

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je souhaiterais remercier toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à son aboutissement.

En premier lieu, je tiens à exprimer toute ma gratitude au Professeur Natzi Sakalihasan pour m'avoir donné l'occasion de travailler sur un sujet ayant un impact sur la santé publique aussi important que les maladies cardiovasculaires. Ses connaissances cliniques et scientifiques ainsi que sa disponibilité et son implication active dans ce projet ont été un soutien et une aide précieuse tout au long de ma thèse de doctorat. Ses compétences et son expertise dans le domaine des anévrismes ont largement contribué à la promotion des concepts à la base de ces études. Il m'a également donné l'occasion incroyable d'assister à des interventions chirurgicales qui resteront des souvenirs impressionnants.

J'aimerais remercier profondément le Professeur Betty Nusgens de m'avoir accueillie au sein du laboratoire de biologie des tissus conjonctifs et de m'avoir encadrée pendant toutes ces années. Sa rigueur scientifique, ses connaissances étendues, sa profonde gentillesse et surtout sa grande patience face aux difficultés rencontrées m'ont permis de mener ces recherches à leur terme. Je remercie également chaleureusement le Professeur Alain Colige qui a repris le rôle pas toujours évident de chef du laboratoire où de nombreux sujets très variés se côtoient. Grâce à sa curiosité scientifique toujours en éveil, à sa grande disponibilité et à ses conseils avisés, il a été d'une grande aide dans la réalisation de ce doctorat. J'exprime également une pensée pour feu le Professeur Charles Lapière qui avec le Professeur Sakalihasan a été l'instigateur de ce projet de thèse.

La recherche scientifique ne peut se réaliser qu'avec des expertises et des soutiens techniques compétents. Je remercie pour cette raison Antoine Heyeres, le roi de la PCR et des zymo ainsi que bien évidemment la super Cocotte, la reine de l'histo qui, en plus de son aide dans le cadre de ce mémoire, est devenue une véritable amie. Trois autres maîtres de la technique bien que voguant désormais vers d'autres lieux, ont largement contribué à ce

projet : Marie-Jeanne Nix, qui en plus de ses compétences techniques a toujours été à l'écoute dans les moments difficiles, Georgette Riga, et son expertise de la culture et surtout Annie Ooms, qui a largement contribué à la collecte des échantillons sanguins. Annie a toujours répondu présente quand je faisais face à des difficultés et est en quelque sorte devenue ma « deuxième maman du labo ».

Ces six années de doctorat ont été remplies de nombreuses rencontres, de grands moments de bonne humeur, de camaraderie et de discussions variées et animées. Je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué à cette ambiance agréable à commencer par mes collègues de bureau actuels, Nancy (experte attitrée de Photoshop et psychologue officielle du labo) et Romain (bô gosse autoproclamé) et les anciens, Victor et Johanne. Mes activités ne se sont pas passées que dans un bureau, et au sein du labo, je remercie tous mes collègues de bench : Christophe, Charlie, Yves, Lauriane, Céline, Laura, Mourad, Jérôme et Christine sans oublier Thibaut qui a commencé ce long chemin qui mène à une thèse en même temps que moi (le prochain c'est toi !) et Maude (la p'tite blonde, présidente du comité des fêtes) qui m'a initiée à la course à pied et avec qui j'ai partagé de nombreux moments. Et bien sûr, je remercie mes anciens collègues: Pierre, Eric, Fred, Giang, Audrey H. et évidemment les filles du labo, Audrey S (à l'imagination débordante, qui m'a appris qu'on pouvait se détendre en « scrappant ») et Alexia partie à la conquête des « States » (merci d'avoir supporté le marathon).

Mes travaux de recherche basés sur des prélèvements humains n'auraient pu être réalisés sans l'appui des cliniciens. Je tiens à remercier pour cette raison, le Professeur Jean-Olivier Defraigne ainsi que l'ensemble des membres du service de chirurgie cardiovasculaire comprenant les chirurgiens mais également les infirmières et les secrétaires pour leur contribution à la collecte des biopsies chirurgicales. Je remercie également les services de chirurgie de l'hôpital Saint Joseph et de la Citadelle qui m'ont permis de pénétrer en salle d'opération afin d'y collecter des échantillons dans les meilleures conditions.

Ce projet de recherche a bénéficié de collaborations avec de nombreux autres services médicaux. Je remercie le Professeur Hustinx et le Docteur Gomez ainsi que leurs services d'imagerie médicale respectifs pour les analyses des PET/CT et la réalisation des prises de sang. Dans ce contexte, merci également à Marie-Ange Kerstenne et Alev Yazici pour leur aide dans la récolte des échantillons sanguins dans plusieurs hôpitaux et dans l'établissement des données cliniques des patients.

Pour terminer, tout ce travail n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien quotidien et inconditionnel de mon entourage. Un énorme merci à mes parents qui ont toujours été présents quelles que soient les circonstances et à mon frère, Geoffrey, qui reste toujours à mes côtés. Merci à eux et à tous les autres qui permettent à cette famille d'être toujours aussi unie. Je remercie tout particulièrement Sarah pour la relecture et également Marcel Dricot pour son aide précieuse dans l'impression de ce mémoire.

J'ai une pensée particulière pour mon grand-père qui n'est malheureusement plus à mes côtés aujourd'hui mais qui aurait été extrêmement fier et heureux d'assister à la défense de ce mémoire.

Je remercie bien évidemment mes amis, dont Linda (« la grosse » et la meilleure), Danielle, Nathalie, Julien, Jonas, Olivier, Flavie et la nouvelle venue Zoé. Vous avez toujours été là dans les meilleurs comme dans les pires moments et c'est ce qui fait l'amitié. En dernier lieu, un énorme merci à Sam, mon compagnon que j'ai rencontré au cours de cette thèse et avec qui je compte bien faire une longue route. Merci de m'avoir supporté durant l'écriture de ce mémoire.

Ce projet de recherche a été financé par un crédit d'impulsion des Fonds spéciaux pour la recherche de l'université de Liège et par le projet européen FP7 n° 200647 : « Fighting aneurysmal disease » qui m'a donné l'occasion de faire de nombreuses rencontres scientifiques enrichissantes.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	1
TABLE DES MATIERES.....	4
LISTE DES ABREVIATIONS.....	7
INTRODUCTION GENERALE.....	11
I. L'aorte normale.....	11
1. Les cellules de la paroi aortique.....	12
1.1. Les cellules endothéliales.....	12
1.2. Les cellules musculaires lisses.....	13
1.3. Les cellules de l'adventice.....	14
2. Le collagène.....	15
2.1. Généralités.....	15
2.2. Les collagènes dans l'aorte.....	16
3. Les fibres élastiques.....	16
4. Les autres composants de la matrice extracellulaire.....	18
5. Les membranes basales.....	20
II. Pathologies vasculaires	21
1. Athérosclérose.....	21
2. Resténose.....	22
3. Anévrismes.....	23
4. Dissections.....	24
III. Anévrismes de l'aorte abdominale.....	25
1. Définition et histoire naturelle.....	25
2. Prévalence et épidémiologie.....	25
3. Etiologie et facteurs de risques.....	26
4. Méthodes de diagnostic.....	28
5. Pathobiologie.....	29
5.1. Inflammation.....	29
5.2. Stress oxydant.....	31
5.3. Remodelage matriciel.....	33
5.4. Apoptose des cellules musculaires lisses.....	37
5.5. Thrombus.....	38
5.6. Rupture.....	39
5.7. Biomarqueurs.....	41
6. Traitements.....	44
6.1. Traitements chirurgicaux.....	44
6.2. Traitements médicamenteux.....	45

IV. Tomographie à émission de positons (PET).....	48
1. Définition.....	48
2. Applications générales.....	48
3. 18-FDG.....	49
4. SUV.....	50
5. PET et maladies vasculaires.....	50
6. PET et AAA.....	52
Publication n° 1 :	54
 BUTS ET PLAN DU TRAVAIL.....	 55
 RESULTATS : Partie I	
Constitution d'une banque d'échantillons biologiques provenant de patients porteurs d'un AAA et d'autres pathologies vasculaires.....	57
1. Mise en place d'un protocole expérimental.....	57
1.1. Localisation de l'endroit de captation du FDG au sein de la paroi anévrysmale et réalisation des prélèvements.....	58
1.2. Préparation des biopsies de paroi et de thrombus.....	59
2. Types et nombres d'échantillons obtenus.....	60
2.1. Echantillons sanguins.....	60
2.2. Echantillons tissulaires.....	61
3. Conclusions et perspectives.....	62
 RESULTATS : Partie II	
Une captation de FDG au niveau de la paroi anévrysmale est associée à des altérations cellulaires et moléculaires liées à la progression de l'anévrysme et à sa rupture.....	63
1. Introduction.....	63
2. Résumé des résultats.....	64
3. Conclusions.....	65
Publication n° 2 :	66
 RESULTATS : Partie III	
Analyse globale de l'expression des gènes dans les anévrysmes de l'aorte abdominale présentant une captation de FDG visualisée par PET/CT.....	67
1. Introduction.....	67
2. Résumé des résultats.....	68
3. Conclusions.....	69
Publication n° 3 :	70
 RESULTATS : Partie IV	
Etude de deux cas cliniques présentant des dissections vasculaires.....	71
Présentation du cas n° 1.....	71
Présentation du cas n° 2.....	71
Publication n° 4 :	72

Publication n° 5 :	73
DISCUSSION GENERALE.....	74
1. Relation entre la fixation de FDG dans la paroi anévrysmale et les données cliniques.....	74
2. Nature des cellules impliquées dans la captation de FDG.....	75
3. Profil des médiateurs inflammatoires exprimés au site de fixation du FDG.....	77
4. Raréfaction des cellules contractiles au site de captation du FDG.....	78
5. Remodelage de la matrice extracellulaire au site de fixation du FDG.....	79
6. La paroi anévrysmale métaboliquement inactive des patients A+ diffère de celle des patients A0.....	81
7. Corrélations entre le SUV et l'expression de gènes pertinents modulés au cours de la progression des AAA.....	84
8. Potentiel du PET/CT dans le domaine des maladies vasculaires.....	85
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	87
LISTE DES PUBLICATIONS PERSONNELLES.....	89
BIBLIOGRAPHIE.....	90

LISTE DES ABREVIATIONS

18-FDG, FDG	2-[F-18]-fluoro-2-deoxy-D-glucose
α -SMA	Alpha smooth muscle actin
A+	Anévrisme PET positif
A+neg	Site positif d'un anévrisme PET positif
A+pos	Site négatif d'un anévrisme PET positif
A0	Anévrisme PET négatif
AAA	Abdominal aortic aneurysm
Ablum	Abluminal
ACAN	Aggrecan
ACEI	Angiotensin-converting-enzyme inhibitor
ADAM	A disintegrin and metalloproteinase
ADAMTS	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADPKD	Autosomal dominant polycystic kidney disease
Adv	Adventice
Ang II	Angiotensine II
AOD	Aortic occlusive disease
ARB	Angiotensin receptor blocker
ARN	Acide ribonucléique
ATLO	Adventitial tertiary lymphoid organ
BMP	Bone morphogenic protein
CILP	Cartilage intermediate layer protein
CMTM	CKLF-like MARVEL transmembrane domain-containing family
Coll	Collagène
COMP	Cartilage oligomeric matrix protein
COX-2	Cyclo-oxygénase 2
CRP	C-reactive protein
CRTAC 1	Cartilage acidic protein 1
CT	Computed tomography
DAVID	Database for annotation, visualization and integrated discovery
DSCG	Disodium cromoglycate
EC	Endothelial cell
ECM1	Extracellular matrix protein 1
EDTA	Ethylene diamine tetra-acetic acid

EGF	Epidermal growth factor
EL	Elastic lamellae
EMMPRIN	Extracellular matrix metalloproteinase inducer
EVAR	Endovascular repair
FACIT	Fibril-associated collagens with interrupted triple helices
FAD	Fighting aneurysmal disease
Fbln	Fibuline
FCH	18F-Fluoromethylcholine
FGF2	Fibroblast growth factor 2
GCA	Giant cell arteritis
GLUT	Glucose transporter
GPI	Glycophosphatidyl inositol
H/E	Hématoxyline/éosine
HB-EGF	Heparin binding EGF like growth factor
HDL	High density lipoprotein
HIF1 α	Hypoxia-inducible factor 1 alpha
IAAA	Inflammatory abdominal aortic aneurysm
IFN γ	Interferon gamma
IGF	Insulin-like growth factor
IGFBP	Insulin-like growth factor binding protein
IL	Interleukine
ILT	Intraluminal thrombus
Int	Intermédiaire
IQR	Interquartile range
IRM	Imagerie par résonance magnétique
JNK	c-Jun N-terminal Kinase
KAZALD1	Kazal-type serine peptidase inhibitor domain 1
KEGG	Kyoto encyclopedia of genes and genomes
KO	Knock-out
LDL	Low density lipoprotein
LEE	Limitante élastique externe
LEI	Limitante élastique interne
LIF	Leukemia inhibitory factor
LOX	Lysyl-oxydase
LTBP	Latent TGF β binding protein
Lum	Luminal

MAGP	Microfibril-associated glycoprotein
MCP1	Monocyte chemoattractant protein 1
MEC	Matrice extracellulaire
Med	Media
MIF	Macrophage migration inhibitory factor
MMP	Matrix metalloproteinase
MnSOD	Manganese superoxide dismutase
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NFκB	Nuclear factor κB
NK	Natural killer
NO	Nitric oxide
NOS	Nitric oxide synthase
OPG	Ostéoprotégérine
OPN	Ostéopontine
Ox	Oxytalan
PAI1	Plasminogen activator inhibitor 1
PAP	Plasmin-anti-plasmin complex
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell
PDTC	Pyrrolidine dithiocarbamate
PET	Positron emission tomography
PF4	Platelet factor 4
PGE2	Prostaglandin E2
PIIINP	Procollagen III amino-terminal propeptide
PKD	Polycystic kidney disease
POSTN	Périostine
RECK	Reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs
RNS	Reactive nitrogen species
ROS	Reactive oxygen species
RunX2	Runt-related transcription factor 2
SEP	Serum elastin peptide
SLRP	Small leucine-rich proteoglycan
SMC	Smooth muscle cell
SOD	Superoxyde dismutase
SPP1	Secreted phosphoprotein 1, osteonectin
SUV	Standardized uptake value
TAA	Thoracic aortic aneurysm

TGF β	Transforming growth factor beta
Th1	Lymphocyte T helper 1
Th2	Lymphocyte T helper 2
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteinases
TNFSF	Tumor necrosis factor superfamily
TNF α	Tumor necrosis factor alpha
tPA	Tissue plasminogen activator
TSP1	Thrombospondin 1
uPA	Urokinase-type plasminogen activator
uPAR	Urokinase-type plasminogen activator receptor
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VEGF	Vascular endothelial growth factor

INTRODUCTION GENERALE

I. L'aorte normale

L'aorte est l'artère élastique principale du corps humain. Elle donne naissance à toutes les artères de l'organisme. Elle débute au niveau de la valve aortique et se termine dans l'abdomen où elle se divise en deux artères iliaques. La principale fonction de l'aorte est le transport du sang oxygéné qui provient du cœur vers les tissus.

Elle peut être subdivisée en quatre parties en fonction de leur localisation anatomique : l'aorte thoracique ascendante, la crosse aortique, l'aorte thoracique descendante et l'aorte abdominale.

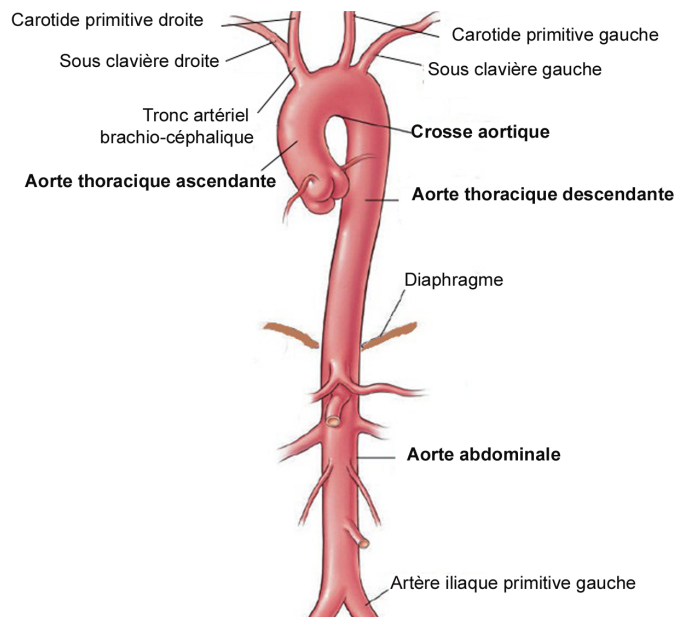


Figure 1. L'aorte normale. Schéma de l'aorte montrant les différentes parties qui la composent et ses différents embranchements.

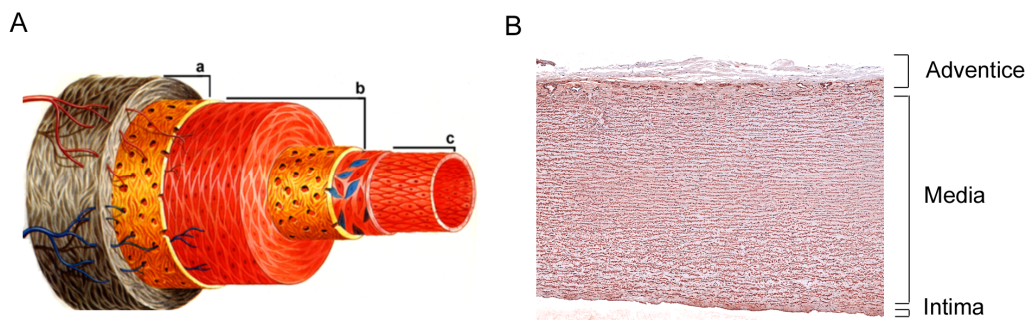


Figure 2. Structure de la paroi aortique. A) Schéma d'une artère élastique ; a, adventice ; b, media et c, intima. B) Coupe transversale d'une aorte normale marquée à l'aide d'un anticorps dirigé contre l' α -actine muscle lisse.

La paroi aortique est composée de trois couches distinctes :

- *L'intima* est la couche la plus interne au contact de la circulation sanguine. Elle est composée d'une couche unique de cellules endothéliales reposant sur une membrane basale.

- *La media* qui représente environ 80% de l'épaisseur de la paroi est composée de cellules musculaires lisses empaquetées dans des lamelles de fibres élastiques associées à des fibres de collagène, des glycoprotéines et des protéoglycans. Ces unités lamellaires sont organisées en couches concentriques (50-80) disposées en alternance afin d'assurer les propriétés mécaniques et l'élasticité de la paroi.

- *L'adventice*, localisée au niveau externe de la paroi, est composée d'un tissu conjonctif lâche riche en collagène. Les cellules principales de l'adventice sont les fibroblastes mais d'autres types cellulaires tels que des adipocytes et des cellules souches s'y trouvent également. L'adventice est abondamment vascularisée par les vasa vasorum et des vaisseaux lymphatiques. Des terminaisons nerveuses y sont également présentes. En plus de son rôle nutritif, l'adventice participe à la compliance et à la résistance de l'aorte.

Enfin, ces trois couches sont séparées par des limitantes élastiques interne et externe, d'environ 50 µm d'épaisseur, composées presque exclusivement de fibres élastiques.

1. Les cellules de la paroi aortique

1.1. Les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales de l'intima forment une barrière semi-perméable entre le flux sanguin et la paroi du vaisseau. Elles sont capables de répondre à des stimuli mécaniques tels que les forces de cisaillement exercées par le flux sanguin. Elles agissent sur les autres cellules de la paroi en régulant la migration, la prolifération, l'apoptose, la production et la sécrétion de médiateurs biologiques ainsi que la contraction des cellules musculaires lisses par production de substances vasoactives.

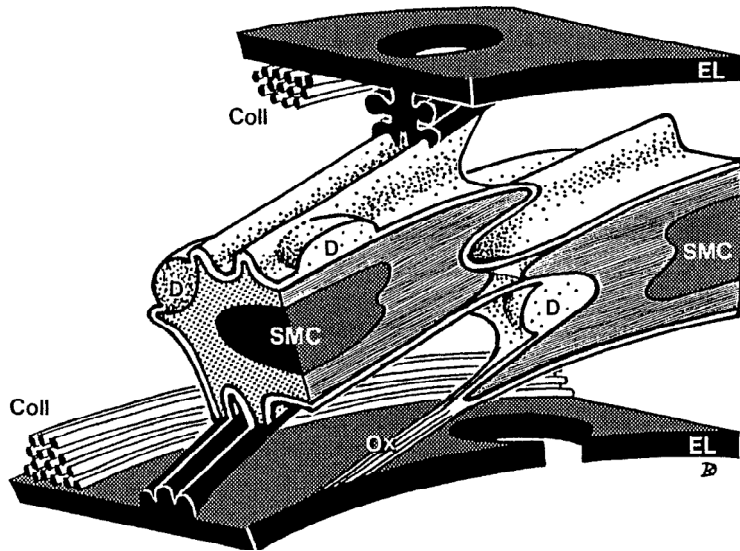


Figure 3. Représentation schématique de deux SMC entourées de deux lames élastiques (EL) auxquelles sont associées des fibres de collagène (Coll). Des protrusions des lamelles élastiques interagissent avec des crêtes de la surface des SMC. La cellule de droite est également connectée à la lame élastique via des fibres d'oxytalan (Ox). Une membrane basale entoure les SMC et favorise leurs interactions. Elle est principalement composée de fibronectine, mais des dépôts (D) contenant du collagène de type IV et des protéoglycans sont observés au niveau de certaines indentations membranaires. D'après Dingemans et al., 2000 (1).

1.2. Les cellules musculaires lisses

Les cellules musculaires lisses (SMC) de l'aorte possèdent différentes origines embryonnaires en fonction de leur localisation. A la base de l'aorte et du tronc pulmonaire, elles dérivent du champ cardiaque secondaire. Dans la portion ascendante et la crosse aortique, elles proviennent des crêtes neurales, alors qu'au niveau de l'aorte descendante et abdominale, elles sont issues du mésoderme somatique et splanchnique (2). Les SMC peuvent également provenir de la transdifférenciation de cellules endothéliales fœtales ou adultes, de macrophages ou encore de progéniteurs dérivés de la moelle (3). Les SMC matures de la media sont généralement fusiformes, d'un diamètre de 2 à 5 μm pour des longueurs allant de 15 à 500 μm . Contrairement aux cellules musculaires squelettiques, elles sont mononucléées. Leur principale fonction est d'assurer le tonus vasculaire grâce à leur capacité contractile. Elles sont également à l'origine de la production des éléments de la matrice extracellulaire élastique qui les entoure et qui assure les propriétés mécaniques de la paroi. Les SMC contiennent un cytosquelette d'actomyosine dynamique requis pour assurer la contraction-relaxation cellulaire (pour le processus détaillé, voir la revue de Gunst, 2008 (4)). En condition physiologique, le renouvellement cellulaire au sein de la media est très lent et les SMC, hautement différenciées, n'expriment plus que les molécules nécessaires à l'activité contractile. En condition pathologique, par contre, les SMC sont capables de se dédifférencier. Elles perdent alors leur fonction contractile et acquièrent un phénotype dit synthétique ou prolifératif. Elles sont alors capables de synthétiser et sécréter un répertoire de molécules, dont des facteurs pro-inflammatoires. Elles peuvent également migrer, notamment au sein de l'intima ainsi qu'observé lors du développement d'une plaque athéromateuse (voir (5) pour une revue sur les modifications phénotypiques des SMC).

