Avis de Soutenance

Madame Claire GUIOL

Biologie-Santé - Spécialité Pathologie Vasculaire et Nutrition

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Système adénosinergique et physiopathologie cardiovasculaire : étude de son rôle dans les maladies cardiovasculaires, dont la toxicité à l'anthracycline doxorubicine, par une approche translationnelle et fondamentale.

dirigés par Madame Giovanna MOTTOLA et Madame Nathalie LALEVEE

Thèse soutenue le mardi 12 décembre 2023 à 14h00

Lieu : Site Timone. Faculté des sciences médicales et paramédicales. Aix-Marseille Université 27 bd

Jean Moulin - 13005 Marseille

Salle : de thèse 2 - Bâtiment Médecine Timone

Composition du jury proposé

Mme Giovanna MOTTOLA	Aix Marseille Université - C2VN	Directrice de thèse
M. Jean-Jacques RISSO	Institut de Recherche Biomédicale des Armées	Rapporteur
M. Frank LEZOUALC'H	Université de Toulouse	Rapporteur
Mme Rosa-Maria GUÉANT- RODRIGUEZ	Université de Lorraine	Examinatrice
Mme Nathalie LALEVÉE	Université Aix-Marseille - C2VN	Co-directrice de thèse
M. Régis GUIEU	Aix-Marseille Université - C2VN	Président
M. François SILHOL	AP-HM	Invité

Mots-

Adénosine, Récepteurs adénosinergiques, Cardiotoxicité, Doxorubicine, Maladies

clés:

cardiovasculaires, hiPSC,

Résumé:

L'adénosine est un nucléoside purique ubiquitaire, issue majoritairement de la dégradation de l'ATP. Elle exerce de nombreux effets au sein du système cardiovasculaire par l'activation de ses quatre récepteurs couplés aux protéines G, qui régulent le taux d'AMPc intracellulaire via l'adénylate cyclase. L'adénosine exerce des effets cardioprotecteurs notamment dans la régulation du flux sanguin coronaire et périphérique, particulièrement au travers de ses récepteurs A2A. Dans des conditions pathologiques, telles que l'ischémie, l'inflammation, ou la fibrose, des changements au sein du système adénosinergique ont été observés, décrivant des taux plasmatiques d'adénosine variables, capables de réguler de manière complexe l'activité de ses quatre récepteurs. Ces changements pourraient être en partie la cause de maladies cardiovasculaires, participer à leur

progression, ou encore protéger contre les dysfonctions liées à ces maladies. Au cours de nos travaux, l'objectif était de caractériser le rôle de l'adénosine et de ses récepteurs, et plus particulièrement les récepteurs A1, A2A, et A2B, dans diverses affections cardiovasculaires. Dans une première partie plus translationnelle de nos travaux, nous avons travaillé sur des échantillons de patients atteints de maladies coronariennes (CAD), de fibrillation atriale (FA) et de dysplasie fibromusculaire (DFM). Une adénosinémie plus élevée a été retrouvée chez tous les patients quelle que soit la pathologie. Nous avons ensuite caractérisé le profil d'expression des récepteurs adénosinergiques dans les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) de ces patients. Ces travaux ont révélé une expression des A2AR plus élevée chez les patients atteints de CAD, ainsi qu'une corrélation négative entre l'hyperhomocystéinémie, qui constitue un facteur de risque dans cette maladie, et l'expression des A2AR. Une surexpression des A2AR et A2BR a été retrouvée chez les patients ayant une FA péri-opératoire. Enfin, la surexpression des A2BR a été associée à la DFM, sachant qu'une telle surexpression de ces récepteurs a rarement été évoquée. Aucun changement dans l'expression des récepteurs A1 n'a été retrouvé dans la FA, ni la DFM. Dans la deuxième partie de nos travaux, au travers d'une étude fondamentale, nous avons étudié l'implication des A2AR dans la cardiotoxicité induite par la doxorubicine (DOX) dans des cellules endothéliales différenciées à partir de cellules souches humaines pluripotentes induites (hiPSC-EC) issues d'une personne saine. Une baisse de l'expression du gène codant pour les récepteurs A2A et une augmentation de l'expression du gène codant pour les récepteurs A2B étaient induites après traitement par la doxorubicine. Des changements dans l'expression de plusieurs gènes de la voie de l'AMPc ont également été retrouvés après ce traitement par la DOX. L'activation des A2AR a amélioré la viabilité des hiPSC-EC traitées par la DOX, mais uniquement lorsqu'elle était induite avant ou en même temps que la DOX. Cet effet pourrait être associé à la baisse du transcrit de la PKA, réquiée par l'activation des A2AR préalablement au traitement par la DOX. Ces résultats sont encore à confirmer au niveau protéique et fonctionnel. En conclusion, l'ensemble de nos travaux démontre que le système adénosinergique, et en particulier les récepteurs A2A et A2B, ont un rôle important dans les maladies cardiovasculaires, incluant les cardiotoxicités induites par la DOX. L'analyse du profil adénosinergique pourrait être un outil important dans le diagnostic et le pronostic des maladies cardiovasculaires. L'utilisation d'un modèle cellulaire innovant, les cellules cardiaques dérivés d'hiPSC provenant de patients porteurs de maladies cardiovasculaires, pourra à l'avenir nous aider à caractériser l'implication du système adénosinergique dans la, physiopathologie cardiovasculaire.

