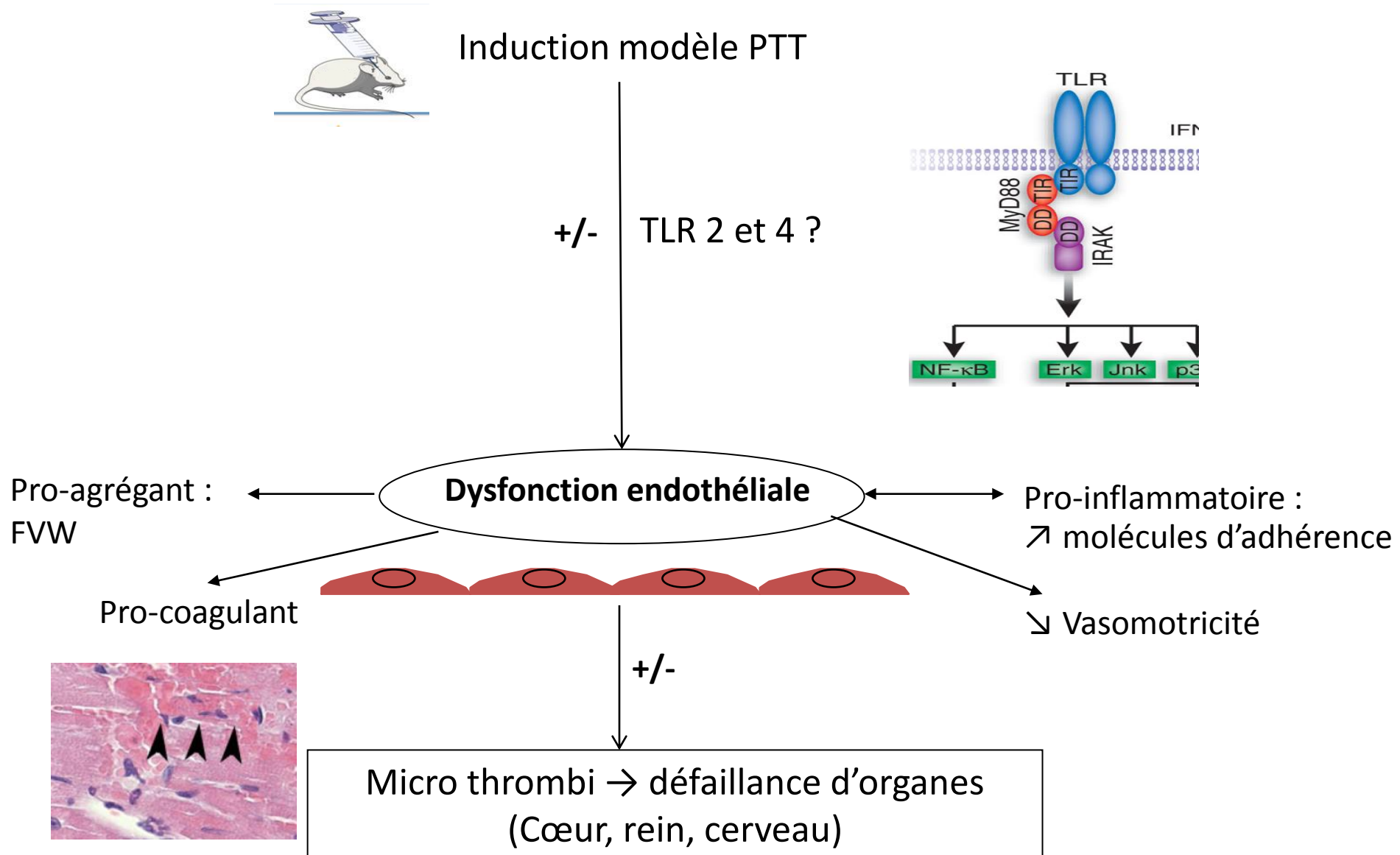
- Apparition de thrombose, thrombocytopénie







# Hypothèse de travail



# Pourquoi les TLR ?

## ■ PTT : modèle d'activation de l'endothélium en 2 coups :

- ✓ Anticorps → récepteur membranaire → cascade de signalisation
- ✓ Facteur déclenchant souvent retrouvé (infection, sepsis, grossesse)

## ■ Voie de signalisation vers l'endothélium

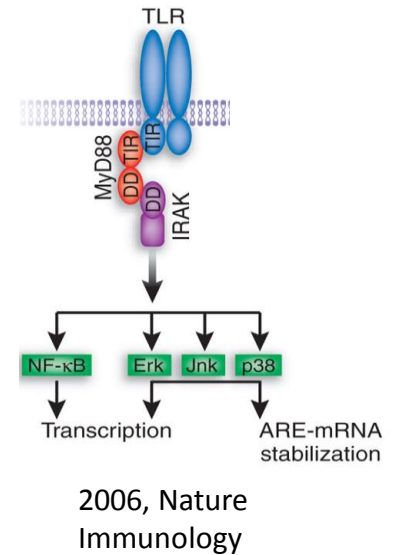
- ✓ TLR 2 et 4 présents sur la cellule endothéliale
- ✓ Activés par ligands endogènes et exogènes (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>...)