Dans la media, les SMC sont localisées au sein de l'espace interlamellaire compris entre deux lamelles élastiques. Dingemans *et al.* ont analysé, par microscopie électronique, la microarchitecture et les microstructures de la paroi d'un grand nombre d'aortes, avec une attention particulière portée aux interactions des SMC avec les molécules de la matrice extracellulaire (figure 3, (1)). Les SMC ne sont pas en contact direct avec les fibres élastiques si ce n'est par quelques protrusions des lamelles élastiques qui s'étendent dans l'espace interlamellaire et s'associent aux cellules. Une couche conjonctive semblable à une membrane basale entoure les SMC.

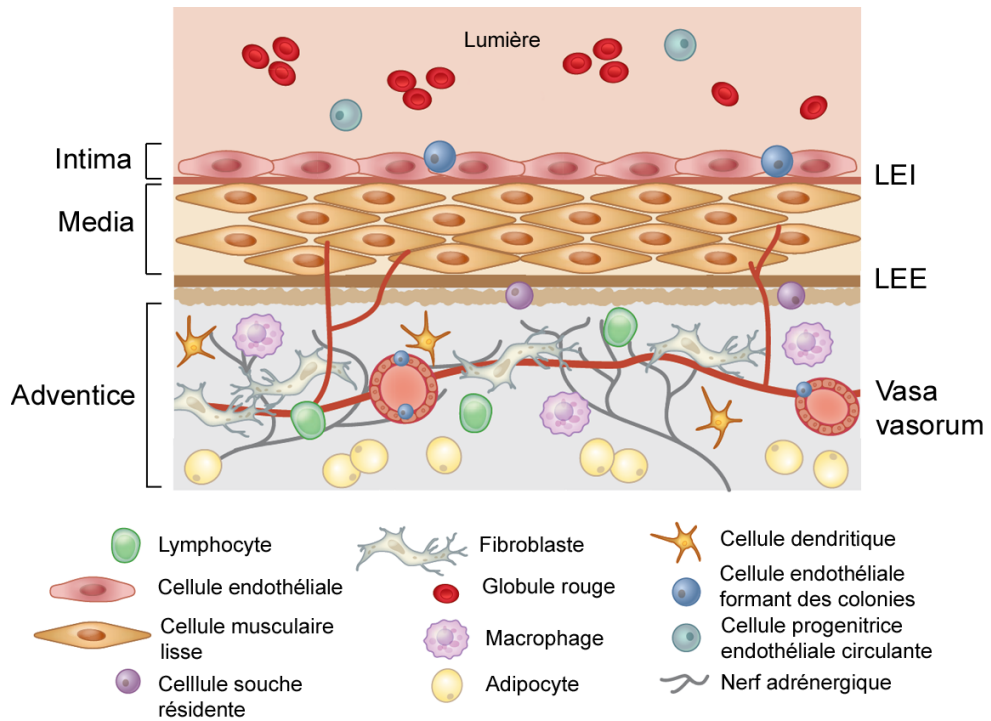


Figure 4. Populations cellulaires de l'adventice. L'adventice contient de nombreux types cellulaires incluant des fibroblastes, des adipocytes, des cellules souches résidentes, des cellules inflammatoires (macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes), des cellules endothéliales des vasa vasorum et contient également des nerfs adrénergiques. LEI, limitante élastique interne ; LEE, limitante élastique externe. Adapté d'après Stenmark et al., 2012 (6).

Elle est principalement composée de fibronectine et assure les interactions entre cellules. En plus de la fibronectine, des dépôts de collagène de type IV et de protéoglycans sont également observés dans cette structure péricellulaire. Enfin, les SMC sont également associées aux fibres élastiques via des fibres d'oxytalan composées principalement de microfibrilles de fibrilline-1. Les différentes macromolécules composant la matrice extracellulaire seront détaillées plus loin dans cette introduction.

1.3. Les cellules de l'adventice

Les fibroblastes sont les cellules les plus abondantes de l'adventice. Ces cellules possèdent trois origines distinctes : le mésenchyme primaire, une transition épithélio-mésenchymateuse locale et des précurseurs dérivés de la moelle osseuse (7). Ces différentes sources de fibroblastes expliquent leur grande hétérogénéité phénotypique. A l'origine, on pensait que leur rôle était réduit à une simple participation à la résistance mécanique du tissu par production d'une matrice extracellulaire contenant principalement les collagènes de type I et III. Différentes études récentes ont cependant montré que l'adventice subissait un remodelage important en cas de dommages vasculaires et que les fibroblastes résidents pouvaient jouer le rôle de cellules sentinelles de la paroi vasculaire (8). Les fibroblastes sont en effet les premières cellules activées en cas de dommages, ce qui se manifeste par une prolifération cellulaire accrue, une différenciation en myofibroblastes et une production de protéines matricielles et d'adhésion cellulaire. Ils sécrètent également des facteurs de croissance et des cytokines induisant ainsi le recrutement et l'activation de cellules inflammatoires circulantes et résidentes (6).

Au sein de l'adventice se trouvent également des cellules souches, progénitrices pour une série de lignées cellulaires différentes (9, 10). La nature et l'origine de ces cellules ne sont pas encore bien connues. Selon une des hypothèses avancées, elles seraient présentes dans l'adventice depuis un stade embryonnaire précoce et seraient capables de se différencier en tout type de cellules vasculaires en fonction de circonstances particulières (6).

Des cellules inflammatoires (macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes et mastocytes) sont également présentes dans l'adventice. Elles peuvent s'activer, proliférer et induire un processus inflammatoire suite à une atteinte du vaisseau.

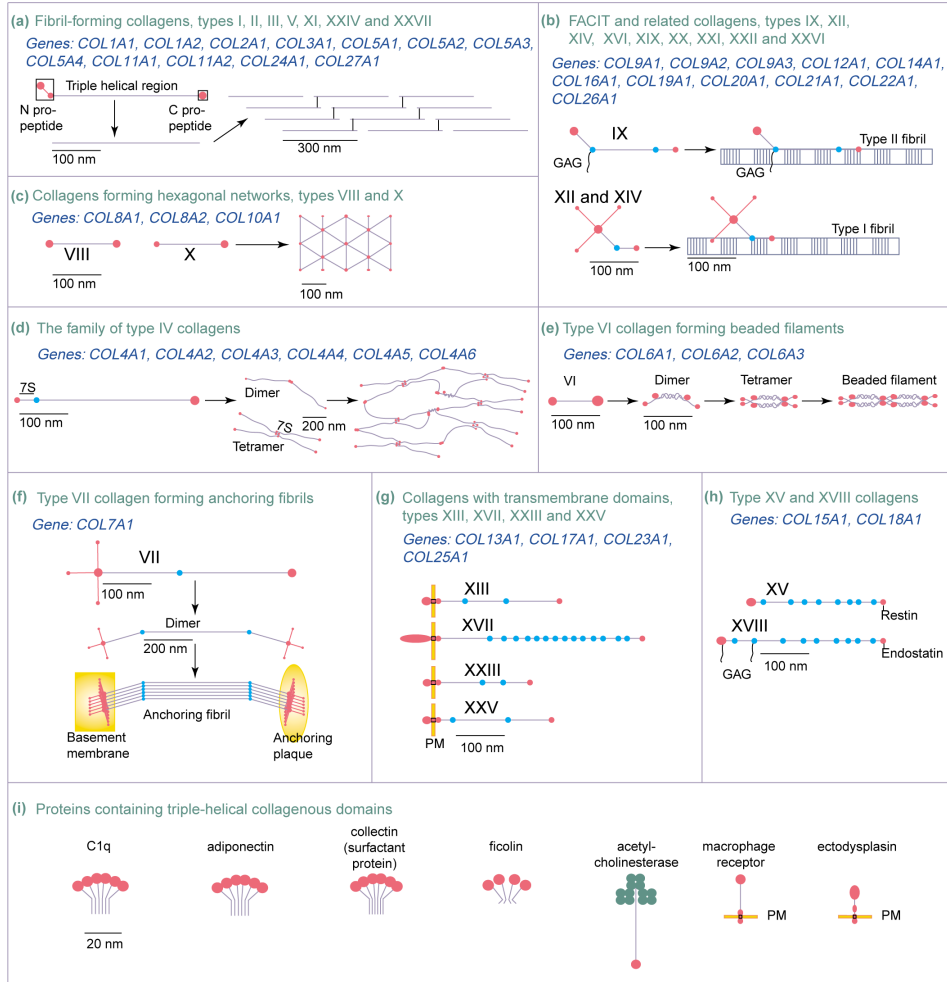


Figure 5. Membres de la superfamille des collagènes et leur assemblage supramoléculaire. La superfamille des collagènes se divise en 8 sous-familles : (a) les collagènes fibrillaires ; (b) les collagènes contenant des domaines en triple hélice interrompus par des domaines non hélicoïdaux et interagissant avec les collagènes fibrillaires (FACIT = « Fibril-Associated Collagens with Interrupted Triple helices ») ; (c) les collagènes formant des réseaux hexagonaux ; (d) la famille des collagènes de type IV qui se trouvent dans les membranes basales ; (e) le collagène de type VI formant des filaments perlés. Le collagène de type XXVIII, récemment décrit, serait structurellement proche du collagène de type VI (11) ; (f) le collagène de type VII formant des fibrilles d'ancrage ; (g) les collagènes possédant des domaines transmembranaires et (h) les collagènes de type XV et XVIII générant par clivage des fragments anti-angiogènes (restine et endostatine). Les domaines en triple-hélice sont marqués en bleu foncé, les domaines amino- et carboxyterminaux sont colorés en rose et les domaines non hélicoïdaux interrompant la triple hélice sont en bleu ciel. D'après Myllyharju et Kivirikko, 2004 (12).

Cette inflammation, qui débiterait au niveau de l'adventice et contribuerait au remodelage de la media et de l'intima, est à l'origine d'une réponse dite « *outside-in* » du vaisseau. Ce processus est en opposition avec le dogme, établi de longue date, qui considère que la réponse inflammatoire démarrerait de la lumière du vaisseau vers l'extérieur de la paroi (13).

De nombreux adipocytes forment un tissu périvasculaire adipeux qui ne possède pas de barrière structurelle avec l'adventice. Au niveau de l'aorte, il est composé d'un mélange de graisse blanche et brune. Jusqu'il y a peu, cette structure adipeuse était considérée comme un tissu inerte entourant l'adventice et possédant uniquement des propriétés structurelles et mécaniques. Différentes études récentes ont, à l'inverse, montré que les adipocytes périadventitiels avaient des fonctions endocrines et paracrines importantes et étaient capables de produire et de sécréter une panoplie de molécules participant à différents processus vasculaires. Ils ont notamment un rôle anti-contractile et influencent la croissance et la migration des SMC. Une revue publiée en 2012 résume les différentes propriétés de cette structure adipeuse (14).

2. Le collagène

2.1. Généralités

Le collagène est la molécule la plus abondante dans le règne animal. Dans la majorité des tissus conjonctifs, il joue un rôle dominant dans le maintien de l'architecture de la matrice extracellulaire et de ses propriétés mécaniques. Il est également impliqué dans de nombreux processus biologiques tels que l'adhésion, la migration et la survie, notamment en interagissant avec de nombreux récepteurs cellulaires dont principalement les intégrines. A ce jour, 28 collagènes différents ont été répertoriés chez l'homme. Ils sont classés en huit familles en fonction de leur structure génomique, de leur assemblage et de diverses caractéristiques structurelles (Figure 5) (12). Toutes les molécules de collagène sont composées de trois polypeptides (ou chaînes α) formant une structure en triple hélice caractéristique. Elles peuvent être homotrimériques (trois chaînes α identiques) ou hétéotrimériques (deux ou trois chaînes α différentes). La formation de la triple hélice est permise par la répétition de triplets G-X-Y au sein desquels les positions X et Y sont fréquemment occupées par, respectivement, une proline et une hydroxyproline. Lorsque la triple hélice est formée, le clivage des propeptides amino- et carboxyterminaux du procollagène par des

enzymes spécifiques permet l'assemblage spontané des molécules matures en fibrilles qui seront stabilisées ultérieurement par la formation de liaisons croisées résultant de l'activité de la lysyl-oxydase. Cette réticulation est responsable de la cohésion et de la résistance mécanique remarquable des fibres et faisceaux de collagène.

2.2. Les collagènes dans l'aorte

Différents collagènes sont présents dans l'aorte. Ils font majoritairement partie de la famille des collagènes fibrillaires qui forment de longues fibres non ramifiées et confèrent aux tissus leur résistance mécanique. Différents collagènes participent généralement à la formation des fibres. Au sein de la media et de l'adventice, celles-ci sont principalement composées des collagènes de type I, III et V. Le collagène de type I est le plus abondant de l'organisme. Il s'agit d'un hétérotrimère composé de deux chaînes $\alpha 1(I)$ et d'une chaîne $\alpha 2(I)$. Le collagène de type III est un homotrimère composé de trois chaînes $\alpha 1(III)$. Le collagène de type V est quantitativement moins important dans l'organisme. Il joue néanmoins un rôle central puisqu'il constitue le cœur des fibrilles et module le diamètre des fibres hétérotypiques. D'autres collagènes, moins abondants, sont également présents dans la paroi aortique, tels que le collagène de type VI se retrouvant dans les espaces interlamellaires de la media associé à la fibrilline 1 ou le collagène de type IV présent dans les membranes basales décrites dans une section suivante de cette introduction. Différents collagènes de la sous-famille des FACIT (« *fibril-associated collagens with interrupted triple helices* ») sont également présents dans l'aorte afin d'assurer la cohésion des fibrilles.

3. Les fibres élastiques

Les fibres élastiques présentes dans la media constituent l'élément principal de la matrice extracellulaire qui assure l'extensibilité, la flexibilité et la résilience des vaisseaux. Elles sont constituées de deux composants principaux : un réseau structuré de microfibrilles, d'une part, au sein duquel se déposent, d'autre part, les molécules d'élastine. Un défaut dans la formation des fibres élastiques ou leur dégradation accélérée, peut conduire à de multiples pathologies telles que le cutis laxa, l'emphysème pulmonaire ou un prolapsus des organes pelviens (15).

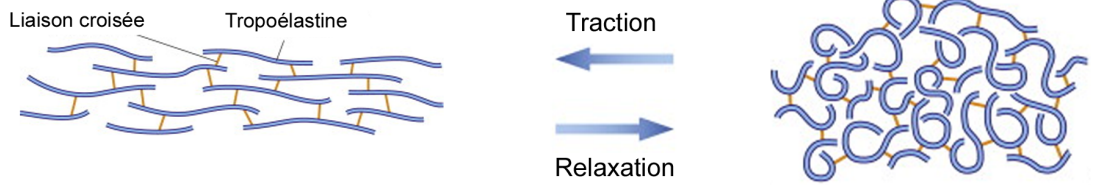


Figure 6. Réseaux de molécules d'élastine. Les molécules de tropoélastine sont liées entre elles par des liaisons croisées. La structure tridimensionnelle de chaque molécule étant déformable, l'entière du réseau d'élastine peut ainsi se contracter ou s'étirer comme une seule entité. Adapté d'après Moore et al., 2012 (16).

L'élastine est la protéine la plus abondante des artères dites élastiques. Elle est produite sous la forme d'un précurseur de tropoélastine par les SMC de la media. Les domaines C-terminaux des molécules de tropoélastine vont interagir avec des glycoprotéines des microfibrilles (MAGPs) afin de s'aligner correctement et de permettre la formation des liaisons croisées intermoléculaires par oxydation des résidus lysine grâce à l'action des enzymes de la famille des lysyl-oxydases ou LOX. Les résidus oxydés formés se condensent pour former des acides aminés de pontage appelés desmosines et isodesmosines par liaison de quatre résidus lysine entre des molécules de tropoélastine. Elles forment alors la molécule d'élastine mature qui est extrêmement stable en condition normale et résistante à la dégradation protéolytique (17). La présence de régions hydrophobes entre les liaisons croisées est responsable de l'élasticité de la molécule. En effet, dans l'état étiré, les groupes hydrophobes vont se retrouver au contact de molécules d'eau, conduisant ainsi à une baisse de l'entropie, et vont donc spontanément chercher à se réassocier pour minimiser ces interactions ce qui confère à l'élastine sa capacité de résilience (Figure 6). La synthèse d'élastine se produit durant le développement. Elle possède une demi-vie de 70 ans et n'est donc normalement pas produite chez l'adulte sauf dans des conditions particulières comme le post-partum chez la femme. Une haploinsuffisance du gène de l'élastine est responsable de la sténose supra-valvulaire aortique. Le taux anormalement faible d'élastine dans la paroi vasculaire induit une prolifération des SMC qui résulte en l'épaississement de la media et la formation d'une hyperplasie intimale pouvant conduire à l'obstruction du vaisseau (18). Ces observations permettent d'attribuer à l'élastine une fonction régulatrice sur le maintien de la quiescence et du phénotype différencié des SMC.

Les microfibrilles, avec un diamètre de 10-12 nm, sont quantitativement le composant le moins important des fibres élastiques. Elles jouent cependant un rôle crucial pour le dépôt et l'organisation des molécules d'élastine et, en conséquence, dans l'intégrité de la paroi aortique. Elles sont composées de fibrilline-1 et 2 ainsi que d'autres glycoprotéines plus minoritaires, les MAGPs. Des mutations de la fibrilline-1 sont responsables du syndrome de Marfan, une maladie génétique souvent associée à des problèmes vasculaires tels que les dissections ou les anévrismes de l'aorte thoracique (19). Le syndrome de Marfan ainsi que les modèles de souris transgéniques ont permis de révéler que ces microfibrilles remplissent d'autres fonctions que l'organisation architecturale des tissus. Les microfibrilles modulent en effet l'activité du TGF β en le séquestrant, sous sa forme latente, dans la matrice extracellulaire. Le TGF β latent est lié à la fibrilline-1 par une protéine de liaison, le « *latent TGF β binding protein* » ou LTBP. Suite à un clivage protéolytique effectué par la plasmine

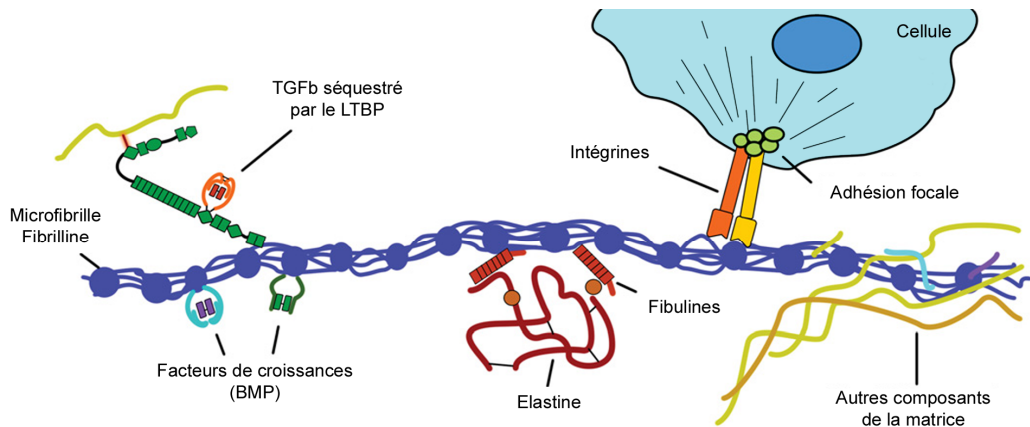


Figure 7. Différents partenaires de la fibrilline et des microfibrilles. Le LTBP se lie aux microfibrilles et séquestre le TGF β sous forme latente. Différents facteurs de croissance comme les « bone morphogenic proteins » ou BMP peuvent également se lier à la fibrilline et être séquestrés dans la matrice. Les microfibrilles permettent la formation des fibres élastiques en se liant à l'élastine via de multiples protéines telles que les fibulines. Les microfibrilles possèdent également des sites de reconnaissance par les intégrines et induisent la formation d'adhésions focales. Elles peuvent également se lier à une série de molécules de la matrice extracellulaire telles que des protéoglycans ou la fibronectine. Adapté d'après Robertson et al., 2011 (20).

ou certaines enzymes telles les MMP2 et 9, le TGF β ainsi libéré peut alors se lier à ses récepteurs cellulaires et activer des voies de signalisation régulant de nombreuses fonctions telles que la mitose, la survie ou la production de composants de la matrice extracellulaire (21). Dans le syndrome de Marfan, des altérations du gène de la fibrilline-1 résultent en une incapacité de fixation du TGF β et une activation de ses voies de signalisation (22). La fibrilline-1 peut également séquestrer d'autres facteurs de croissance et s'associer à d'autres molécules de la matrice extracellulaire. La figure 7 illustre les différentes interactions connues impliquant la fibrilline-1.

Les fibulines (Fbln) sont des protéines également présentes au sein des fibres élastiques (15). Elles participent à la liaison de la tropoélastine à la fibrilline ainsi qu'à l'interaction avec les LOX afin de faciliter les liaisons croisées entre les molécules de tropoélastine. Parmi les membres de la famille des fibulines, la fibuline 5 est la plus fortement exprimée au niveau des artères élastiques. Elle est localisée à la surface des fibres élastiques au niveau de l'interface entre l'élastine et les microfibrilles. La fibuline 4, un peu moins exprimée au niveau aortique, est principalement localisée au niveau des microfibrilles. Le développement de souris knock-out pour les différentes fibulines a permis de mettre en évidence le rôle crucial de la fibuline 4 dans la structuration des fibres élastiques de l'aorte. Les souris Fbln 4^{-/-} meurent en effet à la naissance par rupture d'anévrisme aortique, alors que les souris Fbln 5^{-/-} vivent jusqu'à l'âge adulte en dépit de la formation de fibres élastiques anormales dans tous les organes mobiles (peau, poumons, aorte, organes pelviens). Chez l'humain, des mutations dans les gènes de la fibuline 4 et 5 induisent un cutis laxa caractérisé par une laxité cutanée qui s'accompagne par ailleurs de symptômes vasculaires sévères dans le cas de mutations de la fibuline 4 (15). Des mutations de la fibuline 5 peuvent également conduire une maladie dégénérative de la macula liée à l'âge.

4. Les autres composants de la matrice extracellulaire

Plusieurs glycoprotéines participent également à l'organisation structurale et la fonction de la matrice extracellulaire de la paroi aortique. Il s'agit notamment de la fibronectine, de la vitronectine, de la laminine, de l'entactine/nidogène, de la tenascine et de la thrombospondine 1. Ces diverses glycoprotéines, formées de multiples domaines, permettent de nombreuses interactions entre les composants de la matrice ainsi qu'avec les cellules (23). D'autres molécules entrent dans la composition de la matrice extracellulaire de la paroi aortique telles que l'acide hyaluronique, ou hyaluronan, et divers protéoglycans.

L'hyaluronan est un glycosaminoglycan linéaire composé de la répétition successive d'une unité disaccharidique unique composée d'acide D-glucuronique et de D-N-acétylglucosamine. Il assure un rôle structurel dans la matrice en séquestrant des molécules d'eau et des ions. Il est également capable de se lier à des récepteurs membranaires spécifiques et d'activer différentes voies de signalisation intracellulaire (24).

Les protéoglycans sont des protéines modifiées par l'accrochage, au niveau de résidus sérine, d'une ou plusieurs chaînes de glycosaminoglycans. Outre leur participation à la structuration de la matrice extracellulaire, ils sont capables de se lier à différents composants matriciels et d'assurer un grand nombre de rôles biologiques. Cette variété fonctionnelle est due à la grande versatilité de structure qu'ils peuvent adopter. Par ailleurs, l'hyaluronan sert de charpente à laquelle vient se fixer un grand nombre de molécules de protéoglycans (hyalectans) dont l'interaction est stabilisée par une petite protéine de liaison qui agrafe solidement les deux molécules entre elles. Le versican et l'aggrecan comptent parmi les hyalectans majoritaires de la paroi vasculaire (25). Le versican est présent notamment dans la media et l'intima (26). Outre un rôle structurel, il possède de multiples rôles biologiques, notamment grâce à l'existence de quatre isoformes. Il peut moduler l'adhésion cellulaire, intervient dans la réponse inflammatoire et, grâce à sa capacité à se lier à l'hyaluronan, il peut influencer la forme cellulaire, la prolifération et la migration (27). Les petits protéoglycans riches en leucine (SLRP) sont également présents dans la paroi vasculaire. Il s'agit du biglycan, de la décorine, de la fibromoduline et du lumican. Ces protéoglycans peuvent se lier à différentes molécules de la matrice comme le collagène, la fibronectine, la fibrilline mais n'interagissent pas avec l'hyaluronan (25). Au sein de la paroi vasculaire, le biglycan est localisé dans chaque couche de la paroi alors que la décorine est spécifiquement localisée dans l'adventice (28). On retrouve également au sein de la paroi aortique des protéohéparansulfates associés aux cellules (syndécan, fibroglycan et glypican) qui modulent notamment l'activité des récepteurs aux facteurs de croissance.