i

Résumé

L'adénosine est un nucléoside purique ubiquitaire, issue majoritairement de la dégradation de l'ATP. Elle exerce de nombreux effets au sein du système cardiovasculaire par l'activation de ses quatre récepteurs couplés aux protéines G, qui régulent le taux d'AMPc intracellulaire via l'adénylate cyclase. L'adénosine exerce des effets cardioprotecteurs notamment dans la régulation du flux sanguin coronaire et périphérique, particulièrement au travers de ses récepteurs A_{2A}. Dans des conditions pathologiques, telles que l'ischémie, l'inflammation, ou la fibrose, des changements au sein du système adénosinergique ont été observés, décrivant des taux plasmatiques d'adénosine variables, capables de réguler de manière complexe l'activité de ses quatre récepteurs. Ces changements pourraient être en partie la cause de maladies cardiovasculaires, participer à leur progression, ou encore protéger contre les dysfonctions liées à ces maladies.

Au cours de nos travaux, l'objectif était de caractériser le rôle de l'adénosine et de ses récepteurs, et plus particulièrement les récepteurs A_1 , A_{2A} , et A_{2B} , dans diverses affections cardiovasculaires.

Dans une première partie plus translationnelle de nos travaux, nous avons travaillé sur des échantillons de patients atteints de maladies coronariennes (CAD), de fibrillation atriale (FA) et de dysplasie fibromusculaire (DFM). Une adénosinémie plus élevée a été retrouvée chez tous les patients quelle que soit la pathologie. Nous avons ensuite caractérisé le profil d'expression des récepteurs adénosinergiques dans les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) de ces patients. Ces travaux ont révélé une expression des A_{2A}R plus élevée chez les patients atteints de CAD, ainsi qu'une corrélation négative entre l'hyperhomocystéinémie, qui constitue un facteur de risque dans cette maladie, et l'expression des A_{2A}R. Une surexpression des A_{2A}R et A_{2B}R a été retrouvée chez les patients ayant une FA péri-opératoire. Enfin, la surexpression des A_{2B}R a été associée à la DFM, sachant qu'une telle surexpression de ces récepteurs a rarement été évoquée. Aucun changement dans l'expression des récepteurs A₁ n'a été retrouvé dans la FA, ni la DFM.

Dans la deuxième partie de nos travaux, au travers d'une étude fondamentale, nous avons étudié l'implication des A_{2A}R dans la cardiotoxicité induite par la doxorubicine (DOX) dans des

cellules endothéliales différenciées à partir de cellules souches humaines pluripotentes induites (hiPSC-EC) issues d'une personne saine. Une baisse de l'expression du gène codant pour les récepteurs A_{2A} et une augmentation de l'expression du gène codant pour les récepteurs A_{2B} étaient induites après traitement par la doxorubicine. Des changements dans l'expression de plusieurs gènes de la voie de l'AMPc ont également été retrouvés après ce traitement par la DOX. L'activation des A_{2A}R a amélioré la viabilité des hiPSC-EC traitées par la DOX, mais uniquement lorsqu'elle était induite avant ou en même temps que la DOX. Cet effet pourrait être associé à la baisse du transcrit de la PKA, régulée par l'activation des A_{2A}R préalablement au traitement par la DOX. Ces résultats sont encore à confirmer au niveau protéique et fonctionnel.

