

**FICHE SUJET DE THESE**

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	<b>FINANCEMENT :</b> <input type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : ANR WIRES
Titre de la thèse : <b>Contribution des altérations de l'organogenèse du RVOT à la physiopathologie du syndrome de Brugada</b>		3 mots-clés : Right ventricular outflow tract Brugada syndrome Organoïdes cardiaques
Unité/équipe encadrante : L'institut du thorax, équipe 2		
Directeur de thèse : <b>Nathalie Gaborit / Guillaume Lamirault</b>		N° de tél : 0606807718 Mail : <a href="mailto:nathalie.gaborit@univ-nantes.fr">nathalie.gaborit@univ-nantes.fr</a> <a href="mailto:guillaume.lamirault@univ-nantes.fr">guillaume.lamirault@univ-nantes.fr</a>
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>La plupart des arythmies ventriculaires idiopathiques potentiellement mortelles, qui prédisposent à la mort cardiaque subite, proviennent de la chambre de chasse du ventricule droit (RVOT), une localisation cardiaque unique avec une composition cellulaire et une organisation tissulaire spécifiques. La raison pour laquelle le RVOT est la source de ces arythmies reste largement inconnue. L'une des principales hypothèses est que ces arythmies, bien qu'elles affectent principalement les adultes, évoluent à partir de l'organogenèse. Jusqu'à présent, les études sur les maladies liées au RVOT ont été entravées par l'absence d'un modèle expérimental de tissu humain. Le syndrome de Brugada (BrS) est un archétype de trouble cardiaque électrique héréditaire dans lequel l'arythmogénicité survient dans le RVOT. Des études génétiques récentes suggèrent que le syndrome de Brugada, bien qu'exprimé chez l'adulte, apparaît au cours du développement embryonnaire. Cependant, le mécanisme d'apparition n'est toujours pas identifié et il n'existe pas de traitement pharmacologique optimal. Jusqu'à présent, bien que les études sur les cardiomyocytes dérivés de cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSC-CM) aient été très prometteuses, ces cellules ne sont pas spécifiques au RVOT. Plus récemment, un nouveau modèle d'organoïde cardiaque spécifique du RVOT a été développé à partir d'hiPSC et est maintenant maîtrisé dans notre équipe.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p>Le RVOT a un organisation complexe qui résulte d'une interaction permanente entre plusieurs types de cellules, créant un gradient spatial de composition cellulaire essentiel au bon fonctionnement électrique. Les perturbations de cette harmonie organisationnelle entraînent un dysfonctionnement électrique du RVOT et une susceptibilité accrue aux arythmies. Par conséquent, une étude ciblée du développement du RVOT, des interactions entre les types de cellules, de la formation et de la fonction des tissus est impérative pour comprendre son rôle dans la pathophysiologie du BrS.</p> <p>Nos objectifs sont (1) d'étudier les anomalies moléculaires et cellulaire spécifiques du BrS dans le modèle organoïde de RVOT et (2) d'identifier et investiguer les mécanismes électrophysiologiques qui conduisent à l'apparition des arythmies dans ce modèle.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <p>Le projet portera sur l'utilisation de 3 lignées hiPSC générées à partir de 3 patients non apparentés, atteints du BrS. La caractérisation de ces lignées a montré qu'elles récapitulent les anomalies rythmiques retrouvées chez les patients. Trois lignées hiPSC générées à partir d'individus sains (sans cardiopathie) seront utilisées comme contrôles. L'ensemble de ces lignées seront différenciées selon des protocoles précis permettant la génération d'organoïdes spécifiques du RVOT, du RV et du LV. Une analyse comparative des phénotypes moléculaires (3'SRP, bulk RNAseq et single cell RNAseq), cellulaires (microscopie confocale, hybridation in situ) et électrophysiologiques (patch clamp et CellOptiq) sera réalisée sur ces lignées en parallèle.</p> <p>L'étudiant aura en charge (1) de générer les différents organoïdes, (2) de produire et d'analyser des données d'expression de gènes au cours de leur génération, à des étapes clés du protocole et (3) de réaliser des analyses du phénotype fonctionnel, notamment électrique, des cellules et micro-tissus obtenus.</p> <p><u>Analyse d'expression de gènes :</u> Grâce à la méthode de 3'SRP en bulk (sur l'ensemble des cellules) et en Single-cell RNA-seq, l'étudiant étudiera l'impact du phénotype BrS sur le programme global d'expression génique, par rapport aux lignées contrôles. Par une analyse comparative avec les autres compartiments ventriculaires, il identifiera les anomalies spécifiques au RVOT.</p> <p>L'objectif sera (1) d'analyser à une résolution unicellulaire, l'impact spécifique du BrS sur les différents compartiments ventriculaires et (2) d'investiguer si les anomalies spécifiques du RVOT permettent d'expliquer en quoi la physiopathologie du BrS trouve son origine durant l'embryogénèse cardiaque.</p> <p><u>Analyse du phénotype fonctionnel :</u> Chaque lignée suivra le même canal d'analyses expérimentales, permettant une étude comparative fiable et efficace de l'impact du BrS sur l'activité électrique des compartiments cardiaques étudiés. L'enregistrement de courants ioniques (sodique en priorité) par patch-clamp, des flux calciques et des potentiels d'action par les systèmes de CellOptiq et de mapping optique, permettra d'identifier l'impact du BrS sur le phénotype électrique des cardiomyocytes.</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u></p> <p>Compétence en culture cellulaire d'hiPSC</p>		

Compétence d'étude par techniques d'imagerie et de transcriptomique, et dans l'analyse des données générées

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

- 1 : **Canac R, Cimarosti B, Girardeau A, Forest V, Olchesqui P, Poschmann J, Redon R, Lemarchand P, Gaborit N, Lamirault G.** Deciphering Transcriptional Networks during Human Cardiac Development. *Cells*. 2022 Dec 3;11(23):3915.
- 2: **Al Sayed ZR, Canac R, Cimarosti B, Bonnard C, Gourraud JB, Hamamy H, Kayserili H, Girardeau A, Jouni M, Jacob N, Gaignerie A, Chariou C, David L, Forest V, Marionneau C, Charpentier F, Loussouarn G, Lamirault G, Reversade B, Zibara K, Lemarchand P, Gaborit N.** Human model of IRX5 mutations reveals key role for this transcription factor in ventricular conduction. *Cardiovasc Res*. 2021 Jul 27;117(9):2092-2107.
- 3: **Al Sayed ZR, Jouni M, Gourraud JB, Belbachir N, Barc J, Girardeau A, Forest V, Derevier A, Gaignerie A, Chariou C, Cimarosti B, Canac R, Olchesqui P, Charpentier E, Schott JJ, Redon R, Baró I, Probst V, Charpentier F, Loussouarn G, Zibara K, Lamirault G, Lemarchand P, Gaborit N.** A consistent arrhythmogenic trait in Brugada syndrome cellular phenotype. *Clin Transl Med*. 2021 Jun;11(6):e413.

Collaborations nationales et internationales :

**Sasha Mendjan, Vienne**