5. Les membranes basales

Les membranes basales constituent un type particulier de matrice extracellulaire. Elles sont principalement composées de collagène de type IV, de laminine, de nidogène et d'un protéohéparansulfate : le perlecan. La fibronectine, les fibulines et l'agrine sont également présentes mais en plus faible quantité. Ces différents éléments s'assemblent pour former un réseau en feuillet séparant divers compartiments tissulaires, tels l'intima et la media. Les membranes basales permettent également l'ancrage de nombreux types cellulaires, notamment par interaction entre les laminines et des intégrines spécifiques (29).

La majorité des données décrites dans cette première partie du manuscrit ont fait l'objet d'une publication sous la forme d'un chapitre de livre qui est annexé à la fin de cette introduction.

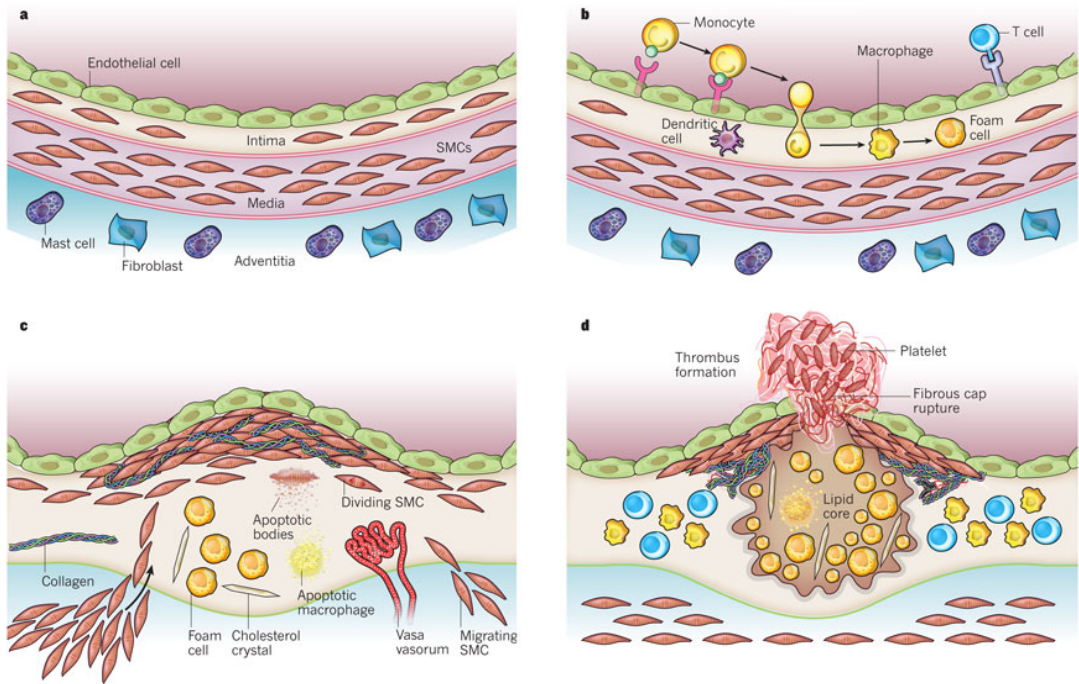


Figure 8. Stades de développement de la plaque d'athérosclérose. a) Vaisseau sain. b) Etape initiale comprenant l'adhésion des leucocytes à l'endothélium activé, leur migration transendothéliale et la formation des cellules spumeuses (foam cells). c) Migration vers l'intima des SMC qui y prolifèrent et synthétisent une matrice extracellulaire au niveau de la plaque d'athérome. Certaines cellules meurent et induisent la formation du cœur nécrotique de la plaque. Les plaques peuvent contenir des cristaux de cholestérol et des microvaisseaux. d) Formation d'un thrombus à la suite de la rupture de la plaque. Adapté d'après Libby et al., 2011 (30).

II. Pathologies vasculaires

Parmi les pathologies vasculaires les plus courantes, nous décrivons principalement l'athérosclérose en raison de sa prévalence élevée, les processus de resténose, les anévrismes de l'aorte ainsi que les dissections aortiques.

1. Athérosclérose

L'athérosclérose est une maladie chronique touchant les vaisseaux de moyens et gros calibres. Elle peut amener à des complications ischémiques telles que l'angine de poitrine, l'infarctus du myocarde, la claudication intermittente des membres inférieurs, des accidents vasculaires cérébraux ainsi que d'autres symptômes ischémiques divers. Elle se caractérise par un épaissement de l'intima, faisant suite à une accumulation de lipides (triglycérides et cholestérol), de glucides complexes et de débris cellulaires.

Le développement d'une plaque d'athérosclérose fait suite à une lésion initiale affectant l'endothélium vasculaire. Des molécules d'adhésion induisant la fixation des monocytes et lymphocytes à la surface de l'endothélium sont, en effet, exprimées par les cellules endothéliales suite à des stimuli divers (dyslipidémie, hypertension, médiateurs pro-inflammatoires). Des chimio-attractants induisent ensuite la migration des leucocytes au sein de l'intima où les monocytes mûrissent en macrophages. Parallèlement, des modifications de la perméabilité de l'endothélium et de la composition de la matrice extracellulaire sous-jacente permettent l'entrée de lipoprotéines de faible densité (LDL) dans la paroi vasculaire. Ces composés lipidiques peuvent être endocytés par les macrophages présents dans le tissu pour former des cellules gorgées de lipides appelées cellules spumeuses. La formation de la plaque d'athérosclérose implique également le recrutement de SMC de la media dans l'intima ainsi que leur prolifération en réponse à différents médiateurs. Les SMC vont alors produire des protéines de la matrice extracellulaire telles que le collagène et l'élastine qui formeront progressivement une coque fibreuse entourant la plaque. L'apoptose de cellules spumeuses et de SMC au niveau de cette plaque est responsable de l'accumulation de débris cellulaires et de cholestérol extracellulaire qui, ensemble, forment le cœur nécrotique de la plaque. La complication ultime est la formation d'un thrombus, un évènement qui se produit généralement après rupture de la plaque, par contact des plaquettes avec des substances procoagulantes (Figure 8, pour une revue voir

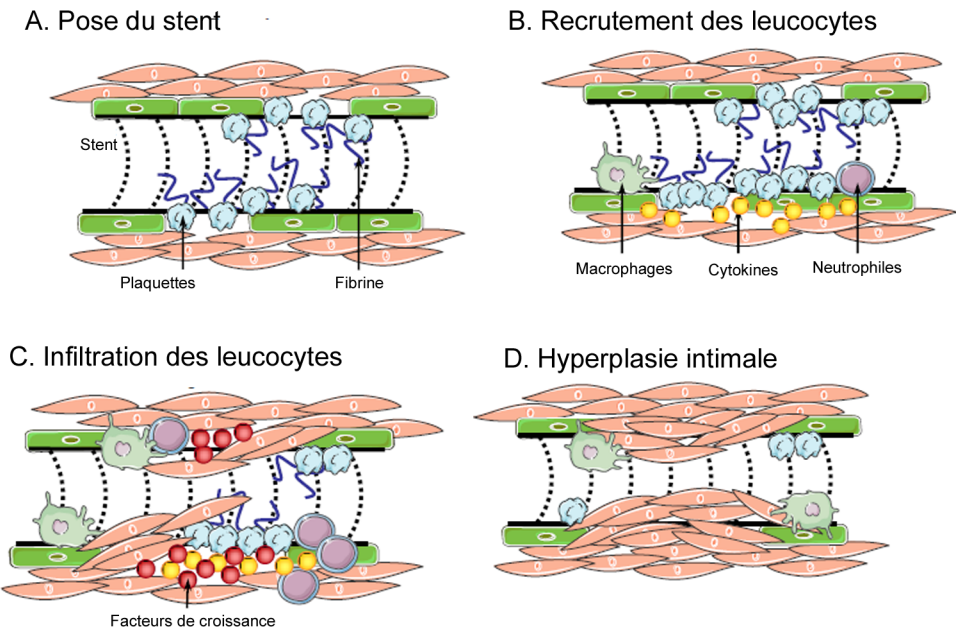


Figure 9. Mécanismes de la resténose. A) L'angioplastie et la pose du stent induisent une atteinte de l'intima avec agrégation de plaquettes et dépôt de fibrine. B) Les plaquettes produisent des molécules chimio-attractantes pour les leucocytes qui viennent s'ancrer à la surface de l'intima. C) Les leucocytes infiltrent l'intima et libèrent des facteurs de croissance induisant la migration des SMC et leur prolifération au sein de l'intima. D) L'hyperplasie intimale induit un rétrécissement de la lumière du vaisseau avec comme conséquence une diminution du flux sanguin. Modifié par Fougerat A, 2010.(31) d'après Costa et al., 2005 (32).

(30)). La présence d'une plaque d'athérosclérose induit différentes manifestations cliniques, telles que des ischémies tissulaires par réduction du flux sanguin ou l'obstruction totale par la présence d'un thrombus. Il existe différents facteurs de risque de l'athérosclérose tels que l'hypertension, le tabagisme, le diabète et, bien sûr, le taux de LDL circulant.

2. Resténose

L'angioplastie est un traitement courant de l'athérosclérose. Il consiste en l'introduction dans l'artère d'un cathéter muni à son extrémité d'un ballonnet qui, lorsqu'il est gonflé, va compresser la plaque athéromateuse contre la paroi vasculaire afin de rétablir le flux sanguin. La principale complication de cette technique est la survenue d'une resténose. Le processus de resténose peut être précoce par retour élastique de l'artère. Pour empêcher cette réaction élastique, l'angioplastie s'accompagne dans la majorité des cas de la pose d'un stent au sein de l'artère.

La resténose tardive est liée à une hyperplasie intimale et un remodelage géométrique du vaisseau. L'angioplastie et la pose du stent peuvent induire une dénudation de l'endothélium, ce qui conduit à une agrégation des plaquettes puis à leur activation suivie par le recrutement et l'infiltration des leucocytes sous l'action de molécules chimio-attractantes. Une migration et prolifération des SMC accompagnées de la production des composants matriciels terminent le processus (32). La figure 9 reprend les principales étapes conduisant au processus de resténose.



Anévrisme de l'aorte thoracique ascendante



Anévrisme de la crosse aortique



Anévrisme de l'aorte thoracique descendante



Anévrisme de l'aorte abdominale

Figure 10. Les différents types d'anévrismes de l'aorte. En fonction de la localisation de la dilatation, on parlera d'anévrisme de l'aorte thoracique ou abdominale. Les anévrismes thoraciques se développent au niveau de la portion ascendante de l'aorte, au niveau de la crosse aortique ou de la portion descendante de l'aorte. Les anévrismes abdominaux se localisent au niveau de la portion infrarénale de l'aorte.

3. Anévrismes

Le mot « anévrisme » provient du grec « *ανευρυσμα* » (aneurusma) signifiant élargissement. Il définit une dilatation localisée permanente et irréversible d'un vaisseau sanguin. On le décrira comme « vrai » si la dilatation affecte les trois couches de la paroi vasculaire et de « pseudoanévrisme » dans les autres cas. Il existe deux classes différentes d'anévrismes : ils sont dits « fusiformes » lorsqu'ils affectent la circonférence entière du vaisseau et « sacculaires » lorsque l'atteinte est partielle. Ces derniers sont de loin les moins fréquents.

Au niveau de l'aorte, les anévrismes peuvent également être catégorisés en fonction de leur localisation anatomique. On distingue les anévrismes thoraciques (TAA) (dont 60% sont localisés au niveau de la portion ascendante et de la crosse et 40% dans l'aorte descendante (33)), les anévrismes thoraco-abdominaux qui débutent au-dessus de la base du diaphragme et s'étendent dans la cavité abdominale et les anévrismes abdominaux (AAA) qui sont localisés en-dessous du diaphragme au niveau de la portion supra- ou infrarénale de l'aorte (Figure 10). Le développement de ces deux types d'anévrismes implique des mécanismes pathobiologiques distincts alors qu'ils affectent pourtant la même artère. Ceci trouve son origine dans les propriétés structurales et biochimiques différentes caractérisant ces deux segments de l'aorte. L'aorte ascendante possède, par exemple, un nombre plus élevé d'unités lamellaires que l'aorte abdominale. Elle contient également plus d'élastine et de collagène mais le rapport « collagène/élastine » y est plus faible (34, 35). De plus, comme décrit précédemment, les SMC de l'aorte thoracique sont issues de la crête neurale alors que dans l'aorte abdominale, elles sont d'origine mésodermique ou proviennent d'une trans-différenciation de plusieurs types cellulaires (36). Les travaux décrits dans ce mémoire portent essentiellement sur les anévrismes de l'aorte abdominale infra-rénale, ils feront l'objet d'une description plus détaillée dans la partie III de cette introduction.

Classification de DeBakey

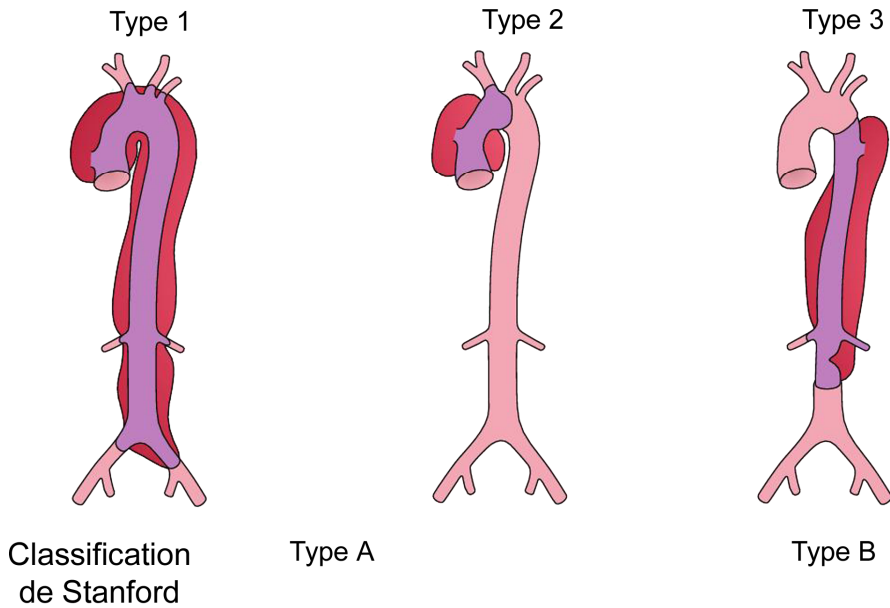


Figure 11. Classification des dissections aortiques. Selon la classification de DeBakey, la dissection est de type 1 lorsque l'entièreté de l'aorte est atteinte. On parlera de type 2 ou de type 3 lorsqu'elle ne touche, respectivement, que les portions ascendante ou descendante. Selon la classification de Stanford, les dissections sont dites de type A si la portion ascendante est atteinte ou de type B si elle ne l'est pas.

4. Dissections

La dissection aortique peut être définie comme le clivage longitudinal de la media sur une plus ou moins grande longueur. Elle fait suite à une rupture de l'intima et à une irruption de sang au sein de la paroi. Leur incidence est de 3 cas sur 100.000 personnes par an avec, par ailleurs, un taux de mortalité élevé dans le cas de dissections symptomatiques (37). Les mécanismes conduisant à une dissection impliquent une dégénération préalable de la media de l'aorte et un remodelage matriciel. Un anévrisme de l'aorte thoracique peut être présent avant la formation de la dissection. Dans la majorité des cas cependant, il ne se développe qu'après celle-ci et peut donc être considéré comme une complication de la dissection. De nos jours, deux méthodes de classification sont plus particulièrement utilisées (38). Dans celle de Stanford, les dissections sont de type A quand elles impliquent la portion ascendante de l'aorte ou de type B si elle n'affecte pas cette partie. Dans la classification de DeBakey, les dissections sont dites de type 1 si l'entière de l'aorte est altérée, de type 2 si seule la portion ascendante est affectée ou de type 3 lorsqu'elle atteint uniquement la portion aortique qui débute au niveau de l'artère sous-clavière gauche et continue jusqu'à la bifurcation iliaque (Figure 11). Dans ces deux classifications, le type B de Stanford correspond donc au type 3 de DeBakey. Il existe de nombreux facteurs de risques d'origine génétique des dissections. C'est notamment le cas du syndrome de Marfan ou du syndrome d'Ehlers-Danlos de type IV. Dans le syndrome de Marfan, une mutation au niveau du gène de la fibrilline-1 induit une défectuosité des fibres élastiques ainsi que la libération anormale de TGF β , ce qui active des voies spécifiques de signalisation qui, à leur tour, provoquent des remodelages anormaux de la matrice extracellulaire (22). Dans le syndrome d'Ehlers-Danlos de type IV, un défaut de synthèse ou de sécrétion de procollagène de type III affecte la composition des fibres de collagène et les propriétés de la matrice conjonctive, notamment au niveau de la media (39). D'autres troubles génétiques du tissu conjonctif ou de natures plus diverses peuvent également conduire à la formation de dissections. C'est notamment le cas de la polykystose rénale autosomale dominante (ADPKD pour « *autosomal dominant polycystic kidney disease* ») où des mutations des gènes PKD1 ou 2 codant pour les polycystine 1 et 2 sont impliquées. Nous rapportons un de ces cas dans la partie IV de nos résultats.

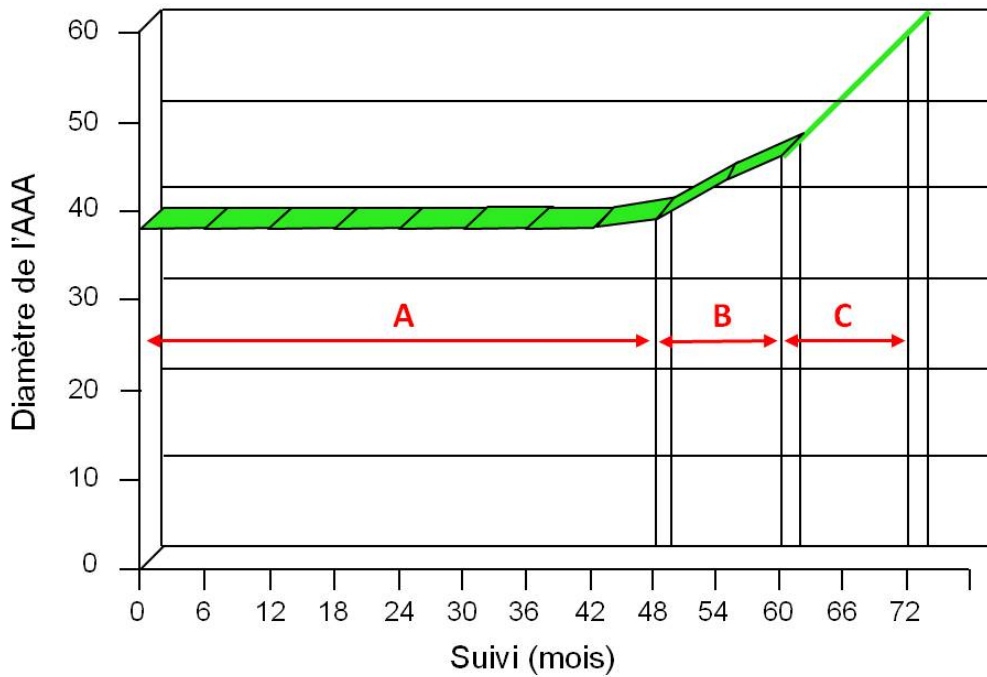


Figure 12. Evolution du diamètre des anévrysmes de l'aorte abdominale. Trois phases sont généralement observées durant le développement de l'AAA : une phase de stabilité (A), une phase critique (B) et une phase d'accélération (C). Adapté d'après Limet et al., 1991 (40) et d'après Limet et al., 1990 (41).

III. Anévrismes de l'aorte abdominale

1. Définition et histoire naturelle

Les anévrismes de l'aorte abdominale (AAA) se localisent au niveau de l'aorte sous-diaphragmatique. Le diamètre normal de cette partie de l'aorte varie avec l'âge, le sexe et la masse corporelle. Il diminue progressivement depuis l'entrée dans la cavité abdominale jusqu'à la bifurcation iliaque. Chez les hommes âgés, il est compris entre 15 et 24 mm (42). Mc Gregor *et al.* ont proposé une définition de l'AAA infrarénale comme étant une dilatation de l'aorte à ce niveau de plus de 30 mm de diamètre (43).

Environ 5-10% des AAA sont dits inflammatoires (IAAA). Ils sont caractérisés par un épaissement de la paroi aortique, une colonisation importante par des cellules inflammatoires (principalement des lymphocytes), la présence d'une fibrose péri-anévrysmale et une adhésion très dense des organes adjacents à l'anévrisme (44). Les IAAA ne seront plus considérés dans cette introduction car nos travaux de recherche ont porté essentiellement sur les anévrismes abdominaux infrarénaux fusiformes non-inflammatoires qui seront désigné plus simplement AAA.

Le taux de croissance moyen d'un anévrisme abdominal est d'environ 2.6 mm par an (45). La croissance d'un AAA n'est toutefois pas linéaire au cours du temps mais adopte le plus souvent une courbe exponentielle (figure 12) (40). En effet, si certains anévrismes restent stables, la plupart d'entre eux présentent un taux de croissance annuel qui s'accélère au cours du temps et qui est lié à la taille de l'AAA au moment de son diagnostic et de sa vitesse de croissance initiale. Par ailleurs, une accélération de la croissance est souvent observée avant la rupture, ce qui souligne l'importance du suivi des patients.

2. Prévalence et épidémiologie

Le nombre d'AAA recensés a augmenté durant ces 20 dernières années, en raison du vieillissement de la population, du développement de programmes de dépistage et de l'amélioration des outils de diagnostic. Chez les hommes âgés de 65 à 80 ans, des études épidémiologiques ont montré que la prévalence des AAA était de 4 à 8% (46, 47, 48, 49) alors qu'elle n'est que de 1.3% chez les femmes selon une étude réalisée au Royaume Uni (50). Ces différences entre hommes et

femmes ont toutefois tendance à se réduire, peut-être en raison de l'accroissement du tabagisme dans la population féminine durant ces dernières décennies.

La rupture d'anévrisme est fatale dans 65-85% des cas (51) et représente aujourd'hui 1 à 2% de tous les décès dans les pays industrialisés (52). Son incidence est en croissance, probablement en raison de l'allongement de la durée de vie. Il faut, par ailleurs, mentionner que le nombre de décès causés par une rupture d'anévrisme est probablement sous-estimé en raison du faible nombre d'autopsies réalisées.