## ■ Cytokines pro-inflammatoires :

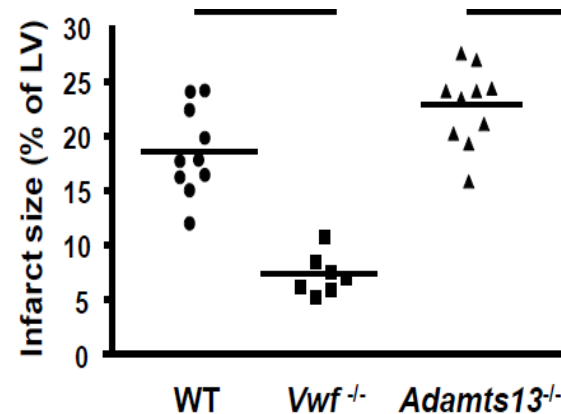
- ✓ IL8 et TNF alpha favorise la sécrétion du FVW
- ✓ IL6 diminue l'activité ADAMTS13

Bernardo et al. 2004, Blood

## ■ Implication des TLR dans des modèles de dysfonction endothéliale (SAPL, choc hémorragique, ischémie-reperfusion cardiaque)



- **Sous-estimation : 15 à 60% des cas de PTT**
- **Caractéristiques mal connues :**
  - ✓ Infra clinique
  - ✓ Autopsies
- **Rôle pronostique : décès 46%**
- **Le déficit en ADAMTS 13 exacerbe l'ischémie-reperfusion**



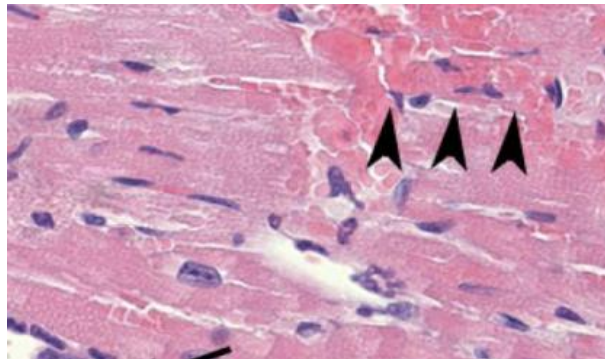
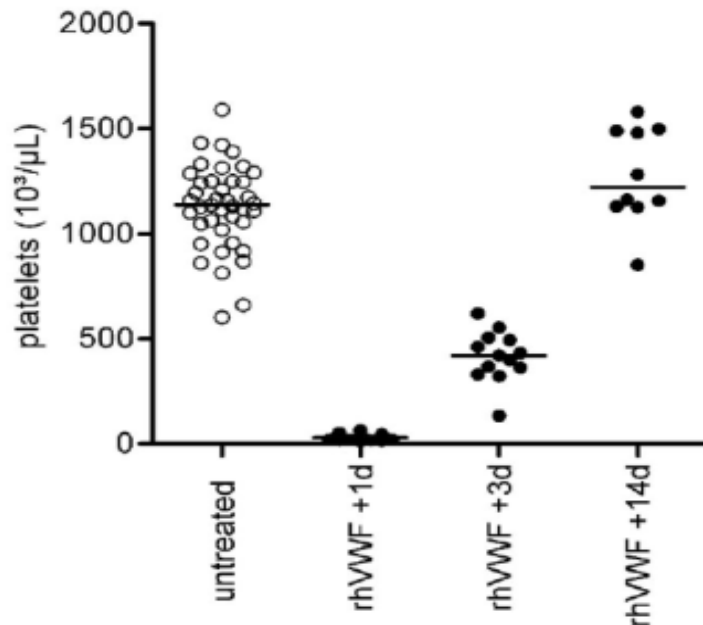
# Objectifs de l'étude

---

- **Objectif principal :**
  - ✓ Caractériser la dysfonction endothéliale mésentérique et coronaire au cours d'un modèle murin induit de PTT
  
- **Objectifs secondaires :**
  - ✓ Etudier le phénotype endothélial rénal après mise au point de la technique
  - ✓ Evaluer la fonction cardiaque
  - ✓ Evaluer l'implication des TLR2 et 4 (Etude en cours)

## ■ Mise en place du modèle :

- ✓ Souris mâles âgés de 8 à 10 semaines génétiquement déficientes en ADAMTS13 (B6.129-ADAMTS13tm1dgi) et WT (B6.129) : Pr D Motto (Michigan) via INSERM U770 Kremlin Bicêtre
- ✓ Injection de FVW recombinant (Baxter) ou placebo : 10 $\mu$ L/g