En conclusion, l'ensemble de nos travaux démontre que le système adénosinergique, et en particulier les récepteurs A_{2A} et A_{2B}, ont un rôle important dans les maladies cardiovasculaires, incluant les cardiotoxicités induites par la DOX. L'analyse du profil adénosinergique pourrait être un outil important dans le diagnostic et le pronostic des maladies cardiovasculaires. L'utilisation d'un modèle cellulaire innovant, les cellules cardiaques dérivés d'hiPSC provenant de patients porteurs de maladies cardiovasculaires, pourra à l'avenir nous aider à caractériser l'implication du système adénosinergique dans la physiopathologie cardiovasculaire.

<u>Mots-clés</u>: Adénosine, Récepteurs adénosinergiques, Coronaropathie, Fibrillation atriale, Dysplasie fibromusculaire, Cardiotoxicité, Doxorubicine

Abstract

Adenosine is a ubiquitous purine nucleoside, derived mainly from ATP degradation. It exerts numerous effects on the cardiovascular system through activation of its four G protein-coupled receptors, which regulate intracellular cAMP levels via adenylate cyclase. Adenosine exerts cardioprotective effects, notably in the regulation of coronary and peripheral blood flow, in particular via its A_{2A} receptors. In pathological conditions, such as ischemia, inflammation or fibrosis, changes in the adenosinergic system have been observed, describing variable plasma adenosine levels capable of regulating the activity of its four receptors in a complex manner. These changes could be partly responsible for cardiovascular disease, contribute to its progression, or protect against associated dysfunctions.

The aim of our work was to characterize the role of adenosine and its receptors, in particular A_1 , A_{2A} and A_{2B} receptors, in various cardiovascular diseases.

In the first, more translational part of our work, we worked on samples from patients with coronary artery disease (CAD), atrial fibrillation (AF) and fibromuscular dysplasia (FMD). Higher adenosinemia was found in all patients, regardless of pathology. We then characterized the expression profile of adenosinergic receptors in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from these patients. This work revealed a higher A_{2A}R expression in CAD patients, as well as a negative correlation between hyperhomocysteinemia, a risk factor in this disease, and A_{2A}R expression. Overexpression of A_{2A}R and A_{2B}R was found in patients with peri-operative AF. Finally, A_{2B}R overexpression has been associated with FMD, although such an overexpression of these receptors has rarely been reported. No change in A₁ receptor expression was found in FA or DFM.

In the second part of our work, consisting of a fundamental study, we investigated the involvement of $A_{2A}R$ in doxorubicin (DOX)-induced cardiotoxicity in endothelial cells differentiated from human induced pluripotent stem cells (hiPSC-EC) derived from a healthy individual. Doxorubicin treatment induced a decrease in A_{2A} receptor and an increase in A_{2B} receptor gene expression. Changes in the expression of several genes of the cAMP pathway were also found after DOX treatment. Activation of $A_{2A}R$ improved the viability of DOX-treated hiPSC-EC, but only when this activation was induced before or at the same time as DOX. This

effect could be associated with the decrease in PKA transcript, regulated by $A_{2A}R$ activation prior to DOX treatment. These results remain to be confirmed at the protein and functional levels.

In conclusion, our work has shown that the adenosinergic system, and in particular A_{2A} and A_{2B} receptors, play an important role in cardiovascular disease, including DOX-induced cardiotoxicities. Analysis of the adenosinergic profile could be an important tool in the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. The use of an innovative cellular model, hiPSC-derived cardiac cells from patients with cardiovascular disease, could be useful for characterizing the involvement of the adenosinergic system in cardiovascular pathophysiology.

<u>Keywords</u>: Adenosine, Adenosinergic receptors, Coronary artery disease, Atrial fibrillation, Fibromuscular dysplasia, Cardiotoxicity, Doxorubicin