3. Etiologie et facteurs de risques

Les causes de la dilatation anévrysmale sont multiples. Quelques cas d'anévrysmes peuvent être une conséquence directe de causes spécifiques telles que des traumatismes, des infections aiguës ou chroniques (tuberculose), des maladies inflammatoires (maladie de Behcet et de Takayasu) ou des troubles génétiques des tissus conjonctifs (Syndrome de Marfan, Ehlers-Danlos de type IV). La majorité des anévrysmes sont dits « non-spécifiques » car ils n'ont pas d'étiologie connue. Les AAA sont traditionnellement considérés comme une complication de l'athérosclérose puisqu'ils sont invariablement associés à des dommages athéromateux de la paroi vasculaire. Ce point de vue est cependant de plus en plus contesté en raison d'études démontrant que les mécanismes sous-tendant le développement des AAA et de l'athérosclérose diffèrent sur divers aspects (53). Une différence majeure entre ces deux pathologies est que l'athérosclérose peut toucher des sujets jeunes alors que les AAA ne se développent pratiquement que chez des personnes âgées. Bien que la majorité des facteurs de risques associés soient identiques, certaines différences sont notamment observées au niveau des susceptibilités génétiques.

L'âge et le genre sont deux facteurs de risques très importants du développement d'un anévrisme. Les AAA sont rares chez les hommes de moins de 65 ans et le risque de développer un anévrisme augmente avec l'âge (54). Comme expliqué précédemment, les hommes ont de plus grands risques de développer un AAA que les femmes. Cette protection observée chez les femmes pourrait être due à des facteurs hormonaux ou une exposition moindre aux facteurs de risque environnementaux (55).

Le tabagisme représente sans doute le facteur de risque le plus important des maladies cardiovasculaires. Fumer augmente le risque relatif de développement d'un anévrisme d'environ 7,6

Tableau 1. Gènes candidats identifiés dans des études d'association génétiques pour les AAA.

Symbole du gène	Nom du gène	Localisation chromosomique
1. MEC		
ABCC6	ATP-binding cassette, sub-family C, member 6	16p13.1
COL3A1	Collagen, type III, alpha 1	2q31
ELN	Elastin	7q11.23
FBN1	Fibrillin 1	15q21.1
MMP1	Matrix metallopeptidase 1	11q22.3
MMP10	Matrix metallopeptidase 10	11q22.3
MMP12	Matrix metallopeptidase 12	11q22.3
MMP13	Matrix metallopeptidase 13	11q22.3
MMP2	Matrix metallopeptidase 2	16q13-q21
MMP3	Matrix metallopeptidase 3	11q22.3
MMP9	Matrix metallopeptidase 9	20q11.2-q13.1
SERPINA1	Serpin peptidase inhibitor, class A, member 1	14q32.1
SERPINE1	Serpin peptidase inhibitor, class E, member 1	7q21.3-q22
SPP1	Secreted phosphoprotein 1 (osteopontin)	4q21-q25
TIMP1	TIMP metallopeptidase inhibitor 1	Xp11.3-p11.23
TIMP2	TIMP metallopeptidase inhibitor 2	17q25
TIMP3	TIMP metallopeptidase inhibitor 3	22q12.3
2. Cardiovasculaire		
ACE	Angiotensin I converting enzyme	17q23.3
AGT	Angiotensinogen	1q42-q43
AGTR1	Angiotensin II receptor, type 1	3q21-q25
APOB	Apolipoprotein B	2p24-p23
APOE	Apolipoprotein E	19q13.2
BDKRB2	Bradykinin receptor B2	14q32.1-q32.2
CETP	Cholesteryl ester transfer protein, plasma	16q21
F2	Coagulation factor II (thrombin)	11p11
F5	Coagulation factor V	1q23
MTHFR	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase	1p36.3
NOS3	Nitric oxide synthase 3	7q36
3. Immunité		
CCR5	Chemokine (C-C motif) receptor 5	3p21.31
HLA locus	Human leukocyte antigen	6p21.31
IL10	Interleukin 10	1q31-q32
IL1B	Interleukin 1, beta	2q14
IL6	Interleukin 6	7p21
PLA2G7	Phospholipase A2, group VII	6p21.2-p12
TNF	Tumor necrosis factor	6p21.3
4. Signalisation		
ESR1	Estrogen receptor 1	6q25.1
ESR2	Estrogen receptor 2	14q23.2
PGR	Progesterone receptor	11q22-q23
TGFB1	Transforming growth factor, beta 1	19q13.1
5. Autres		
CST3	Cystatin C	20p11.21
HMOX1	Heme oxygenase 1	22q13.1
HP	Haptoglobin	16q22.1

Modifié d'après Kuivaniemi et al., 2008 (56).

fois (57). Un homme fumant plus de 25 cigarettes par jour a 15 fois plus de risques de développer un AAA qu'un homme n'ayant jamais fumé (58). De plus, un fumeur aura un taux de croissance de son anévrisme plus rapide qu'un non-fumeur (59). Une hyperlipidémie, principalement un taux élevé de cholestérol, et l'hypertension sont également associée avec les AAA (49, 60).

Il est important de noter que le diabète, qui est pourtant un facteur de risque de l'athérosclérose, a un effet protecteur envers le développement des anévrysmes, avec une prévalence plus faible et une croissance moins rapide des AAA dans la population des patients diabétiques (61, 62).

Enfin, les AAA possèdent une composante génétique complexe. En 1977, Clifton décrit une famille où 3 frères présentent un AAA et suggère l'existence d'un trait héréditaire sous-jacent (63). De nombreuses autres études ont mis en évidence une prévalence moyenne des anévrysmes de 13% dans cette population particulière avec antécédents familiaux (pour une revue des différentes études voir Kuivaniemi, 2008 (56)). En 1995, une étude de notre département a estimé que, dans la population belge, le risque relatif pour les membres d'une famille d'un patient atteint d'un AAA était 18 fois plus élevé que dans la population générale (64). Selon une large étude multinationale, le mode de transmission est autosomal récessif dans 70% des cas et dominant dans les 30% restants (56).

Des études d'association visant l'ensemble du génome ont permis la mise en évidence de deux loci, 19q13 et 4q31, qui seraient plus particulièrement liés à une prédisposition à développer un AAA. Une étude récente suggère également une corrélation entre l'apparition d'AAA ou d'anévrysmes cérébraux et la présence d'un variant commun précédemment décrit comme associé aux affections des artères coronaires (rs10757278) (65).

D'autres études génétiques plus ciblées ont tenté d'évaluer l'implication d'acteurs potentiellement liés au développement des AAA, tels que des enzymes, des facteurs de l'inflammation, des composants de la matrice extracellulaire ou des gènes impliqués dans le système cardiovasculaire (66, 67). Les principaux gènes identifiés et étudiés sont rapportés dans le tableau 1. Bien que des corrélations positives aient été mises en évidence, il apparaît qu'aucun gène spécifique n'émerge comme facteur critique pour le développement des AAA. La composante génétique des AAA est donc complexe et implique vraisemblablement une combinaison de polymorphismes prédisposant à sa formation agissant en conjonction avec les facteurs environnementaux.

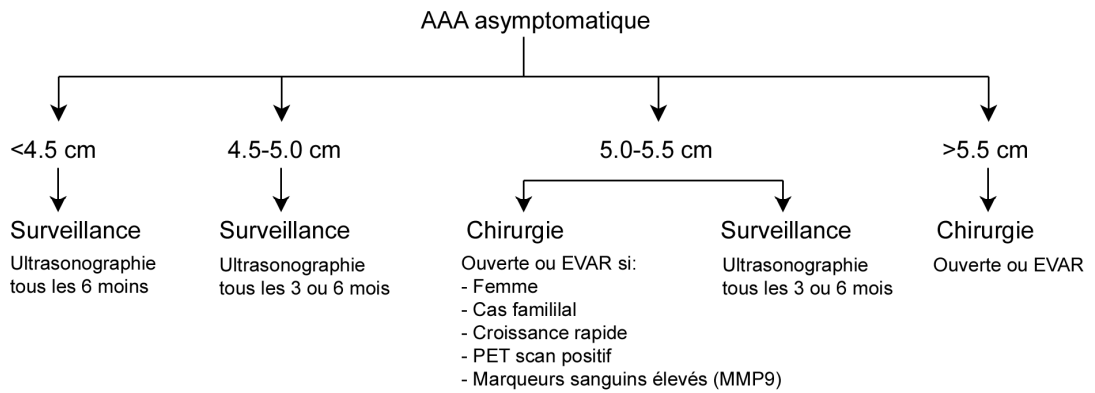


Figure 13. Schéma de prise en charge proposé pour un anévrisme de l'aorte abdominale asymptomatique. EVAR, réparation endovasculaire. D'après Sakalihan et al., 2005 (51).

4. Méthodes de diagnostic

Les anévrismes sont asymptomatiques dans la grande majorité des cas. Ils sont donc le plus souvent diagnostiqués incidemment durant un examen clinique réalisé dans le cadre d'une autre maladie ou durant un programme de dépistage. Les anévrismes peuvent être détectés par une palpation de l'abdomen, à condition qu'il soit d'une certaine taille (supérieure à 40 mm) et que le patient ne soit pas en surpoids. Le praticien détectera alors une pulsation abdominale ressemblant à la pulsation cardiaque. Cette technique simple apporte néanmoins quelques faux positifs et doit bien sûr être complétée par d'autres approches plus sensibles. L'ultrasonographie est l'examen le plus simple, le moins onéreux et le plus fiable (près de 100%) pour le diagnostic d'un AAA. Il permet, en outre, de mesurer la taille de l'anévrisme avec une erreur potentielle de 3 mm (68). Il s'agit de l'examen classiquement utilisé pour le suivi et le dépistage des patients. Une fois que l'anévrisme a atteint le diamètre critique de 55 mm, des examens complémentaires sont effectués afin de décider du traitement chirurgical à mettre en place. Il peut alors s'agir de tomodensitométrie (CT pour *computed tomography*) ou d'imagerie par résonance magnétique (IRM). Ces examens permettent une meilleure visualisation de l'entièreté de l'anévrisme (taille du thrombus, présence éventuelle d'un saignement, épaisseur de la paroi, collet de l'anévrisme) et de la bifurcation iliaque, et guident le choix du traitement chirurgical. Sakalihan *et al.* ont proposé un schéma de prise en charge des patients présentant un AAA asymptomatique (Figure 13, (51)).

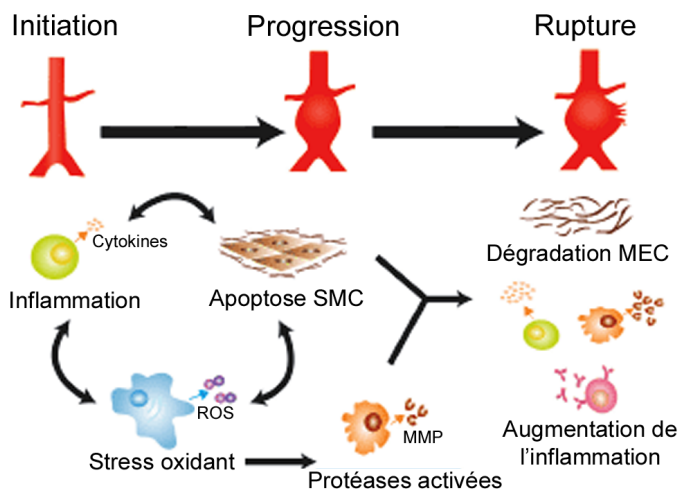


Figure 14. Processus impliqués dans la pathobiologie des AAA. SMC, cellules musculaires lisses ; MEC, matrice extracellulaire ; ROS, radicaux libres de l'oxygène ; MMP, métalloprotéases matricielles. Adapté d'après Boddy et al., 2008 (69).

5. Pathobiologie

La formation et la progression des AAA résultent d'interactions complexes entre les facteurs de risques que nous avons évoqués dans une section précédente et des composantes hémodynamiques et génétiques. Ces interactions multifactorielles conduisent à la mise en place de processus pathobiologiques comprenant une inflammation chronique, la production de substances radicalaires, une apoptose des SMC et un remodelage de la matrice extracellulaire (figure 14). Ces différents processus sont brièvement passés en revue ci-dessous.

5.1. Inflammation

En raison de la présence de lésions athéroscléreuses au niveau de l'intima, la réponse inflammatoire a depuis longtemps été considérée comme un processus dit « *inside-out* » centré sur l'adhésion des leucocytes au niveau de l'intima et leur migration trans-endothéliale vers la media. Un nouveau concept « *outside-in* » a cependant vu le jour selon lequel les cellules inflammatoires pénétreraient la paroi aortique à partir des vasa vasorum présents dans l'adventice (voir Maiellaro, 2007 pour une revue détaillée (13)). Une néovascularisation importante de l'adventice et de la couche externe de la media renforcerait l'infiltration leucocytaire (70, 71). Dans les AAA, le processus inflammatoire implique des macrophages, les lymphocytes et d'autres cellules sanguines telles que les mastocytes (pour revue voir (72)).

Les macrophages envahissent la paroi vasculaire par pénétration trans-endothéliale et migrent au sein de la media. Ils sont considérés comme étant les premières cellules inflammatoires infiltrant la paroi anévrysmale. Ils sécrètent différentes protéases et cytokines responsables du recrutement d'autres cellules inflammatoires, de l'apoptose des SMC et du remodelage matriciel.

Les lymphocytes sont les cellules inflammatoires les plus représentées dans les AAA installés. Le phénotype CD4+, ou lymphocytes T helper, prédomine dans la paroi, principalement au niveau de l'adventice (73). Des lymphocytes B de type mémoire sont également présents et peuvent former avec les cellules T des organes lymphoïdes tertiaires adventitiels (ATLO) (74). Ces structures folliculaires sont formées d'un cœur de lymphocytes B entouré de lymphocytes T. Les deux types cellulaires y sont en prolifération. De manière directe et indirecte, les lymphocytes sont responsables

de la production de cytokines pro-inflammatoires qui modulent la réponse immunitaire. Ils produisent également la perforine qui est impliquée dans l'induction de l'apoptose des SMC (75).

La présence de chymase au sein des AAA a été récemment détectée. Elle suggère une implication des mastocytes dans la pathologie (76). Ceux-ci sont associés aux néovaisseaux de la media et de l'adventice et produisent une variété de cytokines. Enfin, la présence de lymphocytes NK (*Natural killer*) dans les anévrismes est controversée. Bien qu'une augmentation du niveau circulant de ces cellules ait été mise en évidence, elles ne sont pas toujours présentes dans la paroi anévrysmale (77).

L'ensemble de ces cellules inflammatoires produisent de nombreux facteurs tels que des protéases, des radicaux libres de l'oxygène, des immunoglobulines ainsi que des cytokines impliquées dans les différents processus déterminants dans la progression des AAA tels que l'apoptose des SMC et le remodelage de la matrice.

5.1.1. Les cytokines

Les cytokines sont des protéines de petits poids moléculaires produites par différents types de cellules inflammatoires, dont principalement les macrophages et les lymphocytes T, mais également par les cellules des vaisseaux. Elles exercent de multiples rôles qui dépendent de la cible cellulaire ainsi que du moment et du contexte dans lesquels elles sont produites. Elles sont pour la plupart sécrétées sous forme inactive nécessitant un clivage pour leur activation.

Les principales classes de cytokines sont :

- Les membres de la superfamille du TNF (*tumor necrosis factor*).
- Les interleukines.
- Les membres de la famille du TGF.
- Les chimiokines, impliquées dans l'attraction des cellules ou chimiotactisme, qui sont subdivisées en quatre groupes en fonction de la présence d'un résidu cystéine conservé au niveau N-terminal et d'une région variable X (XC, CC, CXC, CX3C).

Tableau 2. Sources, cellules cibles et fonctions des cytokines potentiellement impliquées dans les AAA.

Cytokine	Sources	Cellules cibles	Fonctions
IL1 β	Monocytes, macrophages, Lymphocytes T et B, EC, SMC	Lymphocytes T helper et B, NK, EC, SMC	Co-stimulation, maturation lymphocytes, prolifération, migration SMC
IL4	Th2, mastocytes	Lymphocytes B et T, macrophages, mastocytes, cellules souches	Prolifération et différenciation des lymphocytes B et Th2, stimulation des VCAM,
IL5	Th2, mastocytes, EC	Lymphocytes B	Prolifération et différenciation
IL6	Monocytes, macrophages, Th2, EC, SMC, fibroblastes	Lymphocytes B et T, cellules souches, SMC, EC,	Prolifération, différenciation
IL8 (CXCL8)	Macrophages, EC, monocytes, lymphocytes T	Neutrophiles, lymphocytes T, monocytes	Chimiotaxisme, recrutement de leucocytes, pro-angiogène
IL10	Macrophages, lymphocytes T et B, monocytes, mastocytes	Macrophages, lymphocytes T et B	inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires, inhibe la réponse Th1, prolifération et différenciation des lymphocytes T, activation
IFN γ	Macrophages, Th1, Lymphocytes B, NK, SMC	Macrophages, lymphocytes, NK, EC, SMC	Induit la réponse Th1, inhibe la synthèse de la MEC par les SMC, prolifération, migration des SMC,
TNF α	Macrophages, mastocytes, NK, SMC, lymphocytes B	Macrophages, EC	Expression de cytokines, activation neutrophiles, augmentation perméabilité, stimulation molécules d'adhésion
MCP1 (CCL2)	Macrophages, monocytes, fibroblastes, EC, SMC	Monocytes, Lymphocytes T	Chimiotaxisme, recrutement des leucocytes
PGE2	Macrophages	SMC, lymphocytes T	Vasodilatateur, effets pro ou anti-inflammatoire sur les lymphocytes

IL (-1 β , -6, -8, -10, -12), interleukine ; IFN γ , interféron gamma ; TNF α , tumoral necrosis factor alpha ; MCP1, monocyte chemoattractant protein 1 ; PGE2, prostaglandine E2 ; EC, cellules endothéliales ; SMC, cellules musculaires lisses ; NK, natural killer ; Th2, lymphocytes T helper 2 ; Th1, lymphocytes T helper 1 ; VCAM, vascular cell adhesion molecule ; MEC, matrice extracellulaire. Adapté d'après Sprague et al., 2009 (78).

Le profil des cytokines impliquées dans le développement des AAA n'est pas encore clairement défini en raison de nombreux résultats contradictoires. Golledge *et al.* ont donc réalisé une méta-analyse comparative de ces différentes études (79). Selon celle-ci, la présence au sein de la paroi anévrysmale des cytokines IL1 β , IL6, IL8, TNF α , IFN γ , PGE2 et MCP1 est largement confirmée. Le TNF α , IFN γ et MCP1 semblent spécifiques des AAA alors que l'IL1 β , l'IL6, l'IL8 et la PGE2 sont également décrites dans l'athérosclérose. D'autres cytokines ont également été identifiées dans les anévrysmes comme l'IL4, l'IL5 et l'IL10 mais les résultats sont plus controversés (72). Le tableau 2 détaille les différentes cytokines potentiellement impliquées dans la progression des AAA avec leurs sources, leurs cibles et leurs fonctions principales.

5.2. Stress oxydant

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS pour « *reactive oxygen species* »), dont l'anion superoxyde (O $_2^-$), le peroxyde d'hydrogène (H $_2$ O $_2$) et les radicaux hydroxyle (OH \cdot), sont produites physiologiquement au cours de processus métaboliques et respiratoires. Elles régulent de nombreux processus tels que l'apoptose, la prolifération cellulaire, le maintien de l'homéostasie cellulaire ou la fertilisation. Leur activité est contrebalancée par la présence de systèmes antioxydants cellulaires ou extracellulaires qui peuvent être de nature enzymatique (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, glutathion transférase et reductase), et non-enzymatique (vitamine E et C, carotène, acide urique). La superoxyde dismutase, ou SOD, agit en convertissant l'anion superoxyde O $_2^-$ en H $_2$ O $_2$ qui est lui-même converti en molécules d'eau et d'oxygène grâce à l'action de la catalase. L'H $_2$ O $_2$ induit également l'oxydation du glutathion sous l'action de la glutathion peroxydase. Le stress oxydant et les dommages cellulaires et tissulaires qui s'ensuivent dépendent donc non seulement de la production de ROS mais également de la diminution de la capacité de leur neutralisation. L'inflammation est un exemple de surproduction de ROS supplantant les défenses antioxydantes.

A côté des ROS, il faut également mentionner les espèces réactives de l'azote (RNS). L'oxyde nitrique (NO) est produit par de nombreuses cellules de l'organisme. Il est synthétisé à partir de la L-arginine sous l'activité enzymatique des NO synthases (NOS), constitutives ou inducibles. Les cellules endothéliales produisent du NO sous l'effet des forces de cisaillement du flux sanguin et par activation de récepteurs aux substances vasoactives. Le NO diffuse vers les cellules musculaires lisses pour réguler leur relaxation. Il est également anti-agrégant. Durant la réaction inflammatoire,

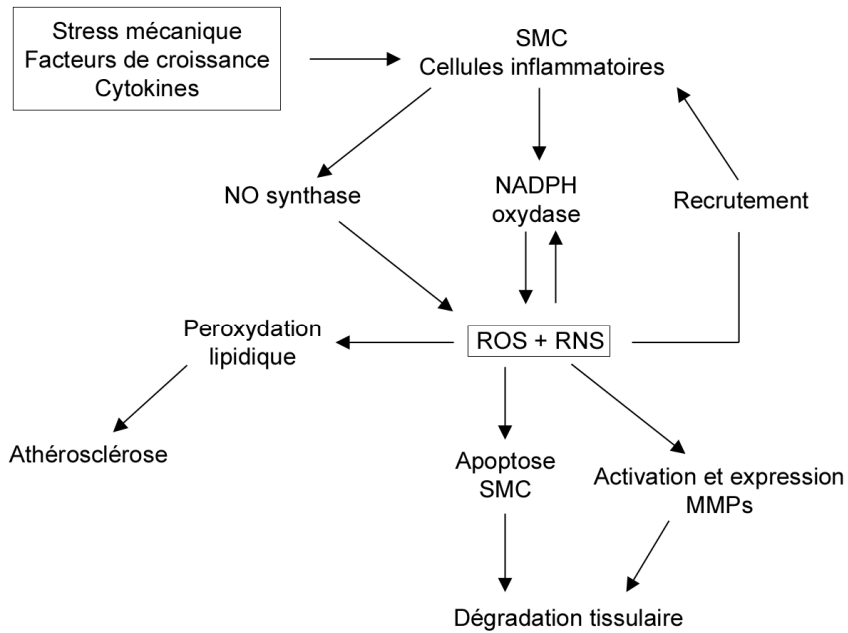


Figure 15. Stress oxydant dans la formation des AAA. ROS, espèces réactives de l'oxygène ; RNS, espèces réactives de l'azote ; MMPs, métalloprotéases matricielles. Adapté d'après Sakalihasan et al., 2011 (33).

l'expression de la NOS est fortement induite par les cytokines comme le TNF α et les interleukines, ce qui résulte en une production de larges quantités de NO qui peuvent réagir avec les anions superoxyde pour donner des peroxydites très toxiques.

L'implication des ROS et des RNS dans le développement des AAA a depuis longtemps été suggérée. Dubick *et al.* ont montré dès la fin des années 80 que le niveau d'activité de la SOD était réduit dans les AAA (80). Par la suite, les mêmes auteurs ont montré que la MnSOD, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase étaient également réduites dans les AAA alors que le niveau de production de peroxydation lipidique était accru (81). Enfin, un accroissement de la NO synthase ainsi qu'un niveau élevé d'anions superoxydes ont été décrits (82, 83). Ces données supportent la participation des ROS et des RNS dans le développement des AAA, et cela à plusieurs niveaux. Ils peuvent stimuler la transcription des protéases de la famille des métalloprotéases (MMP) et réguler leurs activités. Il a été montré, par exemple, que l'O $_2^-$ et le H $_2$ O $_2$ activent la sécrétion de MMP par les SMC (84). Par ailleurs, les ROS sont impliqués dans l'apoptose des SMC (83) et ils induisent la production de différentes chimiokines et conduisent ainsi au recrutement d'autres cellules inflammatoires au sein de l'anévrisme.