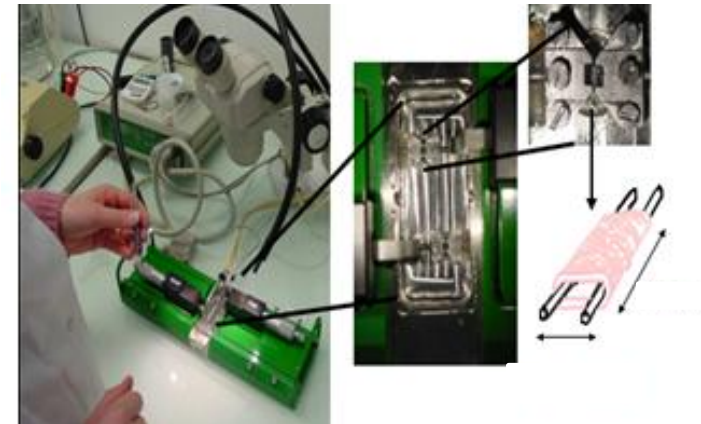
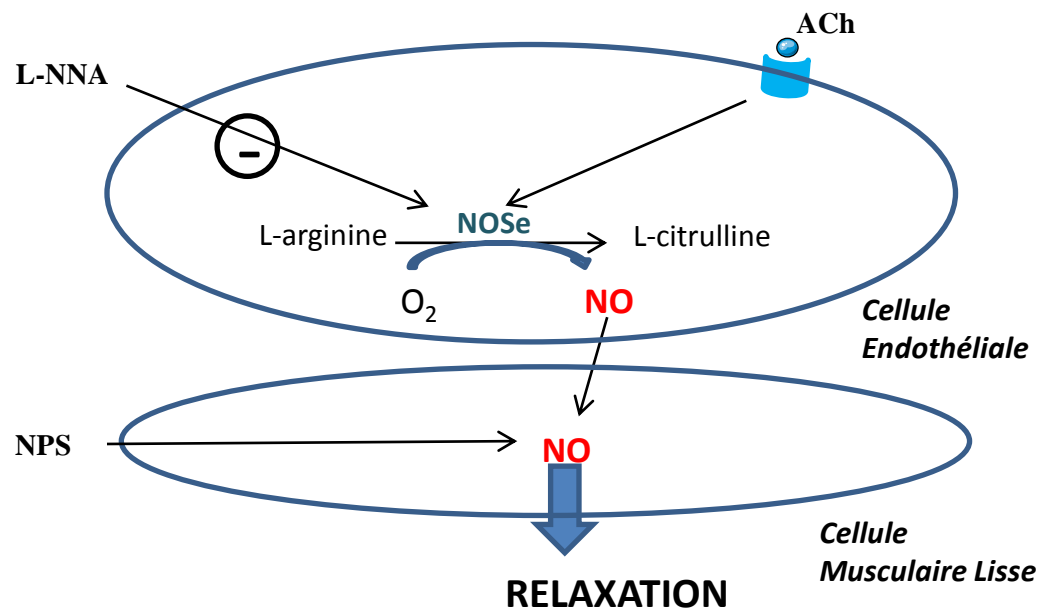


- **4 groupes :**
  - ✓ WT (n=7)
  - ✓ WT+FVW (n=6)
  - ✓ KO (n=5)
  - ✓ KO+FVW (n=6)

- Accord du comité éthique animal

## ■ Exploration de l'endothélium

- ✓ Etude fonctionnelle : artères coronaires mésentériques et rénales



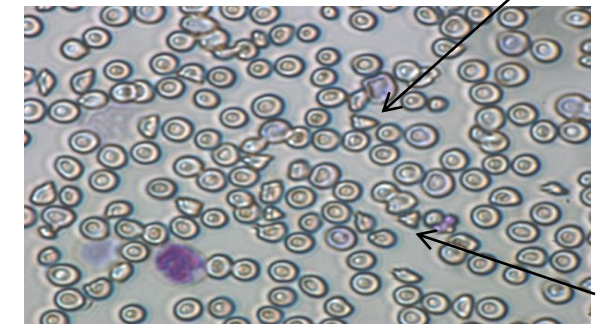
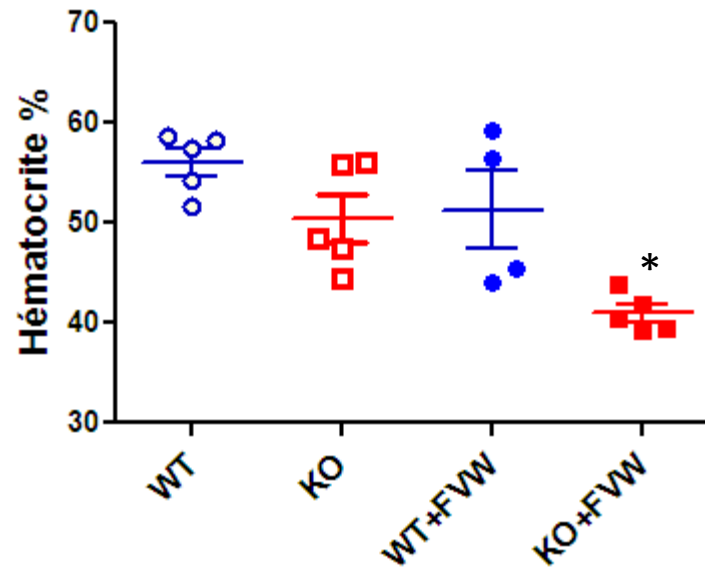
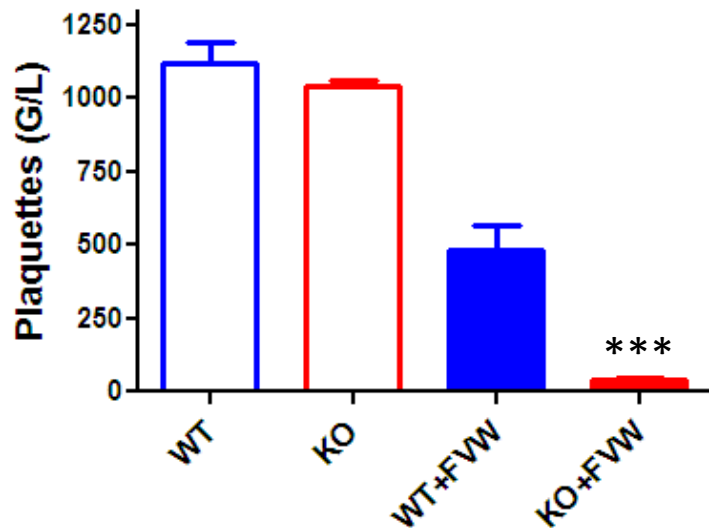
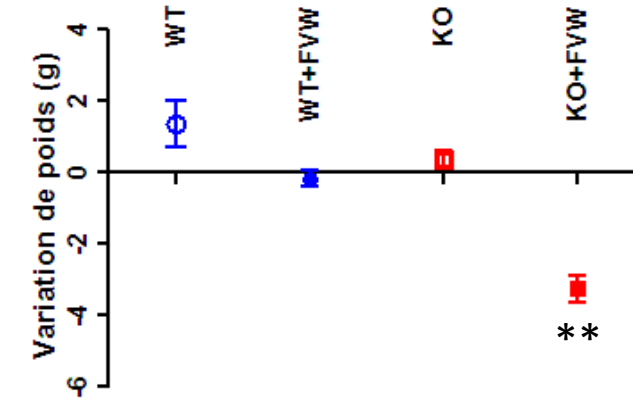
*Myographe de Mulvany*



