

Titre du projet: «*Mécanismes associés à l'effet pro-angiogénique du miR-126 : modulation de la composition en glycosaminoglycannes*»

Equipe de recherche : Inserm U1148, Laboratory for Vascular Translational Science, *Groupe Biothérapies et Glycoconjugués* (<https://lvts.univ-paris13.fr/>); Université Paris 13, UFR SMBH 74 Rue Marcel Cachin, 93000 Bobigny

Nom du directeur de thèse (50%): Angela Sutton (MCU-PH); angela.sutton@aphp.fr; tél : 01.48.38.73.53

Co-encadrement (50%): Hanna Hlawaty (MCF); hanna.hlawaty@univ-paris13.fr; tél : 01.48.38.77.52

Contexte : L'athérosclérose est une **maladie cardiovasculaire** qui se caractérise par l'obstruction des vaisseaux sanguins suite au dépôt d'une plaque d'athérome entraînant une diminution de l'apport en oxygène et nutriments au niveau des tissus, ce qui provoque une **ischémie**. Les ischémies engendrent un endommagement du **glycocalyx** des cellules endothéliales. Les glycosaminoglycannes (**GAG**) constituant ce glycocalyx sont portés par des protéoglycannes, tels que le **syndécanne-4 (SDC-4)** et sont chargés négativement, interagissant de manière électrostatique avec des **facteurs pro-angiogéniques** comme la chimiokine **CXCL12** et le facteur de croissance **VEGF**. L'angiogenèse est un processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants. Ce phénomène peut être modulé par des micro-ARN, notamment le **miR-126**.

Objectifs : Ce projet a pour objectif de mettre en évidence l'implication d'une modulation de l'expression du SDC-4 et de la composition des GAG par le miR-126 impliqué dans le processus d'angiogenèse. Cette étude s'articule autour de **deux volets principaux** : **A-Etude fondamentale** : vise à étudier *in vitro* le rôle du miR-126 dans l'expression du SDC-4 et des GAG dans un modèle de cellules endothéliales humaines (HUVECs) ; **B-Etude appliquée** : vise à restaurer l'expression et la qualité des GAG dans un modèle d'ischémie de la patte chez le rat.

A-Etude fondamentale

Régulation de l'expression du SDC-4 par le miR-126

Nous avons démontré précédemment que l'absence du SDC-4 conduit à une diminution de l'angiogenèse *in vitro*. Par ailleurs, nous avons mis en évidence l'effet du miR-126 sur l'induction de l'expression génique du SDC-4 dans les cellules HUVECs. Des expériences complémentaires doivent permettre au candidat d'identifier l'implication des voies de signalisation induites par le miR-126 dans la régulation de l'expression génique et protéique du SDC-4

Méthodologie : western-blot, qRT-PCR, inhibiteurs pharmacologiques

Enzymes de synthèse et de modification des GAGs

Les SDCs membranaires et notamment leurs chaînes GAGs sont essentiels à l'angiogenèse. En effet, des résultats préliminaires montrent que la formation de réseaux vasculaire induite par CXCL12 est réduite en absence de GAG. L'affinité de la chimiokine aux GAGs dépend de leur structure : **longueur, composition, taux de sulfatation**. Ces paramètres sont modulés par différentes **enzymes** impliquées dans la biosynthèse et les modifications post-synthèse des GAGs. Des études *in silico* que nous avons effectuées, montrent un effet potentiel du miR-126 sur l'expression de certaines de ces enzymes, à savoir : EXT-1, EXT-2, pour la biosynthèse, et SULF-2, HPSE pour les modifications post-synthèse. Notre hypothèse est que le miR-126, en modifiant l'expression des enzymes de synthèse et de modification des GAG, modulerait la qualité des GAGs, et donc leur interaction avec des facteurs de croissance et chimiokines, impactant ainsi le processus d'angiogenèse. Le candidat étudiera l'effet d'une surexpression du miR-126 dans un modèle de cellules endothéliales (HUVEC) sur l'expression et l'activité des enzymes de synthèse et de modification des GAG, la composition des GAG, leur affinité pour CXCL12 ou le VEGF.

Méthodologie: qRT-PCR, western-blot, enzymologie, HPLC, taux de sulfatation, résonance plasmonique de surface

B-Etude appliquée

Effet du miR-126 sur les GAG dans l'ischémie

Le deuxième volet de thèse vise à **induire l'angiogenèse et la réparation musculaire** dans un contexte d'**ischémie** de la patte par le biais d'une restauration des GAG composant le glycocalyx, induite par le miR-126.

Nous avons préalablement démontré que dans la phase précoce de l'ischémie, la qualité des GAGs est altérée via une diminution de la sulfatation et d'interaction avec des facteurs de croissance. Nous émettons l'hypothèse que cette diminution d'interaction avec des facteurs de croissance inhibe la stimulation de l'angiogenèse nécessaire. C'est pourquoi, le candidat aura pour mission d'étudier le rôle du miR-126 sur la modulation de la quantité et de la qualité des GAGs dans un modèle *in vivo* d'ischémie de la patte chez le rat. Nous comparerons l'induction de la revascularisation et de la réparation musculaire suite à différents modes d'administration du miR-126 dans le muscle ischémié: lipofection, injection de microbilles saccharidiques ou de nanoparticules développées par le laboratoire.

Méthodologie: expérimentation animale, techniques biochimiques d'étude de la longueur/composition/sulfatation des GAG, Nanostring, qRT-PCR, Doppler, cytométrie en flux, histologie

A terme, ce projet pourrait déboucher sur le développement de thérapies innovantes pro-angiogéniques ciblant les enzymes de modification des chaînes GAGs ou leur régulation par les miRs.

Environnement : 1 PU-PH, 1 PU, 3 MCU-PH, 2 MCF, 1 IGE, 2 Techniciennes, 2 Doctorants, Masters