Dans la paroi anévrysmale, les cellules inflammatoires sont une des sources principales de ROS grâce à la NADPH oxydase présente au niveau de leur membrane. Les macrophages et les neutrophiles possèdent également une myéloperoxydase permettant la conversion de l'H $_2$ O $_2$ en HOCl. Celui-ci, en réagissant avec les apolipoprotéines des LDL, conduit à la formation de peroxydes lipidiques. Les SMC, les cellules endothéliales et les fibroblastes sont également capables de former du O $_2^-$ grâce à l'action d'une NADPH oxydase inductible. Celle-ci est induite par une variété de mécanismes, incluant le stress mécanique, et différents facteurs de croissance et cytokines. Enfin, les ROS et les peroxydes lipidiques sont capables à leur tour de stimuler l'activité de la NADPH oxydase déclenchant ainsi une boucle d'amplification de leur production (Figure 15, (83)).

5.3. Remodelage matriciel

Le remodelage de la matrice extracellulaire de la paroi aortique est un processus central dans la progression des AAA. Une dégradation considérable des fibres élastiques et une perte marquée de leur organisation semblent constituer une des premières étapes menant à la dilatation du vaisseau (85). En accord avec cette observation, Sakalihan *et al.* ont démontré une réduction précoce de la quantité d'élastine dans la paroi des petits anévrysmes. A l'inverse, la concentration en collagène y demeurait inchangée et une tendance à l'augmentation était même notée dans des anévrysmes de plus grande taille ou rompus (86), ce qui suggérerait l'existence d'un processus de réparation. Cette hypothèse est également supportée par une étude transcriptomique de notre groupe (87), par nos résultats exposés dans les parties II et III de ce mémoire, ainsi que par des publications d'autres auteurs (88). Il semble cependant que cette réparation soit insuffisante pour contrecarrer la progression de l'anévrysme. De plus, la composition et les propriétés mécaniques du tissu cicatriciel ne sont sans doute pas adéquates pour résister efficacement aux forces hémodynamiques.

Bien qu'ils soient quantitativement des composants mineurs, les protéoglycans influencent les propriétés biomécaniques et biologiques des vaisseaux. Des altérations dans la composition en protéoglycans ont été observées dans les AAA. Elles pourraient également jouer un rôle dans leur progression. Dans la paroi anévrysmale, une réduction substantielle de la concentration en versican a été mise en évidence, peut-être en raison de la perte de leurs cellules productrices, les SMC de la media, et/ou d'une dégradation accrue par des protéases de la famille des ADAMTS (89). Le biglycan, un petit protéoglycan lié aux fibres de collagène, est également présent en quantité réduite dans la paroi anévrysmale (28) alors que l'abondance de décorine, un autre protéoglycan associé aux fibres de collagène, n'est pas modifiée. Des régulations opposées par des cytokines ainsi qu'une résistance plus importante de la décorine aux protéases pourraient expliquer ces différences. La réduction des protéoglycans dans la paroi anévrysmale induit une diminution de la viscoélasticité et des capacités de résistance du vaisseau aux forces mécaniques et participerait ainsi à la déformation et à la dilatation de l'aorte.

La balance entre la synthèse et la dégradation de la matrice extracellulaire est donc un paramètre très important dans le développement des AAA, tout déséquilibre dans le sens de la dégradation favorisant la progression de l'anévrysme. De nombreuses protéases sont largement exprimées dans le tissu anévrysmal, dont majoritairement des métalloprotéases matricielles (MMP)

MMPs sécrétées:

- 1) "MMPs à domaine minimal": MMP7, MMP26
- 2) "MMPs contenant un domaine de type hémopexine":
MMP1, MMP3, MMP8, MMP10, MMP12, MMP13,
MMP18, MMP19, MMP20, MMP22, MMP27
- 3) "MMPs liant la gélatine": MMP2, MMP9
- 4) "MMPs sécrétées activables par des furines": MMP11, MMP28
- 5) "MMPs à domaine de type vitronectine": MMP21 (XMMP)

MMPs associées à la membrane:

- 6) "MMPs à domaine transmembranaires":
MMP14 (MT1-MMP), MMP15 (MT2-MMP),
MMP16 (MT3-MMP), MMP24 (MT5-MMP)
- 7) "MMPs à ancrage GPI": MMP17 (MT4-MMP), MMP25 (MT6-MMP)
- 8) "MMPs transmembranaires de type II": MMP23

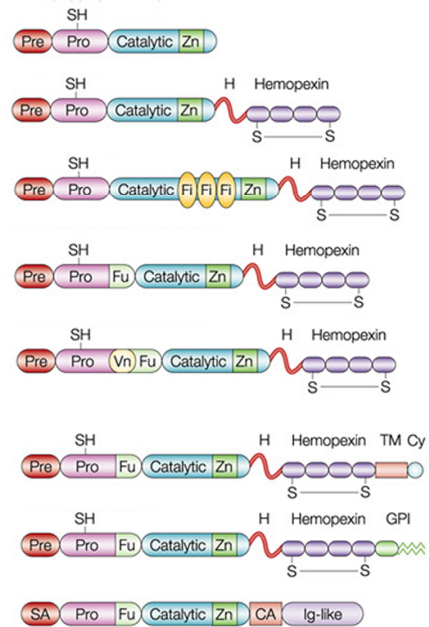


Figure 16. Classification des MMPs. Pre, peptide signal ; Pro, pro-peptide ; Fi, domaine de type fibronectine ; Fu, domaine clivé par la furine ; Vn, domaine vitronectine ; SA, domaine de liaison N-terminal ; Cy, domaine cytoplasmique ; TM, domaine transmembranaire ; GPI, résidu glycosylphosphatidylinositol ; CA, groupe de résidus cystéine. Adapté d'après Egeblad et al., 2002 (90).

qui sont synthétisées par les cellules résidentes de la paroi (fibroblastes et SMC) et par les cellules inflammatoires.

5.3.1. La famille des MMPs

Les métalloprotéases matricielles (MMP), aussi appelées matrixines, font partie de la superfamille des metzincines au même titre que les serralysines, les astacines et les adamalysines (ADAMs et ADAMTS). Les metzincines sont des protéases possédant un motif conservé HExxHxxGxxH permettant la liaison d'un ion zinc dans le site catalytique, suivi d'une courte séquence contenant une méthionine cruciale pour la conformation tridimensionnelle et la stabilité du site catalytique. A ce jour, 23 MMPs ont été identifiées chez les mammifères et sont classées en huit groupes en fonction de leurs caractéristiques structurales et fonctionnelles (Figure 16). Cinq groupes comprennent des MMPs sécrétées et trois sont formés de MMPs membranaires. Les MMPs contiennent différents domaines structuraux dont certains ne sont présents que dans certains groupes :

- Un peptide signal amino-terminal qui est clivé au niveau du réticulum endoplasmique.
- Un pro-peptide contenant un résidu cystéine qui interagit avec le zinc du domaine catalytique et le maintient inactif (forme latente).
- Un site furine clivé par certaines sérine protéases (proprotéines convertases de type furine).
- Un domaine catalytique formant le site de liaison au zinc.
- Un domaine hémopexine contenant un pont disulfure entre ses parties N- et C-terminales est présent chez certaines MMPs. Il influence la liaison des MMPs avec leurs inhibiteurs (TIMP) ou certains substrats et molécules de surface.
- Un domaine de type fibronectine est nécessaire pour la liaison des MMP2 et MMP9 à leurs substrats.
- Parmi les MMPs associées à la membrane, on retrouve soit un domaine transmembranaire et une courte extrémité cytoplasmique (MMP14, MMP15, MMP16 et MMP24), soit un domaine d'ancrage GPI (MMP17 et MMP25), soit encore un domaine de liaison N-terminal (MMP23).

Les MMPs sont principalement régulées au niveau transcriptionnel à l'exception de la MMP2 qui est constitutivement exprimée mais dont l'activité est néanmoins régulée à d'autres niveaux. De nombreux médiateurs biologiques sont impliqués dans la régulation de l'expression des MMPs, dont notamment des cytokines et des facteurs de croissances. Elles sont synthétisées sous forme latente et leur activation est réalisée par clivage du propeptide par d'autres protéases (par exemple d'autres MMPs déjà activées ou la plasmine elle-même générée par activation du plasminogène par le tPA ou l'uPA). Cette activation a généralement lieu dans le milieu extracellulaire, à l'exception des MMPs contenant un domaine de reconnaissance par la furine pour lesquelles l'activation a lieu en cours de sécrétion par des sérine protéases spécifiques. Par ailleurs, l'activité des MMPs est régulée par différents inhibiteurs physiologiques. Les TIMPs représentent une famille de quatre inhibiteurs possédant des affinités spécifiques pour diverses MMPs. TIMP2, en plus de son action inhibitrice, possède également une fonction activatrice de la MMP2 puisqu'il fait partie d'un tri-complexe au niveau de la membrane cellulaire permettant à la MMP14 (MT1-MMP) d'activer la MMP2 (91). L' α 2-macroglobuline est un inhibiteur circulant à large spectre qui inhibe une série de protéases incluant les MMPs. Enfin, RECK, une glycoprotéine associée à la membrane est également capable d'inhiber certaines MMPs. Il existe par ailleurs des inhibiteurs synthétiques des MMPs tels que les tétracyclines, des pseudo-peptides ou encore les statines.

Les MMPs sont impliquées dans la dégradation de nombreux composants de la matrice extracellulaire, possèdent des affinités variables pour ces substrats et peuvent donc être également classées sur base de leur cible principale. Par exemple, les MMP1, 8 et 13 ont les collagènes fibrillaires pour substrats préférentiels et sont donc appelées collagénases. La MMP12 dégrade préférentiellement l'élastine tandis que les MMP2 et 9 peuvent également être qualifiées d'élastases bien qu'elles aient d'autres substrats. D'autres MMPs sont impliquées dans la dégradation des protéoglycans et des glycoprotéines matricielles.

En plus de la dégradation des macromolécules de la matrice extracellulaire, les MMPs possèdent d'autres fonctions. Elles modulent notamment l'inflammation en régulant l'activité des cytokines par clivage de leur prodomaine de latence. C'est notamment le cas du TNF α et de l'IL1 β . Elles peuvent également induire l'activation du TGF β en permettant sa libération du LTBP. Enfin, elles inhibent une variété de chimiokines en les convertissant en dérivés antagonistes (voir revue de Parks, 2004 (92)). Les MMPs régulent également le phénotype des SMC de la media en dégradant les membranes basales péricellulaires et en modifiant les interactions entre cellules. Les SMC ainsi « libérées » expriment alors un profil différent d'intégrines à leur surface qui vont, à leur tour,

Tableau 3. MMPs impliquées dans les AAA.

MMP	Substrats	Sources
MMP1	Collagène I, II, III, VII, VIII et X; gélatine; protéoglycans, MMP2 et MMP9	Fibroblastes, plaquettes
MMP8	Collagène I, II, III, V, VIII et X; gélatine; protéoglycans; aggrecan	Neutrophiles, macrophages, cellules T, cellules endothéliales, SMC
MMP13	Collagène I, II, III, IV, XI et XIV; gélatine; fibronectine; ostéonectine	SMC
MMP2	Collagène I, II, III, IV, V, VII, X et XI; gélatine; élastine; fibronectine, protéoglycans, aggrecan	SMC, fibroblastes, macrophages, plaquettes
MMP9	Collagène IV, V, VII, XI et XIV; gélatine; élastine; vitronectine	Macrophages, SMC, plaquettes
MMP3	Collagène II, III, IV, IX, X et XI; fibronectine; laminine; MMP1, MMP7, MMP8 et MMP13	SMC, fibroblastes, plaquettes
MMP12	Collagène IV; élastine; fibronectine, laminine	Macrophages
MMP14	Collagène I, II, III, MMP2 et MMP13	Fibroblastes, SMC, plaquettes

Adapté d'après Busti et al., 2010 (93).

activer des voies de signalisation intracellulaire régulant leur migration, leur prolifération et leur apoptose. Par ailleurs, les MMPs libèrent des facteurs de croissance fixés aux protéohéparansulfate de la matrice, dont le FGF2 et l'HB-EGF qui sont de puissants agents mitotiques des SMC (pour une revue, Newby, 2006 (94)).

5.3.2. Les MMPs dans les AAA :

De nombreuses MMPs et certains de leurs inhibiteurs et activateurs sont présents dans la paroi anévrysmale. Ils sont produits non seulement par les cellules résidentes mais également par les cellules inflammatoires et les plaquettes. Les différentes MMPs impliquées dans les AAA ainsi que leurs cibles et leurs sources connues sont mentionnées dans le tableau 3.

La MMP2 et la MMP9 sont les MMPs qui ont été les plus étudiées dans la progression des AAA. Elles possèdent une activité élastolytique primordiale dans la dégradation de l'élastine dans les anévrysmes. Notre groupe a été le premier à montrer que la MMP2 et la MMP9 ainsi que leurs formes activées étaient accrues dans les AAA par rapport à des aortes saines (95), une observation confirmée par de nombreuses études (96, 97). La MMP9 est quantitativement la plus exprimée. Dans un modèle utilisant des souris n'exprimant pas la MMP9 (MMP9-KO), on observe une suppression de la dilatation aortique et une préservation des fibres élastiques, soulignant ainsi le rôle important de cette protéase dans le développement des AAA (98). La MMP2 est constitutivement produite par les SMC, les fibroblastes et les macrophages, et son expression est également accrue au sein de la paroi anévrysmale (99, 100). Elle serait principalement présente au sein des petits anévrysmes alors que la MMP9 se retrouve en quantité plus importante dans les anévrysmes de plus gros calibre (96, 101). Ces observations suggèrent que la MMP2 serait impliquée dans la genèse de l'anévrysmes alors que la MMP9 agirait plutôt dans la dégradation finale de la matrice et prédisposerait l'aorte à la rupture (102). Lindholt *et al.* ont analysé le taux circulant de ces deux élastases en fonction de la vitesse de croissance de l'AAA (103). Dans cette étude, le taux plasmatique de la MMP9, et non celui de la MMP2, a pu être corrélé avec la croissance de l'anévrysmes. Même si d'autres études ont observé des résultats similaires, l'utilisation de la MMP9 circulante comme biomarqueur de la croissance des AAA reste encore controversée.

Hormis ces deux MMPs, d'autres membres de cette famille ont été également impliqués dans le développement des AAA :

- Les trois collagénases (MMP1, MMP 8, MMP13) sont plus exprimées dans les AAA (102, 104, 105) et sont donc susceptibles de participer à la dégradation du collagène, une étape menant sans doute à la rupture de l'anévrisme.
- La MMP3 est une stromélysine à large spectre d'activité. Elle est capable d'activer les collagénases et a été observée au sein des parois anévrysmales (106). Sangiorgio *et al.* ont, par ailleurs, mis en évidence une augmentation de la MMP3 circulante chez des patients atteints d'un AAA (107).
- La MMP14 est présente dans la paroi (108) où elle contribuerait à l'activation de la MMP2 et à la dégradation de la trame de collagène.
- La MMP12 est une élastase spécifiquement produite par les macrophages. Son implication dans l'évolution des AAA (109) a été établie suite à l'observation que, dans un modèle murin d'AAA, l'inactivation de son gène réduit la dégradation de l'élastine et ralentit la croissance de l'anévrisme (110).

Bien que les TIMPs soient présents dans la paroi anévrysmale, le ratio entre MMPs et inhibiteurs semble favoriser la protéolyse (111). De plus, lorsqu'il est en concentration réduite, le TIMP2 joue un rôle dans l'activation de la MMP2 par la MMP14 plutôt qu'un rôle d'inhibiteur (91). Il est intéressant de noter que son expression est réduite dans les AAA par rapport aux AOD (*aortic obstructive disease*) tout comme d'ailleurs le PAI1, un inhibiteur de l'activation du plasminogène en plasmine (87).

5.4. Apoptose des cellules musculaires lisses

Un autre processus saillant associé à la dégénérescence de la paroi anévrysmale est l'appauvrissement de la media en SMC. Celles-ci sont les cellules les plus représentées dans la paroi. Elles interviennent dans l'organisation architecturale des lamelles élastiques et dans leur maintenance mais également, en condition pathologique, dans le remodelage de la matrice grâce à l'expression locale de protéases et de leurs inhibiteurs. Par ailleurs, elles joueraient un rôle protecteur contre l'inflammation et la protéolyse en inhibant la migration des cellules inflammatoires de l'adventice dans la media (112).

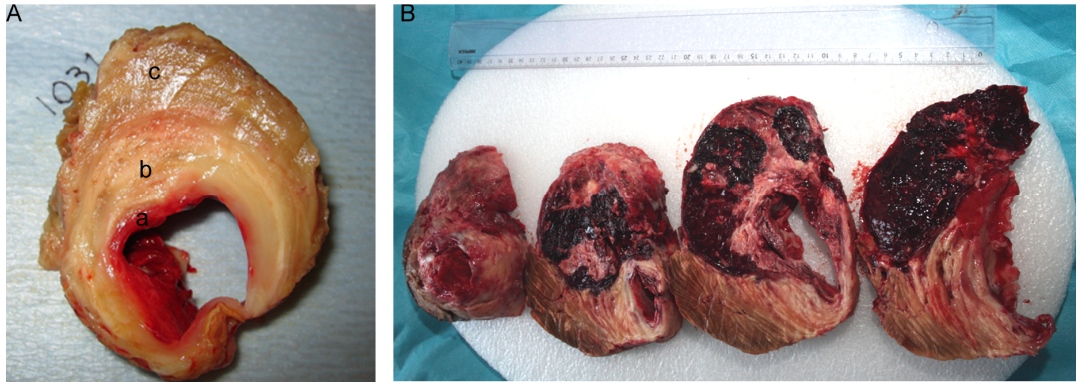


Figure 17. Thrombus intraluminal (ILT). A) Le thrombus est composé de 3 couches distinctes : a) la couche luminale au contact de la circulation sanguine ; b) la couche intermédiaire et c) la couche abluminale au contact de la paroi du vaisseau. Adapté d'après Swedenborg, 2008 (113). B) Tranches successives de thrombus intraluminal provenant d'un patient opéré en urgence pour cause d'un AAA fissuré. Une entrée importante de sang est observée au sein du thrombus (données personnelles).

Lopez-Candales *et al.* ont démontré que la densité des SMC était significativement réduite dans les AAA (114). En raison de leurs différents rôles, l'apoptose des SMC représente un événement important dans le développement des AAA. Différents mécanismes ont été proposés pour l'expliquer. Selon une première hypothèse, la dégradation de la matrice extracellulaire de la media induirait des altérations des interactions cellules-matrice, avec perte des signaux de survie issus des intégrines et induction d'une apoptose par « *anoikis* » (115). En raison de leur proximité avec l'intima, les SMC pourraient également être soumises à des concentrations trop importantes d'agents oxydants comme le NO, des radicaux libres de l'oxygène ou des LDL oxydés (116, 117). Les cellules inflammatoires présentes au sein de la paroi pourraient par ailleurs être responsables de l'apoptose des SMC par production de médiateurs cytotoxiques tels que la perforine et le système Fas/Fas ligand (75). Enfin, l'apoptose pourrait être due à une interaction directe avec certaines cellules inflammatoires, principalement les lymphocytes T et les macrophages (114).

5.5. *Thrombus*

La dilatation du vaisseau provoque des modifications des forces de cisaillement exercées sur l'endothélium ainsi que des turbulences du flux sanguin. Ces facteurs, en combinaison avec l'altération de l'endothélium et la présence de lésions athérosclérotiques, contribuent à la formation d'un thrombus intraluminal (ILT), dont la taille est en relation avec celle de l'anévrisme. Il se présente sous forme d'une structure lamellaire composée de couches successives de fibrine coagulée. Trois couches distinctes sont visualisées au sein du thrombus (Figure 17) : une couche luminale, biologiquement active, riche en globules rouges et composé d'un réseau intact de fibrine, une couche intermédiaire et une couche abluminale caractérisée par une fibrinolyse importante. Le thrombus est traversé par un réseau de canalicules qui permettent la pénétration de différentes macromolécules de la partie luminale vers la surface abluminale. Il est généralement excentrique au niveau de l'anévrisme impliquant que seule une partie de la paroi est recouverte d'un thrombus, le reste demeurant en contact avec le flux sanguin. La zone de la paroi couverte par le thrombus est plus fine, avec un degré plus élevé d'élastolyse, une apoptose plus marquée des SMC et un infiltrat inflammatoire accru, suggérant ainsi un rôle actif du thrombus dans la progression de l'AAA (118). Le thrombus contient de grandes quantités de MMPs, telles que la MMP2 et 9, ainsi que d'autres enzymes comme la plasmine (95, 119). Ces protéases sont principalement localisées au niveau de la couche luminale du thrombus et seraient produites notamment par des neutrophiles présents localement. Le thrombus est la source principale de protéases et d'inflammation par la voie dite

« *inside-out* ». De plus, la présence d'hémoglobine libre, et donc de fer, au niveau de la couche luminale induit la formation de ROS et un stress oxydant (120).

5.6. Rupture

Différents facteurs de risques ont été identifiés comme favorisant la rupture de l'anévrisme. Diverses études ont montré un risque de rupture plus élevé pour les anévrismes de grande taille par rapport aux petits anévrismes (40, 121). Limet *et al.* ont également montré une corrélation entre le risque de rupture des anévrismes et leur taux de croissance (40). D'autres facteurs, tels que l'hypertension et le tabagisme sont également associés à un plus grand risque. Il est intéressant de noter que le diamètre moyen précédant la rupture est plus faible chez les femmes que chez les hommes (5 cm contre 6 cm) et que celles-ci présentent, en outre, un taux de rupture supérieur pour des tailles d'anévrismes similaires (122).

Il a longtemps été considéré que la rupture était un évènement qui survenait lorsque la pression due au flux sanguin était supérieure à la résistance de la paroi du vaisseau. Cette définition simpliste impliquant uniquement des facteurs mécaniques a été récemment revue puisqu'il est maintenant largement accepté que la rupture est un processus biologique complexe et multifactoriel impliquant des facteurs biochimiques, cellulaires et protéolytiques qui accentuent ou interfèrent avec les facteurs mécaniques. Les principaux éléments impliqués dans la rupture des AAA sont détaillés ci-dessous et sont repris dans la revue de Choke, 2005 (123).

5.6.1. Facteur biomécanique :

La formation d'un AAA s'accompagne d'une augmentation de la tension pariétale et d'une réduction de la capacité des composants de la paroi à résister à cette force mécanique. Pour démontrer la relation entre la taille de l'anévrisme et le risque de rupture, on se réfère conventionnellement à la loi de Laplace ($\sigma = \frac{P \times r}{t}$) qui met en relation la tension pariétale (σ) avec le rayon de l'aorte (r), la pression sanguine (P) et l'épaisseur du vaisseau (t) (124).

Toutefois, cette loi ne s'applique totalement que pour des vaisseaux parfaitement cylindriques alors que les AAA ont une géométrie plus complexe et rarement uniforme. La méthode des éléments finis a donc été préférée pour étudier le comportement mécanique des AAA (125). Celle-ci implique la division d'une structure complexe en plus petits éléments avec leur propre géométrie et propriétés mécaniques. Cette technique a permis de mettre en évidence des zones spécifiques de l'anévrisme où la pression exercée était la plus forte. En combinant cette approche à des reconstructions d'images en trois dimensions, différents groupes ont pu mettre en évidence une corrélation positive entre un site de tension maximale et le point de rupture de l'anévrisme (126, 127).