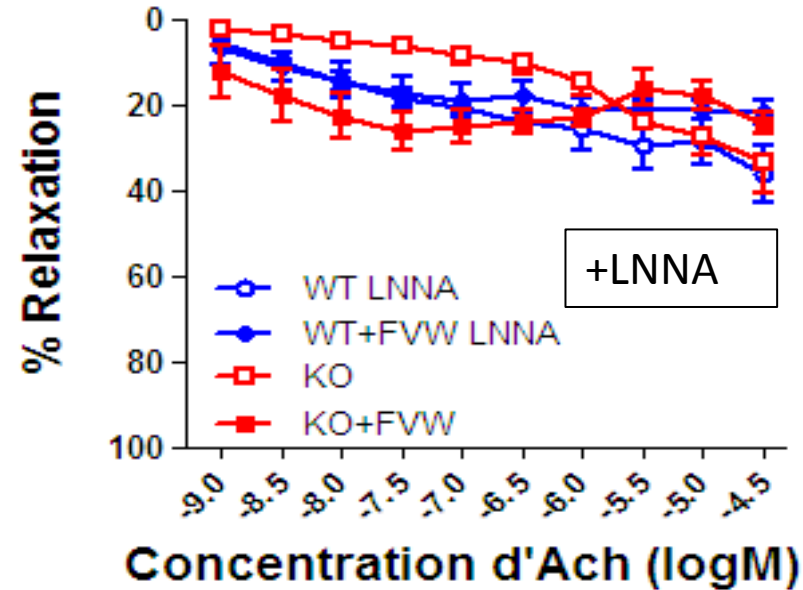
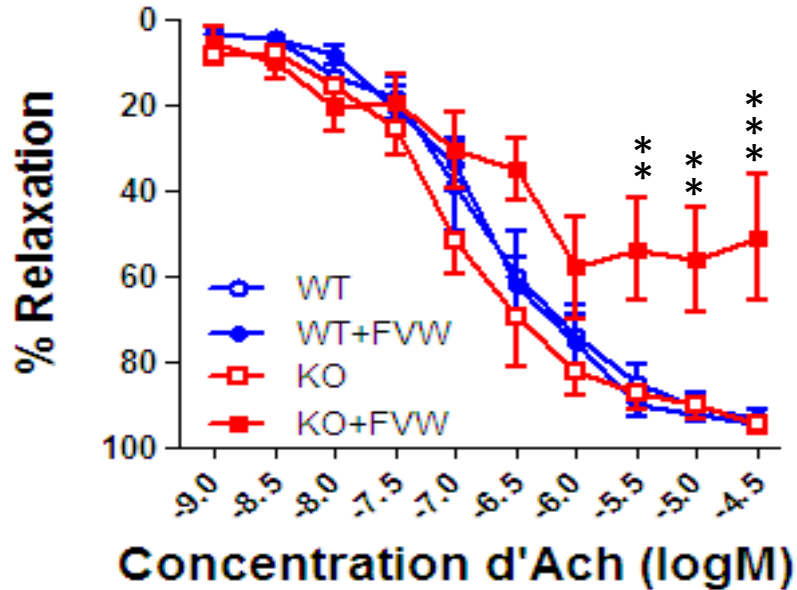


