



HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Date de la soutenance : **25 novembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame CHARRIERE Sybil**

Titre de la thèse : « *Métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides: Etudes translationnelles des gènes modulateurs de la lipolyse intravasculaire, à partir du modèle des hyperchylomicronémies* »

Résumé



Mes travaux de recherche ont été consacrés à l'étude des nouveaux gènes modulateurs de la lipolyse intravasculaire des lipoprotéines riches en triglycérides. Il s'agit d'un projet de recherche translationnelle basé sur l'étude d'une cohorte de plus de 700 patients présentant une hypertriglycéridémie (HTG) majeure (triglycérides > 15 mmol/l) ou hyperchylomicronémie, constituée grâce à l'activité du centre de détection et de traitement des dyslipidémies de Lyon et des collaborations avec les autres centres français (Marseille, Dijon, Nantes, Paris, Reims). Ce projet visait à améliorer la compréhension des mécanismes physiopathologiques des syndromes d'hyperchylomicronémie, hypertriglycéridémies majeures avec risque de pancréatite aiguë et conséquences cardiovasculaires mal définies.

Les chylomicrons et VLDL, lipoprotéines riches en triglycérides (LRTG), sont catabolisés grâce à un processus de lipolyse intravasculaire par une enzyme, la lipoprotéine lipase (LPL) liée à la surface de l'endothélium vasculaire. Les HTG majeures sont caractérisées par une accumulation de chylomicrons et de VLDL. Si l'athérogénicité des HTG modérées est bien établie, celle des HTG majeures est plus incertaine. En revanche, les HTG majeures exposent au risque de pancréatite aiguë dont les complications peuvent engager le pronostic vital. Les HTG majeures constituent donc des modèles cliniques de choix pour la compréhension du métabolisme des LRTG. Cependant, de nombreux cofacteurs intervenant dans ce processus ne sont pas encore clairement identifiés, et plus de 50% des HTG majeures primitives restent encore aujourd'hui inexpliquées. Ces dernières années, l'identification de nouveaux gènes candidats a relancé la recherche sur les mécanismes moléculaires de régulation de la lipolyse intravasculaire des LRTG et la physiopathologie des HTG majeures.

Mes travaux des doctorats et post-doctorats (poste d'accueil INSERM) ont été consacrés à l'étude et à la caractérisation fonctionnelle *in vitro* sur modèles cellulaires, de variants génétiques rares et fréquents identifiés dans notre cohorte, affectant de nouveaux gènes impliqués dans la régulation de l'expression ou de la fonctionnalité de la lipoprotéine lipase, enzyme clé de catabolisme catabolisme intravasculaire des TG : gènes *APOA5* (co-facteur activateur de la LPL), *GPIHBP1* (régulant le

transport et l'expression de la LPL à la surface endothéliale), *LMF1* (régulant la maturation de la LPL dans le tissu adipeux).

L'équipe a également développé une technique innovante, automatisable, unique en Europe, de mesure l'activité post-héparinique de l'enzyme LPL sur substrat de lipoprotéines humaines (VLDL), jusque-là réalisée uniquement par technique isotopique peu reproductible, ce qui a permis de mettre en évidence différents profils de lipolyse chez les patients hyperchylomicronémiques.

Nous avons également participé, en collaboration avec l'équipe de Stephen Young (UCLA, USA) à la découverte d'anticorps anti-GPIIIB/IIIa, bloquant l'expression de la LPL à la surface endothéliale, identifiés chez deux de nos patients hyperchylomicronémiques.

Par la suite, la découverte du rôle majeur des microARN dans la régulation de l'expression génique nous a conduits à nous interroger sur le rôle possible des microARN dans la régulation des gènes d'intérêt. Les microARN sont de petites séquences d'ARN non codants qui régulent négativement l'expression post transcriptionnelle des gènes : ils se fixent sur des séquences spécifiques des ARNm (région 3' non codante ou 3'UTR), et entraînent la dégradation des ARNm ou empêche leur traduction en protéines. Nous avons pu étudier le rôle de variants non codants de la région 3'UTR du gène de la LPL, de ces gènes activateurs (*APOA5*, *LMF1*) ou inhibiteurs (*APOC3*) dans la création de sites illégitimes ou la suppression de sites naturels de liaison des microARN, avec pour conséquence une diminution ou une augmentation de l'expression de ces gènes, en combinant le séquençage systématique des extrémités 3'UTR des gènes, des analyses bio-informatiques permettant de modéliser l'effet des variants géniques identifiés sur la fixation des miR et des modèles in vitro permettant la validation de ces données. Ces travaux ont été réalisés lors de l'encadrement de 2 étudiantes en master 2 puis et en thèse de doctorat d'université (Cyrielle CAUSSY, puis Marine DANCER).

Autres travaux de recherche

Dans le domaine des dyslipidémies, j'ai participé :

- à plusieurs études collaboratives sur le registre national des hyperchylomicronémies (REFERCHOL) visant à mieux caractériser et prédire le risque cardiovasculaire des patients avec hypercholestérolémie familiale hétérozygote avec validation de l'équation de risque espagnole SAFEHEART et du score calcique coronaire pour la prédiction du risque cardiovasculaire.
- à plusieurs études de caractérisation phénotypique des hypocholestérolémies sévères génétiques, qui ont montré un risque fibrosique hépatique élevé dans les abétaipoprotéïnémies et maladie de rétention des chylomicrons, et un risque plus élevé d'atteinte hépatique stéato-fibrosique dans les hypocholestérolémies monogéniques que dans les formes polygéniques, dont le diagnostic est amélioré par les scores de risque polygénique.

Dans le domaine des maladies héréditaires du métabolisme, j'ai co-encadré un travail de thèse d'un interne en DES de neurologie (Paul JAULENT) sur une étude concernant les complications neurologiques de la phénylcétonurie à l'âge adulte. J'ai également participé à une étude nationale sur le diagnostic des pathologies du cycle de l'urée à l'âge adulte.

Par ailleurs, le service a développé une cohorte rétrospective de 732 patients diabétiques dont 2/3 de type 2 et 1/3 de type 1 qui ont eu un score calcique coronaire dans le cadre de leur suivi avec un recueil exhaustif des complications du diabète, données biologiques et de traitement. Dans le cadre du co-encadrement d'une interne DES d'endocrinologie (Mélanie GAUDILLIERE), nous avons publié une étude sur les incidentalomes découverts sur ces scores calciques coronaires . Nous avons également étudié les facteurs déterminants une valeur de CAC élevée chez les diabétiques de type 1 et 2 (3 mémoires d'internes DES d'endocrinologie) (non encore publiées).