5.6.2. Facteur protéolytique :

Comme expliqué précédemment, la media est fortement altérée bien avant que ne survienne la rupture, la résistance mécanique du vaisseau étant essentiellement assurée dans les phases tardives de la maladie par le réseau de fibres de collagène de l'adventice (86). La présence de protéases capables de dégrader le collagène a donc été investiguée au sein d'anévrismes rompus. Aucune différence n'a été observée entre des anévrismes rompus ou non-rompus de même taille en termes de concentrations en MMP1, 2, 3, 9 et 13 (102). A l'inverse, les taux de MMP8 et MMP9 sont deux à trois fois plus élevés au niveau du site de rupture par rapport à la paroi antérieure non rompue du même anévrisme. Dans le même ordre d'idée, notre groupe a observé un gradient protéolytique entre le site de rupture et des zones distantes de la paroi anévrysmale (128). Cette étude préliminaire réalisée chez un seul patient a mis en évidence une diminution progressive de l'expression des MMP1, 2, 9, 12 et 14 du site de rupture jusqu'à un endroit distant d'environ 50 mm, suggérant à nouveau qu'une élévation locale d'activité protéolytique est sans doute responsable de la plus grande instabilité de la paroi au futur site de rupture.

5.6.3. Facteur inflammatoire :

Le rôle de l'inflammation dans la rupture des AAA n'a pas été étudié de façon extensive. Domanovitch *et al.* ont investigué des paramètres inflammatoires systémiques chez des patients présentant un AAA asymptomatique ou un AAA rompu (129). Ils ont observé que les patients avec un AAA rompu avaient une CRP (*C-reactive protein*) et un taux de globules blancs supérieurs aux valeurs observées dans le cas d'AAA non-rompus. Ils ont donc suggéré l'implication d'un processus inflammatoire dans la rupture. Choke *et al.* ont par la suite réalisé une analyse transcriptomique comparant les anévrismes rompus et non-rompus (130). Ils ont observé qu'un certain nombre de gènes impliqués dans la réponse immunitaire étaient modifiés dans les anévrismes rompus. Ils ont par exemple, mis en évidence un accroissement de l'expression d'IL6 et d'IL8 en cas de

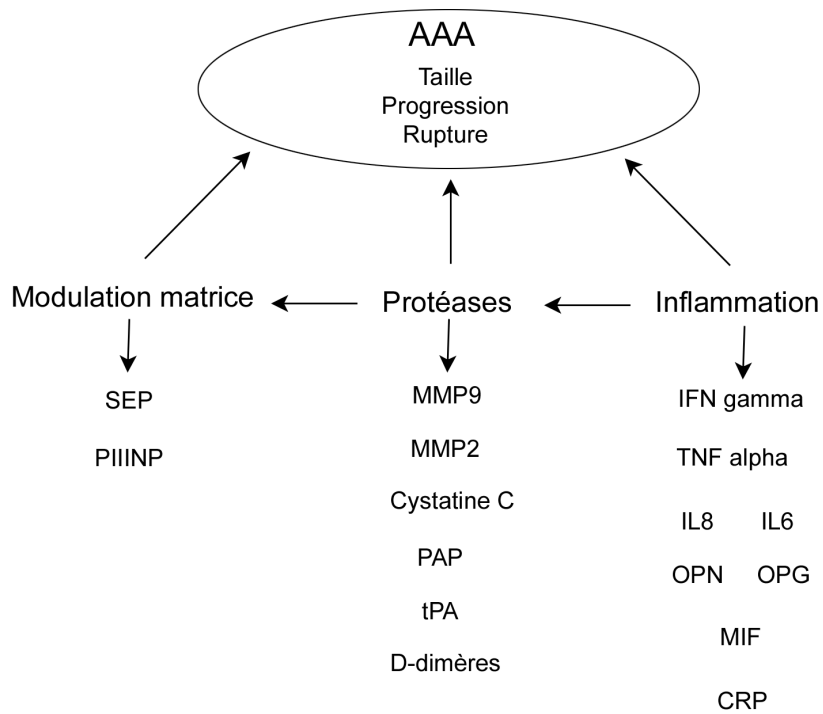


Figure 18. Biomarqueurs potentiels des AAA. SEP, serum elastin peptide ; PIIINP, aminoterminal propeptide of type III collagen; PAP, plasmin-antiplasmin complex; OPN, ostéopontine ; OPG, ostéoprotégérine ; CRP, C-reactive protein. Adapté de Urbonavicius et al., 2008 (131).

rupture. A contrario, Wilson *et al.* n'ont pu établir aucune corrélation reliant la rupture à un processus inflammatoire (132), ce qui souligne la nécessité de réaliser des études complémentaires.

5.6.4. Rôle du thrombus :

Des études ont montré une corrélation entre la taille du thrombus et le risque de rupture (133), ce qui s'expliquerait par le fait que la paroi recouverte par le thrombus est plus fine. A l'inverse, on pourrait considérer que le thrombus protège partiellement la paroi de la pression sanguine. Des autopsies réalisées chez des patients décédés suite à la rupture d'un AAA ont démontré que la majorité des ruptures avaient lieu en un site recouvert par le thrombus (134), renforçant l'hypothèse de l'importance du thrombus dans l'évolution finale de la pathologie. Par ailleurs, il semble qu'une irruption sanguine au sein du thrombus soit nécessaire pour que l'anévrisme se rompe comme le suggèrent certaines études (113).

5.7. Biomarqueurs

Un biomarqueur peut être défini comme un élément circulant mesurable (cellules, protéines, peptides, gènes ou produits métaboliques) permettant d'évaluer un processus biologique dans l'organisme. Il peut être un indicateur de la maladie, de son stade ou du risque de progression. Il pourra également être indicatif du pronostic ou de la réponse à une intervention thérapeutique. A l'heure actuelle, la taille de l'anévrisme reste le facteur prioritairement pris en compte bien que sa fiabilité soit loin d'être parfaite. De nombreuses études ont tenté d'identifier des biomarqueurs circulants renseignant sur la croissance, la taille ou les risques de rupture afin de déterminer la meilleure attitude de surveillance et d'intervention. La plupart des études ont sélectionné à priori des biomarqueurs potentiels sur la base des connaissances actuelles des mécanismes pathobiologiques des AAA. Ces analyses ont porté principalement sur le renouvellement de la matrice extracellulaire et sa dégradation, sur les protéines associées aux processus thrombotiques ainsi que sur certains médiateurs inflammatoires (Figure 18).

Les produits de dégradation de l'élastine (SEP pour « *serum elastin peptides* ») jouent un rôle dans l'inflammation en raison de leurs propriétés chimiotactiques pour les leucocytes. Leur présence dans la circulation pourrait renseigner sur le taux de croissance et la rupture des AAA (135). Le niveau sanguin des propeptides de collagène est un indicateur du remodelage des tissus

conjonctifs. De manière plus spécifique, le propeptide amino-terminal du collagène de type III (PIIINP) a été mesuré chez des patients atteints d'AAA avec des résultats contradictoires (136). Il faut toutefois mentionner que la plus récente et la plus extensive de ces études n'a constaté aucune association entre les taux circulants de PIIINP et divers paramètres des AAA (137).

De nombreuses études ont été consacrées à la corrélation potentielle entre les MMPs circulantes, dont principalement la MMP9, et le développement des AAA. Une corrélation positive entre la MMP9 circulante et la croissance des AAA a été rapportée par de nombreuses équipes mais n'a pu être confirmée dans d'autres cohortes de patients (136), peut-être en raison de l'utilisation de sérum ou de plasma en fonction des études. La MMP9 circulante ne semble donc pas constituer un biomarqueur cohérent des AAA. La cathepsine K est une cystéine protéase à activité élastolytique. Son inhibiteur, la cystatine C, est réduit dans la paroi anévrysmale et son taux sérique est corrélé négativement avec la taille des AAA (138).

La plasmine est un activateur des MMPs. Sa formation à partir du plasminogène est régulée par la balance entre des activateurs (tPA et uPA) et des inhibiteurs (dont le PAI1). La plasmine est présente dans le sang sous une forme inactivée par formation d'un complexe avec son inhibiteur : plasmine-anti-plasmine (PAP). Lindholt *et al.* ont constaté une corrélation positive entre le PAP et le taux de croissance des AAA (139) ainsi qu'avec le tPA (140). Enfin, plusieurs études ont également établi une association entre la taille des AAA et le taux de D-dimères circulants, des produits de dégradation de la fibrine (136).

Un grand nombre de marqueurs circulants de l'inflammation ont également été évalués. Parmi ceux-ci, la concentration des interleukines IL6 et IL8 est corrélée positivement avec le diamètre de l'AAA tandis que le TNF α et l'IFN γ sont associés à la présence de symptômes et à une croissance plus rapide des anévrysmes (141, 142). L'ostéopontine et l'ostéoprotégérine sont également corrélées positivement, quoique faiblement, avec le taux de croissance des AAA. La protéine réactive C (CRP) est une molécule produite par le foie et reflète un niveau général de l'inflammation dans l'organisme. Elle est accrue chez des patients présentant un anévrysmes (143), avec notamment des taux moyens plus élevés chez des patients présentant des AAA symptomatiques ou rompus (129). Enfin, récemment, Lindholt *et al.* ont mis en évidence un accroissement de l'IGF1 circulant en relation avec la taille et le taux de croissance de l'AAA (144).

Bien que des corrélations aient été montrées entre un grand nombre de facteurs et la progression des AAA, il ressort de l'analyse de la littérature que les résultats sont contradictoires et qu'aucun biomarqueur fiable n'est actuellement disponible. Les SEP seraient susceptibles d'être de bons candidats mais un test efficace et reproductible doit être mis en place pour pouvoir être utilisé en clinique. Les PAP pourraient également être intéressants mais des études à plus grande échelle seront nécessaires afin de valider les relations possibles entre ces marqueurs et les AAA. Il est toutefois utile de mentionner que ces différents biomarqueurs ne sont pas spécifiques des AAA et pourraient être influencés par d'autres pathologies ou caractéristiques des patients.

Toutes les études citées ci-dessus sont centrées sur l'analyse spécifique d'une série de molécules considérées individuellement. Les nouvelles technologies, basées sur l'analyse de l'expression de l'ensemble des gènes ou du profil protéique dans un environnement donné, pourraient mener à la découverte de nouveaux biomarqueurs qui, seuls ou en association, seraient spécifiques des AAA et de leur évolution. Une étude réalisée par Giusti *et al.* a analysé le profil d'expression des gènes par microarray dans les cellules sanguines de patients atteints d'AAA chez qui ils ont identifié 91 gènes exprimés différemment par rapport à des sujets sains (145). Les protéines encodées par ces gènes pourraient être des biomarqueurs potentiels. Une autre étude réalisée par Ramos-Mozo *et al.* a utilisé la technologie des cytokines-array afin d'analyser le profil de ces facteurs de l'inflammation dans le plasma de patients atteints d'AAA (146). Ils ont ainsi identifié la molécule de liaison de l'IGF1 (IGFBP1) comme étant un nouveau biomarqueur potentiel des AAA corrélé avec la taille de l'anévrisme. Ces techniques d'analyse globale représentent une approche novatrice dans le domaine des AAA.

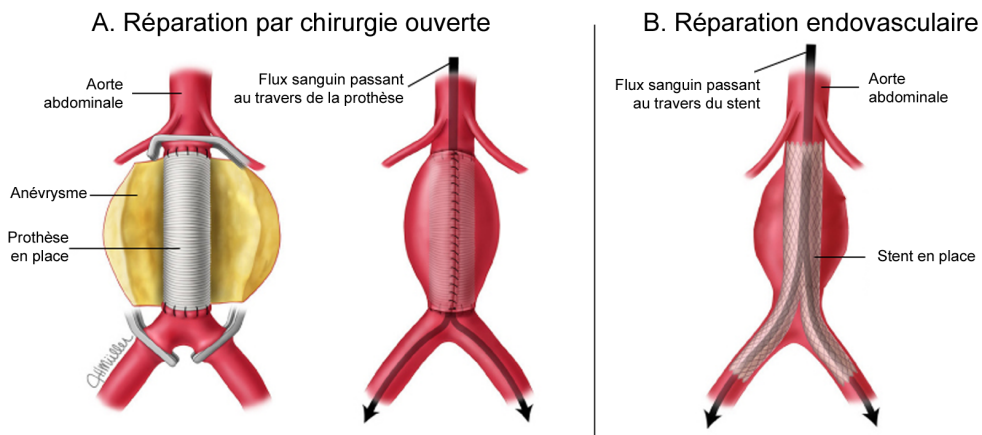


Figure 19. Techniques chirurgicales pour le traitement des AAA. A) Dans la réparation par chirurgie ouverte, l'anévrysme est ouvert sur toute sa longueur et une prothèse est placée à l'intérieur. L'anévrysme est ensuite refermé sur cette prothèse. B) Dans la réparation endovasculaire, un stent est introduit via l'artère fémorale et est déployé au niveau de l'anévrysme.

6. Traitements

6.1. Traitements chirurgicaux

A ce jour, deux techniques chirurgicales coexistent pour traiter un anévrisme de l'aorte abdominale (Figure 19). L'approche chirurgicale classique, aussi appelée chirurgie ouverte ou mise à plat de l'anévrisme, consiste à ouvrir le sac anévrysmal sur sa longueur et à placer une prothèse en textile synthétique qui est ensuite recouverte par le tissu aortique anévrysmal afin d'éviter le contact de la prothèse avec les tissus et organes adjacents. Lors de l'ouverture de l'anévrisme, le thrombus éventuellement présent dans la lumière doit être retiré. L'objectif de ce traitement est d'éviter l'apparition de la rupture. Le taux de mortalité enregistré avec cette technique dépend fortement des hôpitaux et des chirurgiens. Il tend à baisser ces dernières années mais reste malheureusement assez élevé (51).

Une méthode moins invasive a été mise en place afin d'éviter les risques liés à la chirurgie. Introduite en 1991 par Parodi (147), la réparation endovasculaire (EVAR) consiste à placer une prothèse montée sur un stent au niveau de l'anévrisme. Elle est introduite via une incision au niveau d'une artère fémorale et amenée dans l'aorte par l'artère iliaque. Une fois dans l'aorte, la prothèse est déployée et permet ainsi une réduction de la pression exercée sur la paroi de l'anévrisme. Cette technique peu invasive nécessite néanmoins des caractéristiques anatomiques permettant sa réalisation sans gêner la perfusion des artères rénales en assurant la perméabilité des anastomoses. Le but de cette technique est de prévenir la rupture par la régression du sac anévrysmal. L'inconvénient majeur de cette technique est que, à long terme, elle peut mener à la survenue d'endofuites sanguines au niveau du sac anévrysmal, elles-mêmes susceptibles de conduire à la rupture de l'anévrisme malgré la présence de la prothèse.

La réparation endovasculaire permet une diminution du taux de mortalité périopérative et post-opérative à court terme. Dans une étude réalisée par Schermerhorn *et al.* (148), le taux de mortalité périopérative était de 1.2% après une réparation endovasculaire et de 4.8% après une chirurgie ouverte. Jusqu'à trois ans après l'intervention, le taux de survie reste plus élevé après la réparation endovasculaire qu'après chirurgie ouverte. Après ce laps de temps, les deux procédés ont des courbes de survie similaires, en raison notamment de l'apparition d'endofuites chez les patients ayant subi une réparation endovasculaire.

6.2. Traitements médicamenteux

Le dépistage des anévrismes est le premier moyen de réduire la mortalité qui leur est associée. Le traitement chirurgical n'est toutefois effectué que sur des anévrismes de grande taille alors que de petits anévrismes sont maintenant découverts de manière plus précoce et plus fréquente. Il serait donc utile de disposer d'un traitement médicamenteux afin de stabiliser l'anévrisme, voire même de le faire régresser. Un tel traitement pharmacologique n'est actuellement pas disponible mais de nombreuses études sont en cours afin d'évaluer l'effet potentiel d'une série de molécules connues pour inhiber différentes voies activées dans les AAA. L'évaluation de leurs effets a nécessité le développement et la caractérisation de modèles animaux pertinents.

6.2.1. Modèles animaux des AAA :

Un modèle animal idéal qui récapitulerait toutes les caractéristiques pathobiologiques de la progression des AAA chez l'humain n'existe pas à l'heure actuelle. Les manifestations majeures du développement des AAA comprenant une inflammation chronique et la destruction de la matrice extracellulaire sont néanmoins raisonnablement reproduites dans les modèles animaux couramment utilisés. Il existe essentiellement quatre modes d'induction d'anévrismes qui ont été utilisés dans le cadre d'études pharmacologiques : une perfusion locale d'élastase, une application de chlorure de calcium, une infusion d'angiotensine II et la réalisation d'une xéno greffe.

1. Le modèle d'infusion à l'élastase, mis au point par l'équipe de JB Michel en 1990 (149), est sans doute le modèle le plus couramment utilisé. Développé à l'origine chez le rat, il a été modifié pour s'appliquer chez la souris (98). La procédure implique l'introduction d'un cathéter dans la bifurcation iliaque et, après isolement d'un segment de l'aorte, la perfusion d'élastase dans la lumière. L'élastase induit une dégradation des lamelles élastiques qui s'accompagne d'un relargage de peptides chimiotactiques de l'élastine et d'une réponse inflammatoire. L'aorte commence à se dilater après environ une semaine et atteint le double de sa taille après 14 jours.

2. L'application périartérielle de chlorure de calcium a été utilisée initialement pour induire une dilatation des artères carotides chez le lapin (150), puis chez la souris (151, 152). La dilatation de l'aorte survient après plusieurs semaines et s'accompagne notamment d'un infiltrat inflammatoire, d'une dégradation des lamelles élastiques et d'un accroissement du taux de MMP9.

Tableau 4. Etudes pharmacologiques en modèle animal et en clinique humaine.

Cible	Agent pharmacologique	Effets chez l'animal	Effets chez l'homme
Récepteurs adrénergiques	Propranolol	Diminution de la taille de l'AAA et des tensions hémodynamiques	Pas d'effets, augmentation de la morbidité et de la mortalité
Stress oxydant	Vitamine E	Diminution des ROS, et des macrophages	Pas d'effet sur la croissance
Récepteurs aux estrogènes	17 β -estradiol	Diminution des macrophages et de MCP1, NF κ B et MMP9, Préservation de l'élastine	NA
Système Rénine-angiotensine	ACEI, ARB	Diminution des macrophages et de NF κ B et MMP9, Préservation de l'élastine	Effets contradictoires obtenus par différents auteurs
Voie du mévalonate	Statines	Diminution des macrophages et de IL1, MCP1, NF κ B et MMP9, Préservation de l'élastine	Effets contradictoires obtenus par différents auteurs
Mastocytes	DSCG, Tranilast	Diminution des macrophages et des mastocytes et de IFN γ , IL6 et MMPs, Préservation de l'élastine	NA
NF κ B	PDTC	Diminution de l'infiltration cellulaire et de IL1 β , IL6, NF κ B et MMP9, Préservation de l'élastine	NA
JNK	SP600125	Diminution des macrophages et de MMP9, Préservation de l'élastine, Régression de l'AAA	Diminution de la sécrétion de MMP2 et 9 et augmentation de TIMP3 en ex vivo
MMPs	Doxycycline	Diminution de MMP9, Préservation de l'élastine	Diminution de la MMP9 circulante et tissulaire

MCP, monocyte chemoattractant protein ; ACEI, angiotensin converting enzyme inhibitor ; ARB, angiotensin receptor blocker ; DSCG, disodium cromoglycate; IFN, interferon; PDTC, pyrrolidine dithiocarbamate ; JNK, c-Jun N-terminal kinase. NA, non appliqué. Adapté d'après Yoshimura et al, 2012 (153).

3. Un troisième modèle couramment utilisé est l'infusion continue d'angiotensine II (AngII). Daugherty *et al.* furent les premiers à décrire qu'une telle infusion induisait la formation d'un AAA dans des souris dont le gène de l'apolipoprotéine E est inactivé (ApoE^{-/-}) (154, 155). Ce modèle présente également un certain nombre de caractéristiques des AAA humains telles que inflammation, dégradation des lamelles élastiques, formation d'un thrombus et apparition de plaques d'athérosclérose. Ce modèle évolue toutefois vers une dissection de l'aorte qui est rare chez l'homme.

4. Le quatrième modèle consiste à greffer un segment de vaisseau décellularisé d'une espèce dans l'aorte d'une autre espèce anatomiquement compatible. La xéno greffe devient alors le siège d'une réaction immunitaire impliquant des réponses cellulaires et une destruction de la matrice conduisant à la formation d'un AAA (156). Ce modèle est moins fréquemment utilisé en raison de sa plus grande complexité.

6.2.2. Etudes cliniques :

De nombreuses études ont été réalisées chez l'animal et l'homme afin de cibler des voies ou des facteurs impliqués dans l'évolution des AAA. Le tableau 4 adapté de la revue de Yoshimura *et al.* (153) résume les principaux résultats cliniques.

Les β -bloquants sont parmi les premiers facteurs testés qui ont permis d'inhiber le développement de l'AAA dans un modèle animal. D'autres molécules ont ensuite été évaluées, parmi lesquelles la vitamine E (un antioxydant lipidique), le 17 β -estradiol (un dérivé des oestrogènes), les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACEI), les statines et les stabilisateurs des mastocytes. Tous sont actifs et stabilisent ou font régresser les AAA dans des modèles animaux, notamment en réduisant le nombre de macrophages présents dans la paroi anévrysmale, en limitant la présence de certains facteurs pro-inflammatoires et/ou, pour certains, en inhibant la dégradation de l'élastine. Chez l'humain, par contre, aucun résultat significatif n'a été observé (153).

Des agents pharmacologiques agissant sur des voies de signalisation spécifiques ont été également utilisés. L'inhibition de NF- κ B induit une diminution de l'expression de la MMP9 et des cytokines pro-inflammatoires ainsi qu'un ralentissement de la formation d'AAA dans un modèle murin (157). Un inhibiteur de la JNK réduit la production de MMP9, l'infiltration des macrophages et la dégradation de l'élastine, ce qui s'accompagne d'une régression de l'AAA. Dans un modèle de culture *ex vivo* de paroi anévrysmale humaine, ce même inhibiteur de JNK réduit la sécrétion de MMP2 et de MMP9 (158). L'efficacité thérapeutique de cet inhibiteur devra toutefois être confirmée au cours d'études cliniques à grande échelle.

Enfin, la dégradation de la matrice extracellulaire a été ciblée par différents agents thérapeutiques, tels les tétracyclines dont une des propriétés est d'inhiber l'activité et l'expression des MMPs. Le traitement des AAA chez le rat par la doxycycline, un dérivé des tétracyclines, induit une réduction significative de l'incidence des AAA accompagnée d'une diminution de la production de MMP9 et de la préservation des fibres élastiques (159). Chez l'homme, Curci *et al.* ont montré une réduction de la MMP9 dans la paroi anévrysmale suite à un traitement pré-opératoire à la doxycycline (160). Une étude clinique plus importante sur des patients porteurs de petits anévrysmes a été réalisée par la suite par Mosorin *et al.* (161) qui observent une diminution de la vitesse de croissance de l'AAA. Ces résultats ont été confirmés en montrant notamment une diminution du taux de MMP9 circulante ou de l'inflammation dans la paroi de l'anévrysmes (162, 163). A l'heure actuelle, les inhibiteurs de MMPs, dont la doxycycline, sont les meilleurs candidats pour un traitement pharmacologique des AAA. Néanmoins, des études cliniques plus poussées doivent encore être réalisées avant que ce traitement ne soit appliqué en routine médicale.