# Résultats : Reproduction du modèle

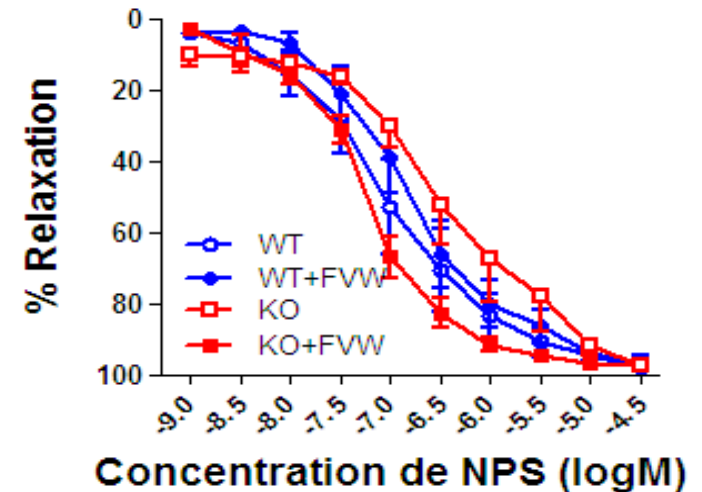
Symptômes	Dyspnée	Piloérection	Dépression	Prostration
WT+FVW	0	0	0	0
KO+FVW	1	2	3	1



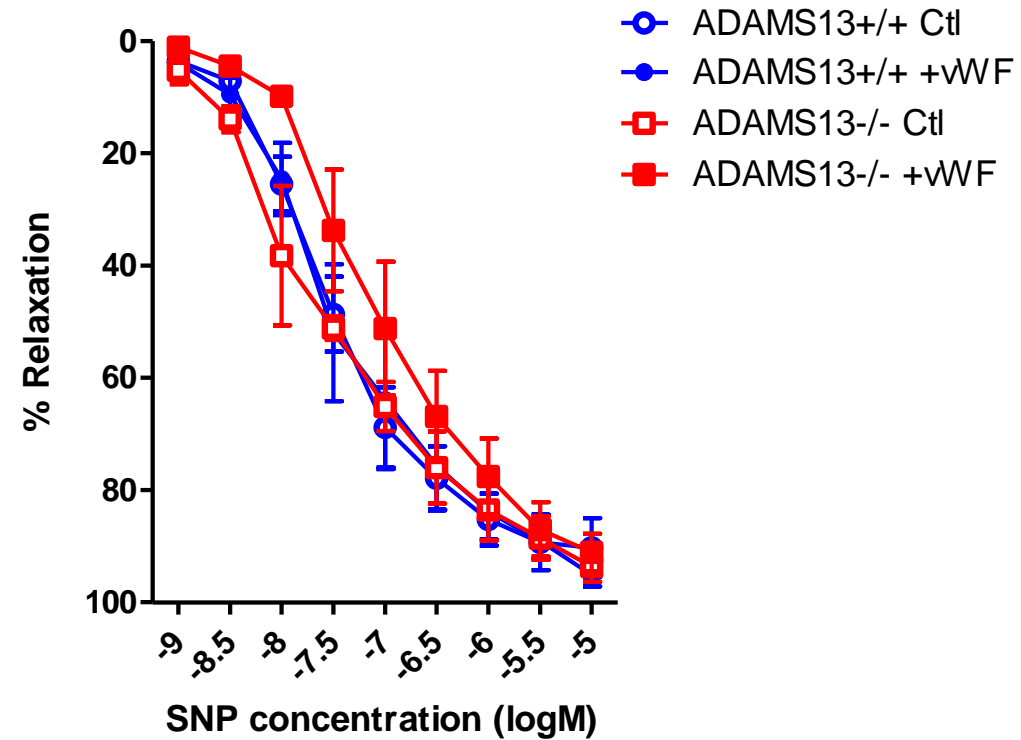
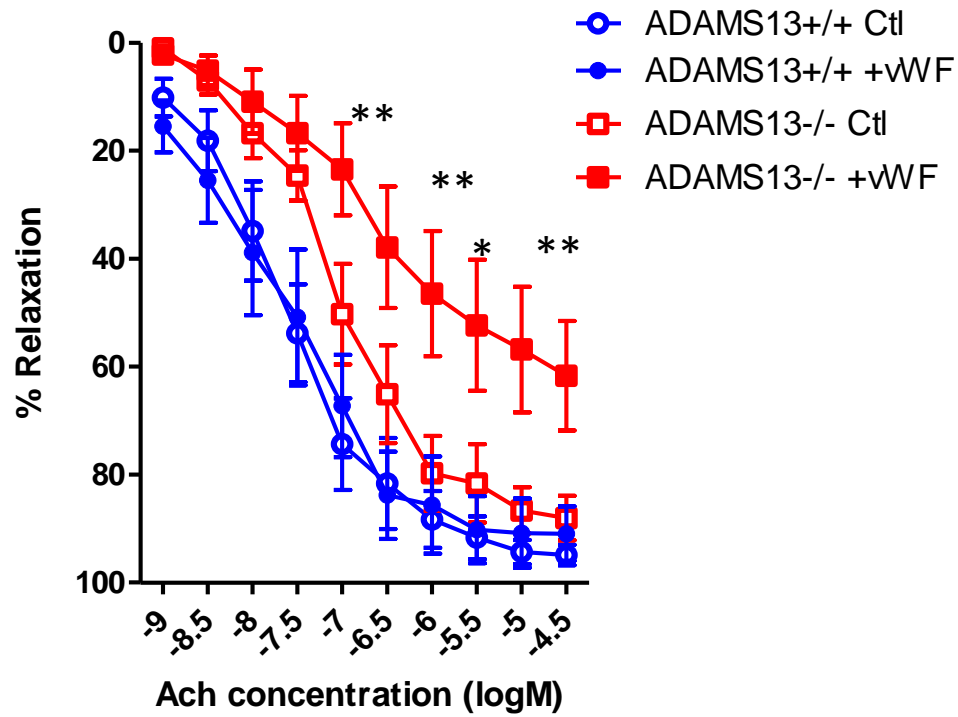
\* p<0,05  
\*\* p<0,01  
\*\*\* p<0,001



