



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **17 septembre 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Sally BADAWI**

Titre de la thèse : « *Impacts de gouttes en caléfaction sur substrats localement texturés* »



Résumé

Les maladies cardiovasculaires représentent un important problème de santé publique à travers le monde. Selon l'organisation mondiale de la santé, 17 millions de personnes meurent chaque année de maladies cardiaques soit environ 31% de la mortalité globale. Parmi ces pathologies, l'infarctus du myocarde (IM) a fait l'objet de nombreux essais visant à diminuer sa sévérité. Néanmoins peu ont remporté leur pari. Ces échecs peuvent avoir plusieurs composantes parmi lesquelles la méconnaissance de la complexité des mécanismes moléculaires impliqués.

Notre compréhension de l'IM a été nettement améliorée grâce à des méthodes utilisées pendant les dernières décennies et qui consistaient à étudier séparément un nombre limité d'acteurs moléculaires impliqués dans un mécanisme simple et linéaire. Cependant, l'échec des essais cliniques basés sur ces approches réductionnistes ont montré leurs limites. Ces échecs pourraient être dûs en partie à la dispersion des connaissances ou l'absence de connexion à leur environnement moléculaire. De plus, la faible caractérisation des modèles expérimentaux animaux pourraient aussi avoir biaisé les interprétations de certaines études antérieures. L'émergence de la biologie des systèmes, ces dernières années, a stimulé les recherches visant à mieux intégrer et comprendre la nature complexe et stochastique des réseaux moléculaires et leur dynamique dans la progression des pathologies.

A cet égard, l'objectif général de ce travail de thèse a consisté en le développement de chaîne de méthodes visant à améliorer la caractérisation spatio-temporelle des événements moléculaires induit par l'ischémie-reperfusion cardiaque. Grâce à un modèle d'ischémie-reperfusion cardiaque sur des souris C57Bl/6, avec ou sans post-conditionnement ischémique ou hypothermie thérapeutique, nous avons développé une chaîne de méthode utilisant la clarification d'organe et la microscopie de fluorescence permettant de quantifier, en 3 dimensions, la zone du myocarde soumise au choc oxydant lors de la reperfusion. Dans une seconde partie, nous avons développé une nouvelle chaîne analytique visant à caractériser la dynamique d'expression des transcrits lors de la thoracotomie d'animaux anesthésiés. Enfin, dans un troisième volet, nous avons étudié la dynamique de cytokines à l'état protéique dans le plasma et à l'état d'ARNm dans les cellules cardiaques. Nous avons ensuite comparé la réponse chez le modèle murin avec celle du patient humain.

L'hétérogénéité des lésions de reperfusion entre chaque animal, rend la caractérisation spatiale des réponses cellulaires et moléculaires compliquées à étudier. Dans ce but, nous avons développé une méthode d'imagerie du niveau d'oxydoréduction de la myoglobine cardiaque sur des cœurs clarifiés et non-marqués et qui nous permet de détecter le volume soumis au choc oxydant survenant à la

reperfusion. Nous démontrons aussi que cette méthode peut être couplée à l'immuno-marquage pour caractériser des signaux cellulaires/moléculaires d'intérêt. En parallèle de l'organisation spatiale du signal, nous avons étudié son organisation dynamique au cours de la séquence d'ischémie-reperfusion. Nous avons pour cela réalisé une étude cinétique de l'ischémie-reperfusion par analyse transcriptomique. Dans les animaux sham (thoracotomie, anesthésie et analgésie), nous montrons une variation significative du transcriptome à 24h après chirurgie avec une forte réponse inflammatoire caractérisée par l'infiltration de neutrophiles et la différenciation de macrophages dans le myocarde. Ces modifications sont vraisemblablement induites par la réponse à l'interleukine 6 (IL-6) dont nous montrons une forte augmentation dans le plasma des animaux dès 45min post-chirurgie. Nous avons identifié l'Il-6 par une analyse de retro-ingénierie dans laquelle l'Il-6 apparaissait comme inducteur potentiel des facteurs de transcription ayant modulés les transcrits dont l'expression varie significativement au cours de la séquence d'ischémie-reperfusion. Dans une troisième étude de nature translationnelle, nous avons caractérisé les cytokines (dont l'Il-6) dont l'expression fluctue au cours du temps chez les patients sujets à un infarctus du myocarde aigu ainsi que dans notre modèle de transcriptomique de l'IM chez la souris. L'analyse de corrélation montrent d'une part que la souris peut être considérée comme un modèle expérimental pertinent pour la réponse inflammatoire induite par l'Il-6 mais aussi que l'origine de la réponse soutenue de certaines cytokines circulantes requière une production par les cellules du tissu endommagé.

En conclusion, grâce à des méthodes de biologie des systèmes et de photonique, notre travail offre un nouvel éclairage sur l'organisation spatiale et la dynamique de la réponse inflammatoire dans l'ischémie-reperfusion cardiaque.