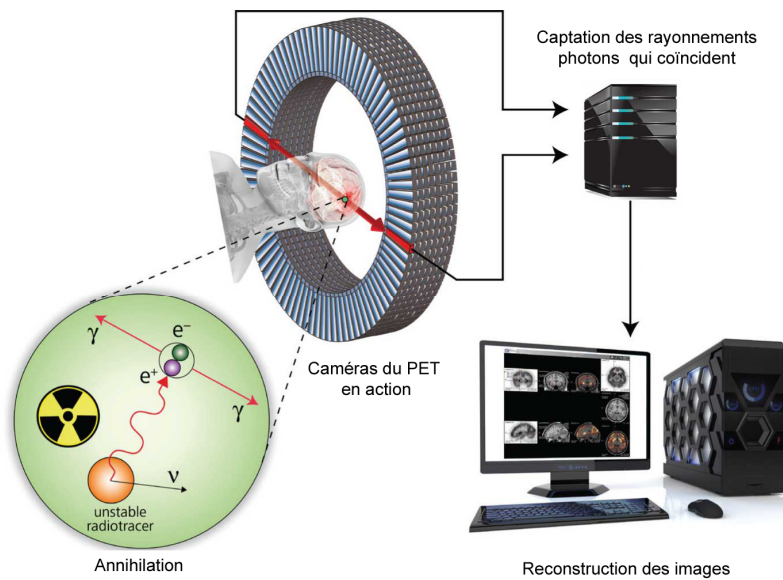


Figure 20. Tomographie à émission de positons. Un radiotracteur est injecté au patient par voie intraveineuse. Ce radiotracteur instable va se désintégrer et émettre un positon qui entre en collision avec un électron du milieu. Deux photons gamma sont alors émis dans 2 directions opposées et sont détectés par les capteurs placés autour du patient. Une image de la présence du traceur est reconstruite à l'aide de programmes informatiques.

IV. Tomographie à émission de positons (PET)

1. Définition

La tomographie à émission de positons (PET) est un examen d'imagerie médicale qui permet de visualiser et de mesurer en trois dimensions une activité fonctionnelle au sein des tissus. Dans le domaine du diagnostic, il permet de déceler certaines pathologies, dont les cancers, qui se traduisent par une hyperactivité métabolique. Il est basé sur l'utilisation d'un traceur dont on connaît le comportement et les propriétés biologiques. Ce traceur est marqué par un atome radioactif qui se désintègre en émettant un positon. Celui-ci s'annihile avec un électron du milieu, ce qui produit deux photons gamma qui partent dans deux directions opposées. Des capteurs placés autour du patient détectent ces photons d'annihilation en coïncidence et, grâce à un algorithme de reconstruction, des images de la répartition du traceur au niveau des tissus étudiés sont obtenues (Figure 20). Ces images ont une résolution spatiale de l'ordre de 4 à 7 mm chez l'homme. Il est possible d'améliorer la qualité des images en utilisant le principe de correction d'atténuation. En effet, lors de la traversée du corps, les deux photons gamma peuvent subir une atténuation liée aux structures traversées et à leur épaisseur. A l'heure actuelle, les PET sont généralement couplés à un tomodensitomètre à rayons X (*Computer tomography* ou CT), ce qui permet de superposer l'image fonctionnelle obtenue au PET à sa localisation anatomique précise dans le corps (image CT).

2. Applications générales

L'existence de plusieurs traceurs différents permet de se focaliser sur des activités métaboliques spécifiques. Dans le cadre d'études de l'activité neuronale par exemple, l'oxygène 15 est préférentiellement utilisé. En effet, son accumulation est due à une augmentation locale du débit sanguin cérébral qui se produit lorsqu'une région du cerveau voit son activité augmenter. Il est également possible d'utiliser des radioligands spécifiques de certains neurorécepteurs afin de visualiser des mécanismes très spécifiques de l'activité cérébrale.

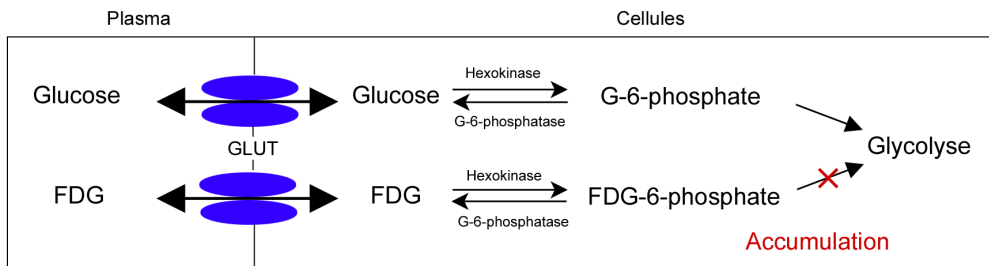


Figure 21. Incorporation de FDG dans les cellules. Le FDG entre dans la cellule via les transporteurs de glucose (GLUT). Il est ensuite phosphorylé via l'action d'une hexokinase. Le FDG-6-phosphate ne peut être métabolisé dans la voie de la glycolyse et son accumulation est alors détectée selon le principe décrit dans la figure 20. D'après Rudd et al., 2010 (164).

L'imagerie par PET est également utilisée en cardiologie afin d'évaluer la viabilité du muscle cardiaque après un infarctus. Dans ce cas, le radiotracer utilisé est un dérivé du glucose marqué au fluor 18, le 18-fluorodeoxyglucose (FDG) (voir ci-dessous). Le glucose participant à l'activité métabolique des cellules, une diminution du marquage au FDG met en évidence une nécrose des cellules du cœur (165). Il existe d'autres traceurs utilisés en cardiologie comme le rubidium 82, un analogue du potassium, qui permet d'étudier la perfusion myocardique.

Enfin, le PET est majoritairement utilisé dans le domaine oncologique. La détection de cellules cancéreuses hautement métaboliques par la fixation du FDG confère au PET de grands avantages par rapport aux autres techniques d'imagerie utilisées en oncologie. Il permet en effet de différencier les lésions bénignes des cellules malignes, d'identifier précocement des changements biologiques du cancer et de détecter des tumeurs primaires ainsi que des métastases (166).

3. 18-FDG

Le principal radiotracer utilisé en PET est le 2-[F-18]-fluoro-2-deoxy-D-glucose ou FDG. Il s'agit d'un dérivé du glucose marqué au fluor 18 avec une demi-vie assez courte de 110 min. Le FDG est incorporé par les cellules via des transporteurs spécifiques du glucose, les GLUT (167). Après son transport dans la cellule, le FDG est phosphorylé en FDG-6-phosphate par une hexokinase. Alors que le glucose-6-phosphate est métabolisé par la voie de la glycolyse, le FDG-6-phosphate, qui ne peut pas être métabolisé, s'accumule dans la cellule et émet des rayonnements qui seront détectés par les caméras PET (Figure 21). Le FDG peut théoriquement sortir de la cellule par déphosphorylation mais ce processus est généralement négligeable dû au faible taux de phosphatase présent dans les cellules. La capacité d'incorporer le FDG dépend donc de trois facteurs : l'expression des GLUT au niveau membranaire, l'activité de l'hexokinase et le taux de déphosphorylation (168, 169). Les cellules tumorales notamment sont hautement prolifératives et ont donc une consommation de glucose plus élevée. Elles sont par ailleurs le plus souvent caractérisées par une surexpression de GLUT et/ou une activité hexokinase élevée qui expliquent l'accumulation préférentielle de FDG dans ces cellules plutôt que dans les cellules normales environnantes.

4. SUV

La valeur de fixation normalisée (SUV pour *Standardized Uptake Value*) est l'index le plus communément utilisé pour quantifier la captation de FDG dans les tissus. Dans sa définition de base, le SUV se calcule à un instant donné par le rapport entre la fixation dans un tissu d'intérêt (en kBq/mL) et la dose injectée au patient (en kBq) rapportée à son volume (en mL). En supposant que le patient a une masse volumique de 1g/mL et une densité constante, le SUV est calculé en pratique en rapportant la dose injectée au poids du patient (kBq/g) :

$$\text{SUV} = \frac{\text{Fixation dans le tissu (kBq/mL)}}{\text{Dose injectée (kBq)/poids (g)}}$$

En d'autres termes, si le FDG se répartissait uniformément dans tout l'organisme, le SUV serait identique en tout point et serait égal à 1. Tout écart du SUV de 1 traduit une répartition non uniforme du FDG dans le volume dans lequel il s'est distribué. Le SUV est une mesure semi-quantitative et est soumis à un certain nombre de biais pouvant induire une variabilité dans la mesure. Par exemple, la correction d'atténuation effectuée dans le cadre d'un PET est souvent imparfaite et peut induire, par exemple, des différences de SUV largement supérieures à 10% dans des petites tumeurs. D'autres biais existent et sont détaillés dans la revue de Buvat (170). Malgré ces imperfections, le SUV reste cependant la méthode la plus utilisée pour quantifier la captation d'un radiotracer mais il doit être interprété à sa juste valeur. Un moyen de réduire l'erreur sur la mesure est de rapporter le SUV d'un tissu d'intérêt à celui mesuré dans le sang ou dans un organe de référence.

5. PET et maladies vasculaires

Une captation de FDG dans la paroi aortique a été observée pour la première fois de manière fortuite chez des patients qui subissaient un PET pour recherche de néoplasie (171). La captation de FDG par des cellules métaboliquement actives telles que les cellules inflammatoires, et notamment les macrophages, a été mise à profit dans le domaine des maladies vasculaires (voir (172) pour revue). En effet, les macrophages activés possèdent un niveau d'hexokinase 10 fois supérieur à celui des autres cellules et l'expression de GLUT 1 et 3 à la membrane est fortement accrue durant leur

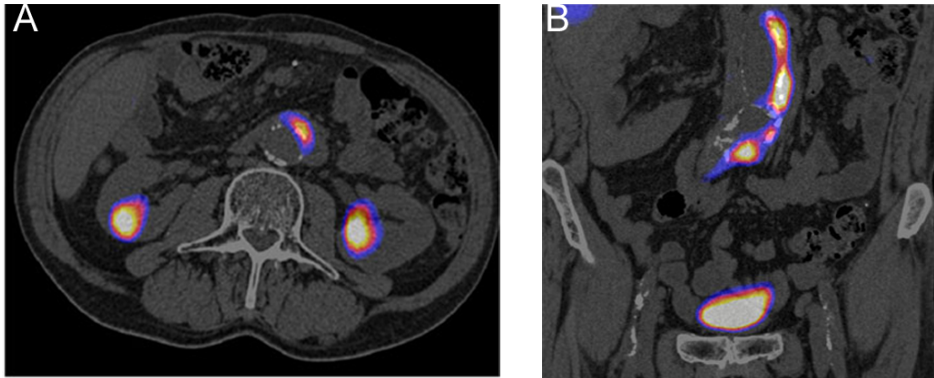


Figure 22. Exemple de captation de FDG au niveau de plaques d'athérosclérose. A) coupe transversale de FDG-PET/CT. B) coupe coronale en FDG-PET/CT. Adapté d'après Glaudemans, 2010 (173).

activation (174). Ces cellules incorporent donc préférentiellement le FDG par rapport à d'autres types cellulaires. Leur présence dans les plaques athéromateuses et leur corrélation avec la progression de la lésion ont conduit à l'utilisation du PET pour le suivi de cette pathologie (175). Grâce au développement de la technologie du micro-PET, des études réalisées dans des modèles animaux d'athérosclérose ont mis en évidence une corrélation positive entre une captation de FDG au niveau de la plaque et la densité des macrophages qui y résident (176, 177). Chez l'homme, Rudd *et al.* ont mesuré une incorporation plus importante de FDG dans des lésions symptomatiques athéromateuses des artères carotides que dans les plaques asymptomatiques (178). D'autres études ont confirmé ces données et démontré une corrélation entre la captation de FDG et la concentration de MMP1 circulante (179, 180). Ces résultats supportent donc un rôle prédictif du PET pour le risque de complication vasculaire, dont la rupture de la plaque athéromateuse. Ils expliquent également l'utilisation du PET pour évaluer l'effet de certains agents anti-athérosclérotiques. Par exemple, trois mois après la prise de simvastatine, une réduction significative de captation de FDG était observée par rapport au traitement placebo et était positivement corrélée avec une augmentation de HDL (181). La figure 22 illustre un exemple de FDG-PET chez un patient souffrant d'athérosclérose au niveau de l'aorte abdominale.

L'utilisation du PET dans la détection des plaques d'athérosclérose au niveau des artères coronaires se heurte à différents obstacles techniques. L'incorporation élevée du FDG par le myocarde peut masquer celle des coronaires tandis que le mouvement cardiaque peut induire un flou dans les images du PET. Enfin, la résolution du PET étant de l'ordre de quelques millimètres, les lésions au niveau des coronaires sont parfois trop petites pour être détectées. Certaines équipes ont cependant réussi à montrer une accumulation de FDG au niveau de ces artères, notamment en diminuant la captation cardiaque de FDG grâce à un régime spécifique riche en acides gras avant l'examen (182, 183). Le FDG-PET est par ailleurs un moyen non-invasif pour diagnostiquer les vascularites, particulièrement au niveau des vaisseaux de gros calibre tels que l'aorte (184). Le PET/CT est également utilisé pour la détection d'infections au niveau des prothèses après chirurgie. Reeps *et al.* ont montré que le FDG-PET permettait de différencier les dissections aortiques chroniques et stables des dissections aiguës qui présentent une captation plus élevée de FDG (185). D'autres études ont également montré une corrélation entre la captation de FDG et un pronostic défavorable des dissections aortiques (186, 187). Ces observations sont importantes dans la prise de décision quant au suivi du traitement ou de l'intervention chirurgicale.

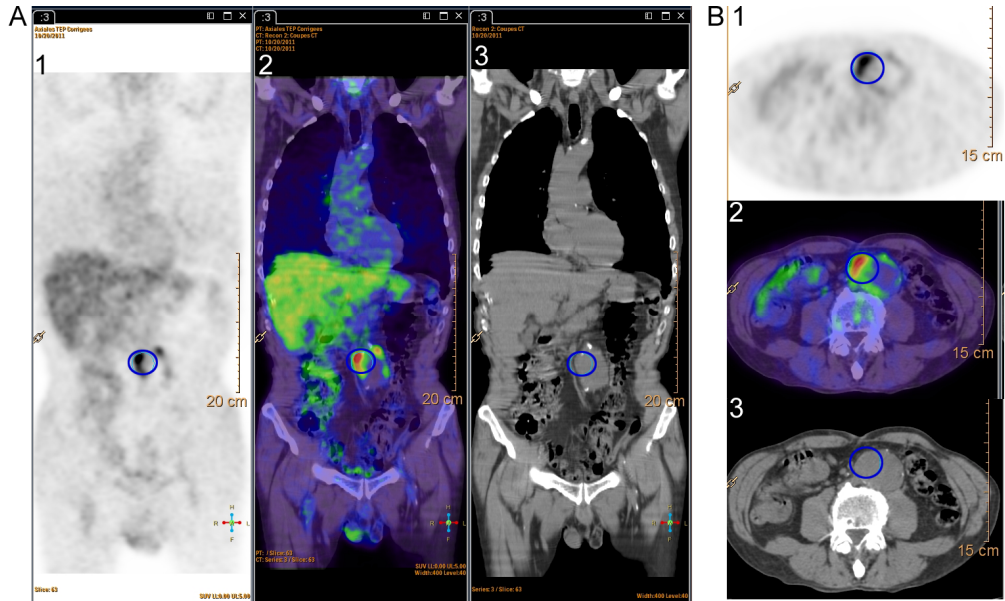


Figure 23. AAA présentant une captation de FDG au niveau de la paroi anévrysmale. A) coupe coronale du corps entier. A1, PET ; A2, fusion PET et CT ; A3, CT. B) coupe transversale au niveau de l'anévrysme. B1, PET ; B2, fusion PET et CT ; B3, CT. La captation de FDG est marquée par un cercle bleu.

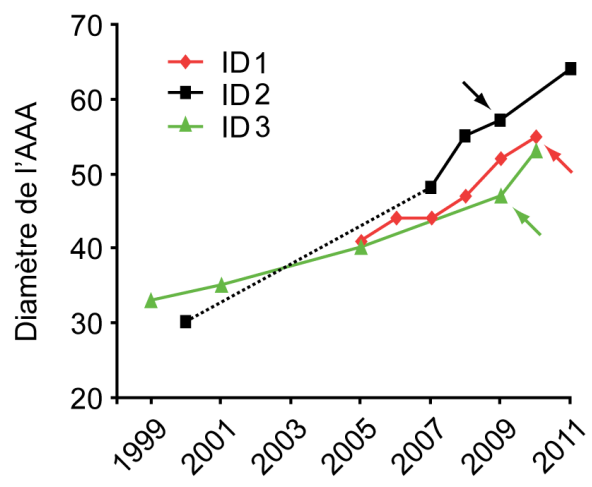


Figure 24. Courbe de croissance de trois AAA en fonction du temps. Le diamètre de l'anévrysme de 3 patients (ID 1-3) a été mesuré par PET/CT au cours du temps. Les flèches indiquent le moment où une captation de FDG a été détectée dans la paroi de l'anévrysme (données personnelles).

6. PET et AAA

Les AAA ayant une composante inflammatoire importante, l'utilisation du PET/CT a été logiquement appliquée à cette pathologie. En 2002, notre groupe a réalisé une étude préliminaire sur 26 patients présentant un AAA (188). Une captation de FDG a été détectée chez 10 d'entre eux. La figure 23 montre un exemple de fixation de FDG détectée par PET/CT dans un AAA. La plupart des patients avec une captation de FDG présentaient des symptômes comme une croissance accélérée de l'anévrisme ou des douleurs alors que la majorité des patients sans fixation de FDG étaient asymptomatiques. Ces données suggéraient l'existence d'une relation entre la présence de symptômes et l'activité métabolique de l'anévrisme.

Par la suite, notre groupe a démontré que la captation du FDG était préférentiellement observée dans la partie externe de la paroi de l'AAA et reflétait probablement la présence d'une densité considérable de cellules inflammatoires activées dans l'adventice (189). Ces résultats préliminaires se voyaient confirmés plus tard par Reeps *et al.* (190, 191) qui observent une corrélation entre le SUV, la densité de cellules inflammatoires et la concentration de MMP9 dans la paroi anévrysmale. Ces auteurs rapportent également que l'incorporation de FDG et le SUV sont plus élevés chez les patients symptomatiques que dans des anévrysmes asymptomatiques (191). Cette relation a été confirmée au cours d'une étude de suivi longitudinal de patients par PET/CT (Figure 24). Une captation de FDG est détectée au sein de l'anévrisme lorsque celui-ci est en phase de croissance exponentielle. Il est, par ailleurs, intéressant de noter que, en accord avec d'autres auteurs, nous n'avons trouvé aucune corrélation entre la fixation de FDG et le diamètre de l'anévrisme (188, 192).

Le FDG n'est pas le seul radiotracer pouvant refléter la réaction inflammatoire. Une étude réalisée en 2012 a comparé trois radiotraceurs différents dans un modèle d'AAA chez le rat (193). La captation de FDG est plus efficace que celle du FCH, un dérivé de la choline reconnu par les transporteurs cholinergiques. De plus, il est corrélé avec la densité de macrophages et de lymphocytes CD8 de la paroi. Le troisième traceur utilisé, le 18F-DPA714, un antagoniste du récepteur aux benzodiazépines utilisé en neuroinflammation, n'a pas été détecté. D'autres traceurs radioactifs ont également été testés dans les AAA sans donner de résultat significatif (194). Le FDG reste à ce jour le meilleur radiotracer pour l'étude des AAA.

Enfin, nous avons observé, chez un certain nombre de patients suivis dans notre département, une superposition entre le site de fixation de FDG dans la paroi de l'anévrisme et l'endroit où survient la rupture (Figure 25). Par ailleurs, une étude portant sur le stress hémodynamique dans les anévrismes a mis en évidence une concordance entre le site de captation de FDG et la zone de plus haute tension pariétale (195) qui correspond également avec le site de rupture de l'anévrisme (196).

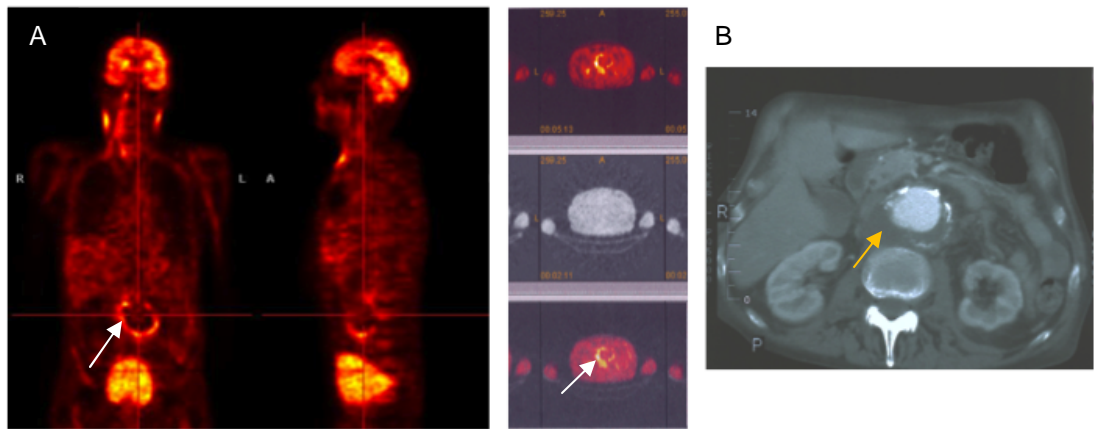


Figure 25. AAA rompu présentant une captation de FDG au niveau du site de rupture. Le site de captation de FDG observé au PET/CT (A, flèches blanches) correspond au site de rupture observé par scanner (B, flèche orange).

Publication n° 1:

Extracellular matrix proteins in normal and aneurysmal aorta.

Charles M. Lapière, Audrey Courtois and Betty V. Nusgens

In “**Aortic aneurysms : new insights into an old problem**”

Editors : N. Sakalihasan, H. Kuivaniemi and JB. Michel.

Publisher : Editions de l'Université de Liège, 2008, pp67-83.

BUTS et PLAN DU TRAVAIL

Le risque de rupture d'un anévrisme a été longtemps considéré comme étant dépendant de son diamètre, un paramètre qui constitue le critère décisionnel le plus courant pour le traitement chirurgical des AAA. De plus en plus d'études ont cependant montré que la taille de l'anévrisme n'était pas le seul facteur lié à la rupture. Certains anévrysmes de grande taille peuvent rester stables pendant des années sans signe de rupture tandis que d'autres rompent alors qu'ils n'avaient pas atteint une taille critique. D'autres signes alarmants tels qu'une accélération de la croissance ou l'apparition de douleurs sont également considérés comme précurseurs d'une rupture. Il n'existe à l'heure actuelle aucun moyen ni marqueur fiable permettant de prédire l'évolution d'un anévrisme et sa rupture.

La base de notre travail repose sur des études cliniques originales réalisées dans le département de chirurgie cardiovasculaire en collaboration avec des services de médecine nucléaire et visant à étudier la captation de FDG dans la paroi anévrysmale par PET/CT. D'abord limitée à quelques dizaines de patients, puis ensuite élargie plus récemment à quelques 400 cas, cette technique d'imagerie fonctionnelle a mis en évidence une captation de FDG reflétant une hyperactivité métabolique dans la paroi anévrysmale d'un nombre significatif de patients. Il a pu être établi que la captation de FDG au sein de l'anévrisme était associée à un taux de croissance accéléré et à la présence de symptômes, et qu'elle concordait parfois avec le site de rupture. Ces observations ont permis d'émettre l'hypothèse qu'une captation de FDG au sein de la paroi anévrysmale était synonyme de plus grande instabilité et d'un risque de rupture plus élevé.

L'objectif majeur des travaux décrits dans ce mémoire était donc de comparer les altérations tissulaires, cellulaires et moléculaires présentes au sein de trois types d'échantillons anévrysmaux : les sites hypermétaboliques, positif au FDG, les zones quiescentes prélevées dans le même anévrisme à distance des sites de captation de FDG et des prélèvements réalisés sur des anévrysmes quiescents dans leur totalité. Cette approche devait nous permettre d'identifier des processus pathobiologiques locaux et globaux affectant la paroi aortique et son instabilité.

Un premier volet de nos travaux a consisté à créer une banque d'échantillons biologiques (sang, pièces chirurgicales) provenant de patients suivis au moyen du PET/CT et atteints de différentes pathologies vasculaires. Dans la grande majorité des cas, ces échantillons ont été prélevés chez des patients souffrant d'un AAA quiescent ou ne captant par le FDG dans sa totalité (A0) ou présentant une zone hypermétabolique (A+). Dans ce dernier cas, les prélèvements de paroi anévrysmale ont été réalisés au site de fixation du FDG (A+_{pos}) et dans une zone inactive située à distance de celui-ci (A+_{neg}).