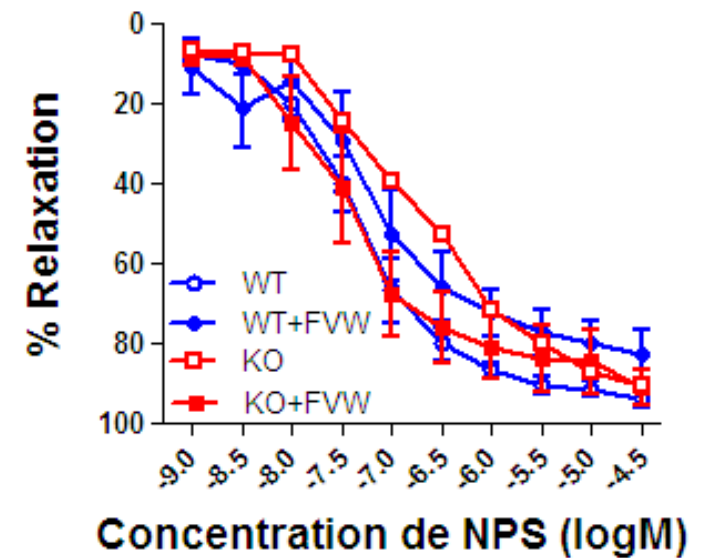
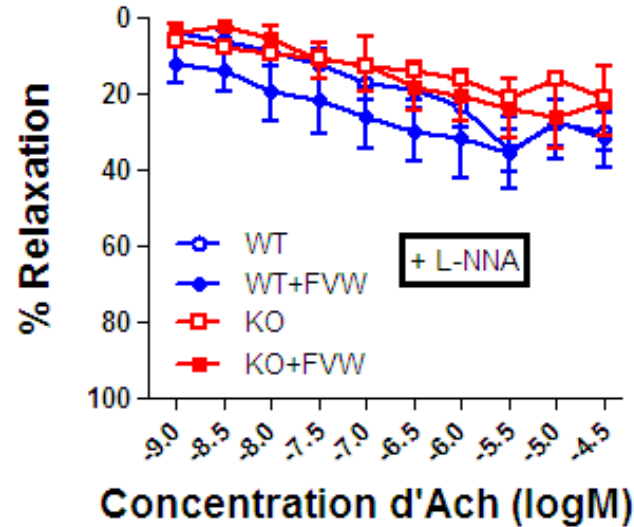
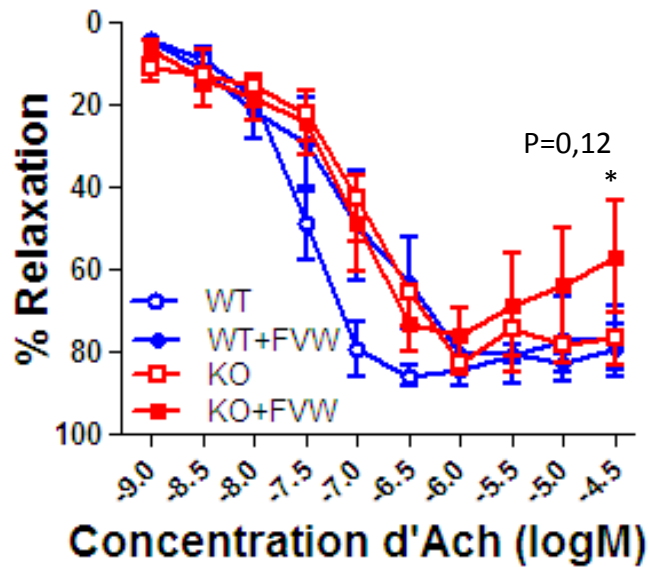
\* p<0,05  
\*\* p<0,01  
\*\*\* p<0,001

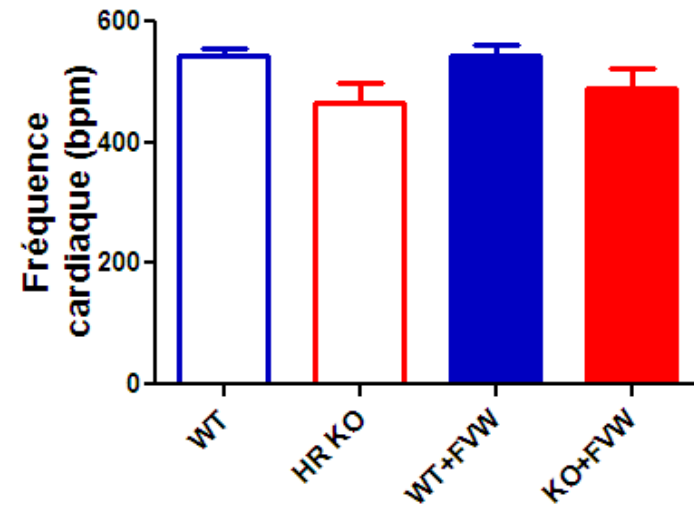
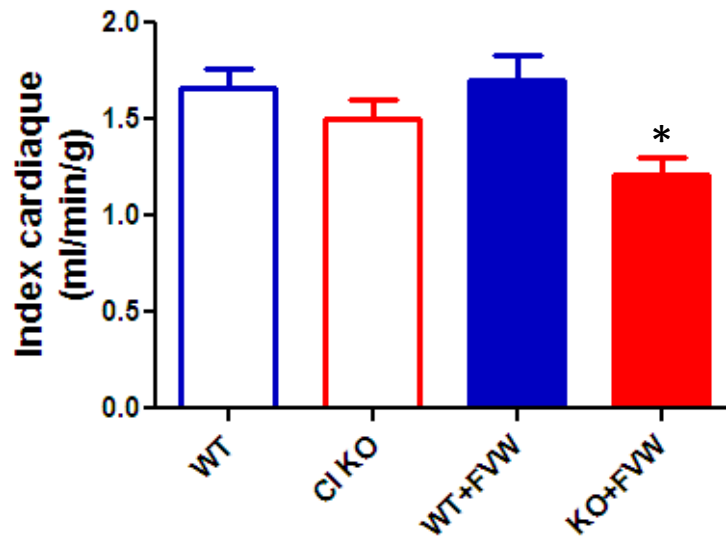
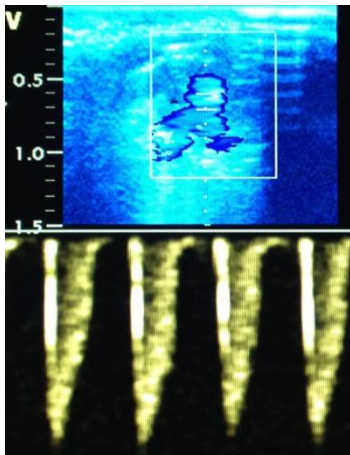
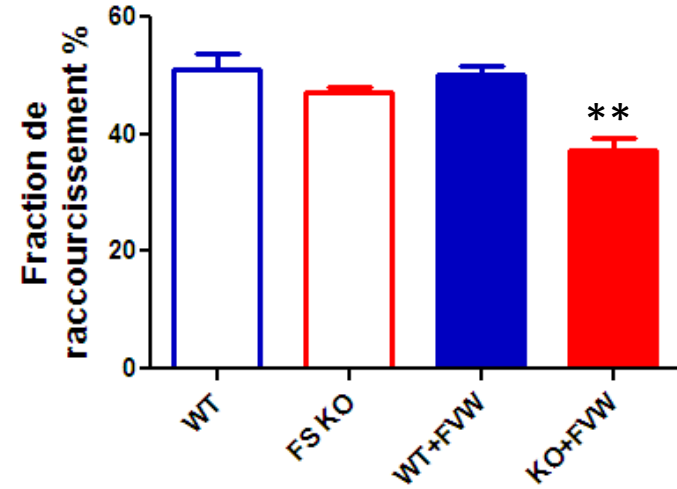
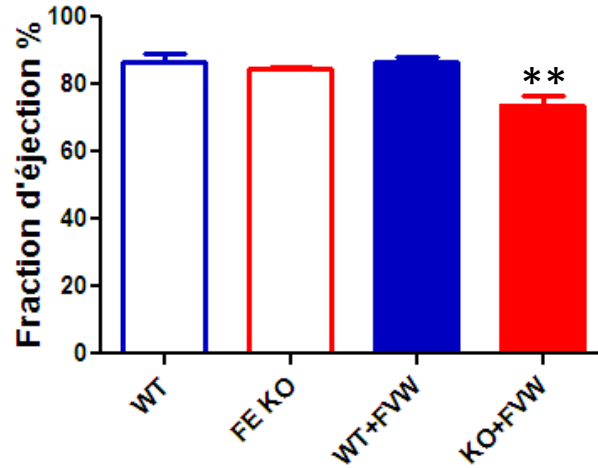
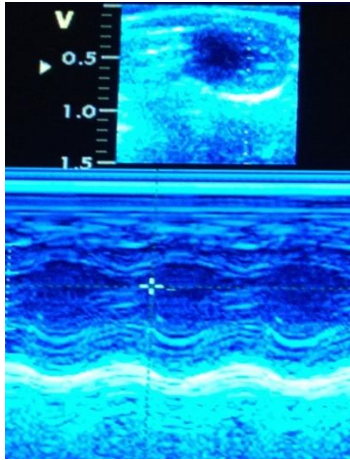


➔ Dysfonction endothéliale méésentérique



# Résultats : artères rénales



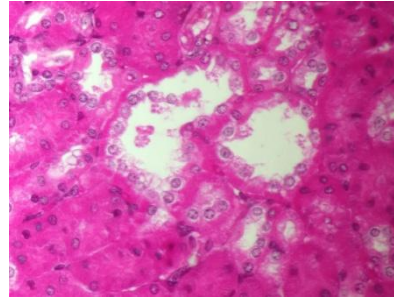


- Mise en évidence d'une dysfonction systolique

# Résultats : Histologie

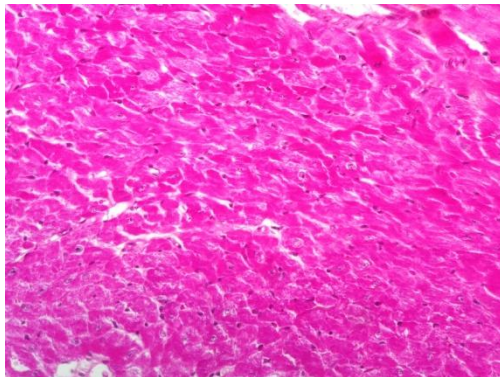
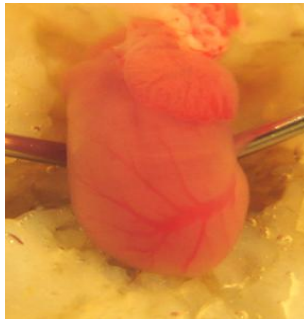
Rénale :

- Nécrose tubulaire modérée
- 2 souris

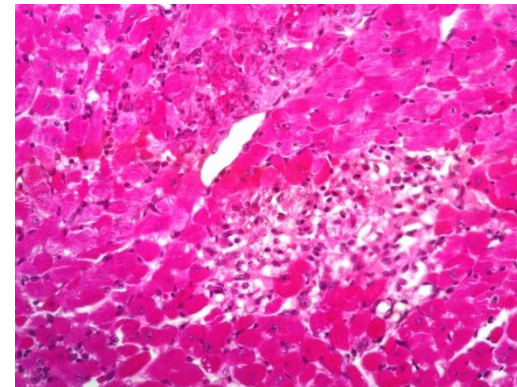
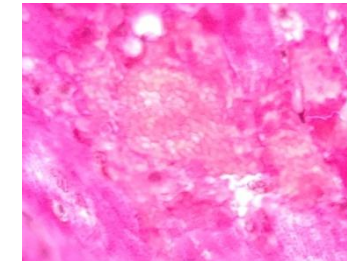
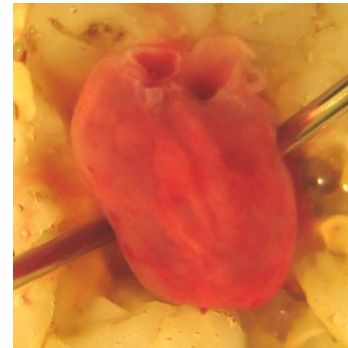


Cardiaque :

Témoins



KO+FWW



- ✓ Résultats intermédiaires car n=3 dans 2 groupes
  - ✓ WT
  - ✓ KO+FVW

Dysfonction systolique présente

Absence de troubles de la perfusion

- **Première mise en évidence d'une dysfonction endothéliale au cours du PTT**
  - ✓ Par méthode d'exploration fonctionnelle de l'endothélium (vasorelaxation)
  - ✓ Confirmation des résultats des études impliquant l'endothélium par mesures indirectes (biologie)
  - ✓ Première approche sur plusieurs territoires vasculaires (mésentérique et surtout coronaire)
- **Atteinte cardiaque :**
  - ✓ Mise en évidence d'une dysfonction systolique
  - ✓ Foyer de nécrose myocardique
- **Atteinte rénale :**
  - ✓ Nouvelle technique au sein du laboratoire
  - ✓ Etude endothéliale des artères principales et non des capillaires péri-tubulaires
  - ✓ Résultats cohérents par rapport atteinte au modèle de référence



# Conclusion / perspectives

---

Acquisition et validation d'un nouveau modèle de dysfonction endothéliale mésentérique et coronaire

Mise en évidence d'une dysfonction endothéliale mésentérique et coronaire



Corrélation aux dysfonctions d'organes des marqueurs biologiques (Créatinine, NT Pro-BNP, Troponine)

Compléter l'analyse myocardique par une IRM (évaluation de la perfusion)



**Approche mécanistique : Evaluation de l'implication de la voie des TLRs**



Nouvelles approches pharmacologiques de protection endothéliale

Diminuer les dommages myocardiques