Ces différents échantillons ont fait l'objet d'une étude histologique et biochimique des deux couches principales de la paroi : la media et l'adventice. Des altérations significatives susceptibles de représenter des processus avant-coureurs de la rupture ont été mises en évidence au sein du site de fixation du FDG, mais également à distance de celui-ci, suggérant ainsi des atteintes à la fois locales et systémiques. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication dont les données sont rapportées sous la forme d'un bref résumé et détaillées dans la publication n° 2 de ce mémoire.

Afin d'élargir notre champ d'investigation, ces échantillons ont été caractérisés par une analyse transcriptomique globale. L'objectif de cette étude était de tenter d'identifier de nouveaux facteurs potentiellement impliqués dans l'instabilité de la paroi anévrysmale et de rechercher des biomarqueurs prédictifs d'une rupture. Ces résultats ont conduit à une publication en voie de soumission. Ces données sont résumées dans le mémoire et détaillées dans la publication n° 3 de ce travail.

Enfin, nous avons été amenés à étudier le cas de deux patients, atteint d'une maladie de Horton et d'une polykystose rénale familiale. Ces données sont résumées dans la partie IV des Résultats et détaillées dans les publications n° 4 et 5.

RESULTATS : PARTIE I

Constitution d'une banque d'échantillons biologiques provenant de patients porteurs d'un AAA et d'autres pathologies vasculaires.

Au cours de ce doctorat, nous avons constitué une large banque d'échantillons biologiques provenant de patients atteints de différentes pathologies vasculaires. Outre des biopsies d'AAA qui constituent le principal sujet de ce travail de thèse, des prélèvements issus de patients atteints de TAA, de dissections, d'atteintes valvulaires ainsi que de patients ayant subi préalablement une réparation par endoprothèse (EVAR) ont été collectés. Enfin, des patients atteints de maladies génétiques, comme la polykystose rénale autosomale dominante, ou acquises, comme la maladie de Horton, ont également été intégrés à cette étude.

Cette banque d'échantillons a été réalisée dans le cadre d'un projet européen intitulé « *Fighting Aneurysmal Disease* » regroupant plusieurs partenaires. Elle a donc été mise à disposition du consortium européen dans le cadre de collaborations internationales. Dans cette première partie des résultats, nous détaillerons uniquement le protocole expérimental mis en place pour obtenir des échantillons provenant de patients atteints d'un AAA.

1. Mise en place d'un protocole expérimental

La première étape de ce projet a consisté à mettre en place une banque d'échantillons biologiques provenant de patients dont l'anévrisme avait été évalué par PET/CT, parfois à plusieurs reprises, ceci afin d'apprécier le caractère prédictif de cette technique d'imagerie dans le domaine des AAA, de leur évolution et de leur rupture éventuelle. Dans ce but, nous avons développé un protocole permettant de collecter un maximum de prélèvements différents et d'informations cliniques au sein de notre département.

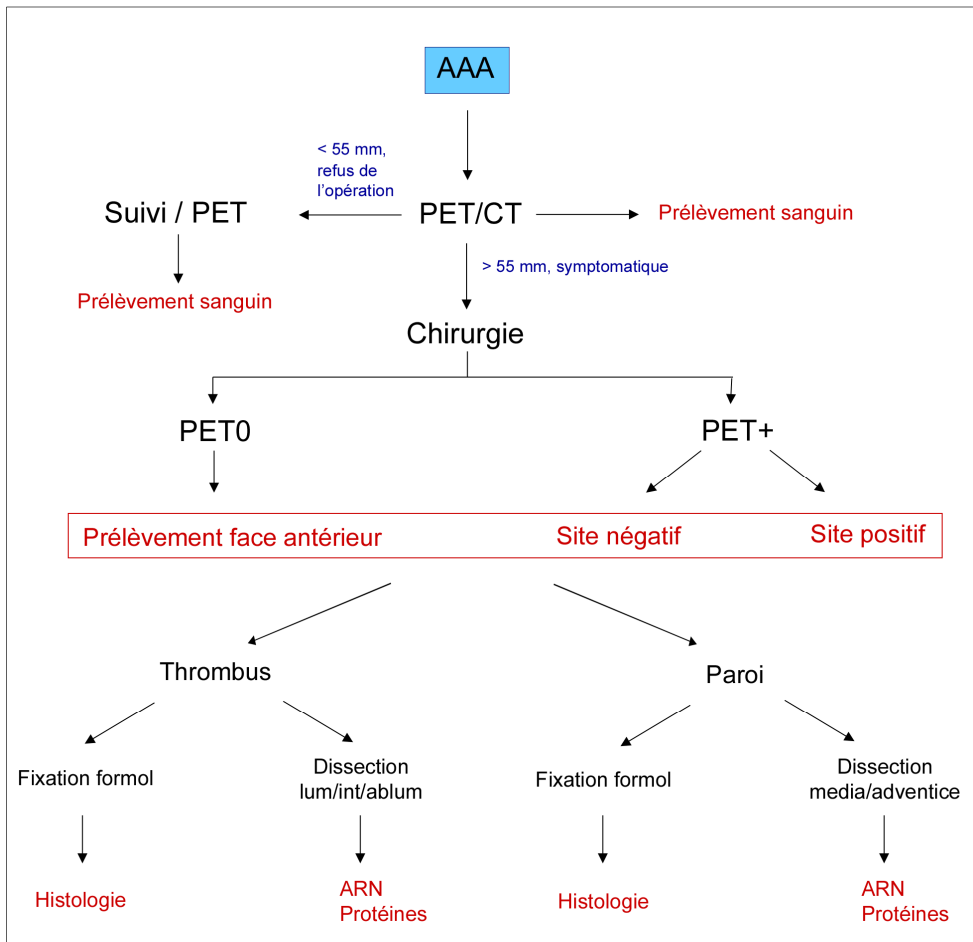


Figure 26. Schéma décrivant l'obtention des prélèvements biologiques chez les patients. A0, AAA dans lequel aucune captation de FDG n'a été observé par PET ; A+, AAA dans lequel une captation de FDG a été observée par PET ; lum/int/ablum, couche luminale, intermédiaire et abluminale du thrombus. En rouge, les différents prélèvements réalisés.

Un dépistage systématique d'AAA a été réalisé, après signature d'un consentement éclairé, chez tous les patients atteints d'une maladie coronarienne arrivant au service de cardiologie.

La figure 26 décrit le protocole clinique et expérimental mis en place pour le suivi et/ou les prélèvements réalisés chez les patients atteints d'un AAA. Une fois l'anévrisme détecté par échographie, le patient passe un PET/CT. Juste avant l'injection du FDG, une prise de sang est effectuée chez le patient. Dans notre étude, le chirurgien prend la décision d'opérer le patient sans avoir connaissance des résultats du PET/CT et se base uniquement sur la taille de l'anévrisme et d'éventuels symptômes. Si la décision de ne pas intervenir est prise, un suivi de l'anévrisme par PET/CT est effectué tous les trois mois, six mois ou un an en fonction de son diamètre. A ces occasions, de nouvelles prises de sang sont réalisées. Si par contre le chirurgien décide d'intervenir, il prend à ce moment connaissance des résultats du PET/CT.

Deux cas de figures s'envisagent alors : le PET est soit négatif (A0 pour anévrisme négatif), soit positif (A+ pour anévrisme positif). Dans le premier cas, lors de l'opération, le chirurgien prélève un fragment de la paroi et du thrombus au niveau de la face antérieure de l'anévrisme. Dans le deuxième cas, en se basant sur les images du PET/CT, le chirurgien prélève un fragment de la paroi et du thrombus au niveau du site de captation de FDG localisé comme décrit ci-après, ainsi qu'une autre biopsie à un endroit différent de l'anévrisme où aucune captation de FDG n'a été observée. Ces deux prélèvements sont appelés le site positif (A_{pos}) et le site négatif (A_{neg}). Les échantillons sont alors traités et stockés en vue de leur future utilisation.

1.1. Localisation de l'endroit de captation du FDG au sein de la paroi anévrysmale et réalisation des prélèvements

A l'initiation de ce projet, il était prévu de localiser le site de captation de FDG à l'aide d'une sonde gamma dans la salle de chirurgie. Comme ce protocole nécessitait une seconde injection de FDG avant l'intervention, cette option a été abandonnée pour des raisons d'éthique et de sécurité du personnel.

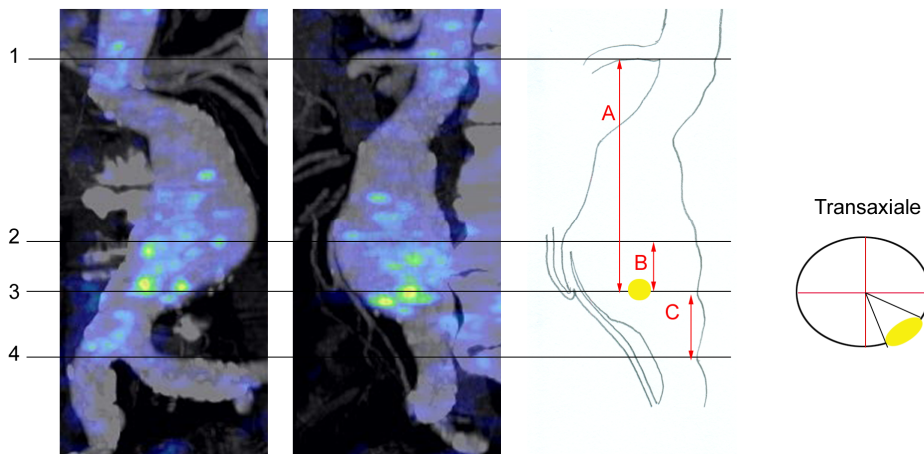


Figure 27. Localisation anatomique du site de captation du FDG au sein de la paroi anévrysmale. 1, niveau de l'artère rénale ; 2, niveau de l'artère mésentérique inférieure ; 3, niveau du site de captation de FDG ; 4, niveau de la bifurcation iliaque. A, B et C représentent les distances entre le site de captation de FDG et l'artère rénale (A), l'artère mésentérique (B) ou la bifurcation iliaque (C). Sur une coupe transaxiale, l'angle entre le spot de FDG et des axes virtuels est mesuré pour compléter la localisation.

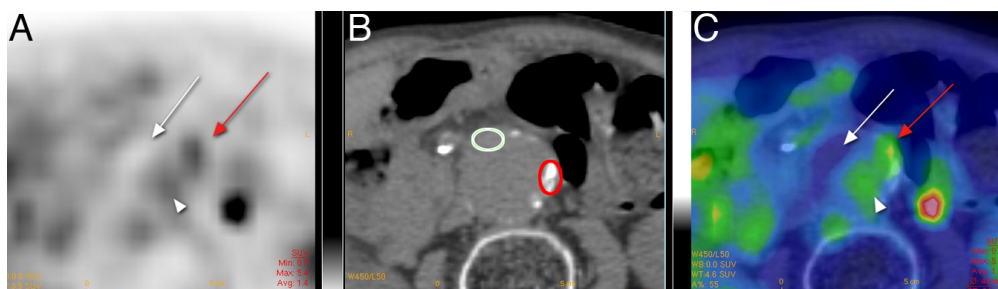


Figure 28. Exemple de prélèvements du site positif et négatif au sein du même anévrysmes. A) coupe transaxiale du PET ; B) image du CT ; C) fusion du PET et du CT. Un site avec une augmentation de l'intensité est observé au PET (flèche rouge). Il n'y a pas de captation au niveau du thrombus (A, flèche blanche) et une faible captation au niveau de la lumière du vaisseau (A, tête de flèche blanche). Le cercle rouge indique l'endroit de prélèvement du site positif pendant l'opération et le cercle blanc, celui du site négatif.

Durant l'intervention, le chirurgien visualise les images du PET/CT sur un écran afin de localiser le site de captation du FDG au sein de l'anévrisme. Il utilise plusieurs points de repères anatomiques et de mesures sur les images comme illustré dans la figure 27. Les repères anatomiques utilisés sont la bifurcation iliaque ainsi que le niveau de l'artère rénale et de l'artère mésentérique inférieure. Le chirurgien calcule alors les distances séparant ces différents points du site de captation du FDG. Ces mesures sont complétées par celle de l'angle formé entre le site positif et des axes virtuels placés sur une coupe transaxiale de l'anévrisme.

Une fois le site de captation localisé précisément, le chirurgien prélève un fragment de la paroi, et du thrombus s'il est présent, à l'emplacement de ce site positif. Un fragment de l'anévrisme est ensuite prélevé à distance. Cet échantillon, appelé site négatif, est pour la plupart des cas prélevé au niveau de la paroi antérieure de l'anévrisme à une distance d'environ 2-3 cm de l'artère mésentérique inférieure comme dans le cas d'un A0. Dans certains cas rares, le site de captation de FDG étant situé dans la partie antérieure de la paroi, le chirurgien prélève le site négatif à un autre endroit mais toujours dans la partie antérieure ou antérolatérale. La figure 28 représente un exemple d'AAA avec la localisation du prélèvement effectué au site de captation de FDG (cercle rouge) et à un endroit négatif (cercle blanc).

1.2. Préparation des biopsies de paroi et de thrombus

Une fois les prélèvements réalisés en salle d'opération, ils sont préparés en vue des analyses biochimiques et histologiques ultérieures. Le thrombus est souvent adhérent à la paroi au moment du prélèvement et doit en priorité en être séparé.

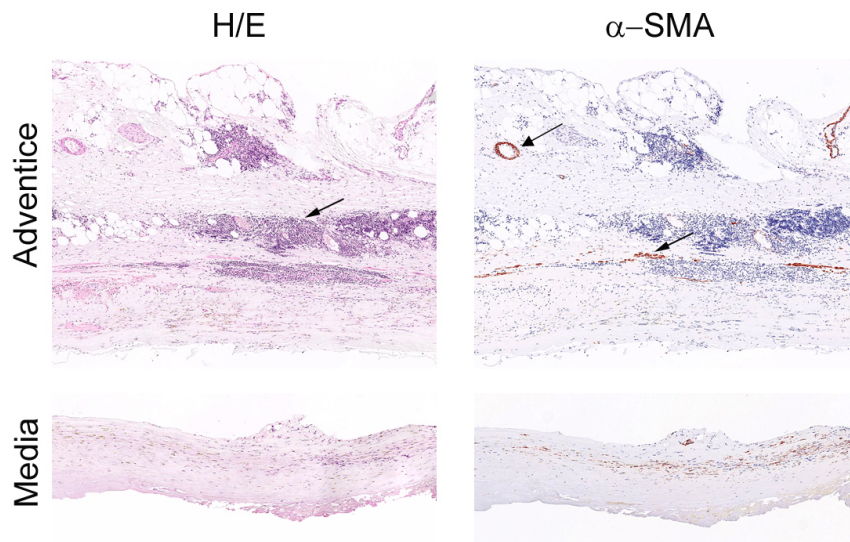


Figure 29. Validation de la technique de séparation de l'adventice et de la media. L'adventice et la media sont colorées à l'hématoxyline/éosine (H/E) afin de visualiser l'aspect général du tissu. Un infiltrat important de cellules inflammatoires est localisé dans l'adventice (indiqué par la flèche dans l'image supérieure gauche). Les cellules musculaires lisses (SMC) sont marquées en rouge grâce à un anticorps anti-actine muscle lisse (α -SMA). Le marquage observé pour l' α -SMA dans l'adventice correspond à des vaisseaux sanguins (indiqués par les flèches). Dans la media, le marquage α -SMA est associé aux SMC dont la densité peut varier fortement en fonction du stade de développement de l'anévrisme.

1.2.1. Paroi

Un échantillon (environ 1 cm de long et 0.5 cm de large) de la paroi entière est prélevé et fixé dans une solution de formaline en vue des analyses histologiques. Le restant de la paroi est ensuite disséqué pour isoler la media et l'adventice. Cette dissection est assez simple, les deux couches étant macroscopiquement bien différenciées (couleurs et textures). Des analyses histologiques de ces deux couches ont été réalisées afin de valider la technique de dissection (Figure 29). Des cellules α -SMA positives sont présentes dans la partie adventitielle quoiqu'en proportion généralement faible. Ces cellules peuvent correspondre soit à des vaisseaux sanguins comme c'est le cas sur la figure 29 ou à des cellules souches exprimant l' α -SMA comme décrit dans la figure 4 de l'introduction. La media et l'adventice sont ensuite coupées en petits fragments immédiatement congelés dans l'azote liquide et ensuite stockés à -80°C jusqu'à leur utilisation pour analyses biochimiques.

1.2.2. Thrombus

Un morceau entier du thrombus est également fixé dans le formol pour réaliser des analyses histologiques. Lorsqu'elles sont bien visibles, les différentes couches du thrombus, généralement au nombre de trois (luminale, intermédiaire et abluminale), sont séparées et congelées de la même manière que les morceaux de parois afin d'en extraire par la suite les ARN et les protéines. Les différentes couches du thrombus sont facilement isolées en raison des grandes différences de leur aspect macroscopique (couleurs et textures).

2. Types et nombres d'échantillons obtenus

2.1. Echantillons sanguins

Avant l'injection du FDG lors du PET/CT, un prélèvement de sang est effectué sur EDTA et en tube sec. Le plasma et le sérum sont récupérés par centrifugation à 3000 g pendant 10 minutes. Les cellules sanguines mononucléées (PBMC pour « *peripheral blood mononuclear cells* ») sont obtenues à partir de deux tubes de sang sur EDTA et sont séparées sur un gradient de Ficoll par centrifugation à 2000 g pendant 30 minutes. PBMC et plasma sont récupérés. Après lavage des PBMC par un tampon phosphate/EDTA et centrifugation à

Tableau 5. Nombre de patients intégrés dans l'étude et ayant subi au moins un prélèvement sanguin.

	AAA	TAA	Dissection	EVAR	TAA+AAA
Patients (n)	173	34	24	55	23
Hommes (n)	161	26	18	51	14
Femmes (n)	12	6	6	4	9

Patients atteints d'un AAA, d'un TAA, d'une dissection aortique ou d'un anévrisme thoraco-abdominal (TAA+AAA) ainsi que ceux traités par EVAR intégrés à l'étude.

Tableau 6. Nombre de patients pour lesquels plusieurs prélèvements sanguins ont été effectués.

Nombre d'échantillons	AAA	TAA	Dissection	EVAR	TAA+AAA
1x	77	13	4	23	15
2x	56	8	12	26	5
3x	30	9	6	6	3
4x	10	4	1	0	0
5x	0	0	1	0	0

Les patients du tableau 5 sont classés en fonction du nombre de prélèvements sanguins.

1500 g pendant 10 minutes, les échantillons ainsi que le plasma sont congelés à -80°C . L'ADN est également extrait à partir de sang sur EDTA pour chaque patient.

Un total de 428 patients présentant diverses pathologies vasculaires ont été intégrés dans ce protocole de prélèvements sanguins. Parmi ceux-ci, 173 patients présentaient un AAA (Tableau 5). Comme expliqué précédemment, les patients non-opérés ont été suivis par PET/CT tous les trois mois environ avec un prélèvement de sang à chaque examen. De cette manière, nous avons pu collecter des échantillons d'un même patient au cours du suivi de leur anévrisme. Le tableau 6 détaille le nombre de patients ayant subi une ou plusieurs prises de sang durant l'étude.

2.2. Echantillons tissulaires

Environ la moitié des 173 patients présentant un AAA ont été traités par chirurgie. Des prélèvements tissulaires de leur anévrisme ont été obtenus pour 52 d'entre eux. Parmi ceux-ci, 30 présentaient un PET négatif (ou A0) et 22 un PET positif (ou A+). Nous avons également obtenu 23 prélèvements d'AAA chez des patients n'ayant pas préalablement passé un PET/CT. Pour chaque patient opéré, nous n'avons pas toujours pu obtenir tous les types d'échantillons prévus (paroi fixée au formol, media et adventice congelées et thrombus). En effet, la possibilité de prélever les différents types d'échantillons dépend de paramètres chirurgicaux tels que l'emplacement du site positif au niveau de l'aorte, la taille de la biopsie prélevée ainsi que des caractéristiques cliniques de l'AAA (présence ou non d'un thrombus, épaisseur de la paroi, calcification de la media, ...). Le tableau 7 récapitule le nombre des différents types d'échantillons tissulaires obtenus chez des patients atteints d'un AAA.

En plus des AAA, 12 échantillons d'anévrismes thoraciques (TAA), trois de dissections diverses et 21 prélèvements de valves aortiques ont été également obtenus durant cette étude. Certains d'entre eux ont été utilisés par les équipes collaborant au projet FAD. Nous avons nous-mêmes étudié deux cas de dissection, l'une chez une patiente souffrant d'une maladie de Horton et l'autre chez un patient souffrant d'une forme familiale de polykystose rénale (Partie IV).

Tableau 7. Tableau récapitulatif des prélèvements de paroi et de thrombus chez les AAA.

PET	n	Paroi aortique			Thrombus			
		Formol	Med (-80°C)	Adv	Formol	Lum	Int (-80°C)	Ablum
Non réalisé	23	21	19	20	19	15	14	14
A0	30	29	29	30	26	26	22	24
A+ :	22							
A _{pos} et A _{neg} (appariés)		12	14	14	9	6	4	4
A _{pos} (seul)		4	2	2	3	5	2	4
A _{neg} (seul)		4	4	4	7	7	7	9

Med, media ; Adv, adventice ; Lum, luminal ; Int, intermédiaire ; Ablum, abluminal.

3. Conclusions et perspectives

Au cours de ce projet, nous avons constitué une banque de plus de 300 échantillons sanguins provenant de près de 200 patients différents ayant subi un ou plusieurs PET/CT. Pour chacun de ces prélèvements, le plasma, le sérum et les PBMC ont été collectés et conservés séparément. Au niveau tissulaire, une centaine de prélèvements ont été obtenus lors de l'intervention chirurgicale. Parmi ceux-ci, 75 concernaient des biopsies d'AAA, dont 52 provenaient de patients ayant passé un PET/CT et pour lesquels des échantillons sanguins avaient été préalablement collectés. Pour chaque échantillon obtenu, les données cliniques du patient ont été collectées et enregistrées dans une base de données européenne (*WorkPackage 1* du projet européen : « *Fighting Aneurysmal Disease* », J. Lindholt).

Différentes études ont pu être réalisées à partir des échantillons provenant de cette banque. Un certain nombre d'échantillons tissulaires et sanguins ont été utilisés au cours de nos travaux de doctorat dont les résultats sont décrits dans les parties II et III de ce mémoire. Par ailleurs, une étude en collaboration avec l'équipe de JB Michel (INSERM U698, Paris 7) est en cours sur les prélèvements sanguins provenant de patients atteints de dissection aortique.

Les échantillons de cette banque sont donc disponibles pour entamer d'emblée toute étude de nouveaux biomarqueurs circulants en fonction des développements scientifiques futurs. Ils permettront également d'établir des corrélations entre divers marqueurs sanguins et différents facteurs cliniques tels que la taille de l'anévrisme et/ou sa vitesse de progression, la captation de FDG, des antécédents médicaux ou la prise de certains médicaments. Par ailleurs, des études génétiques sont également envisagées en collaboration avec l'équipe de H. Kuivaniemi (Sigfried and Janet Weis Center for Research, Geisinger Clinic, Danville, Pennsylvania, USA).

RESULTATS : PARTIE II

Une captation de FDG au niveau de la paroi anévrysmale est associée à des altérations cellulaires et moléculaires liées à la progression de l'anévrysme et à sa rupture.

1. Introduction

Ainsi que nous l'avons expliqué précédemment dans ce mémoire, il serait des plus utile d'identifier et de valider de nouveaux marqueurs prédictifs de la rupture plus appropriés que la taille de l'anévrysme.

Le développement de l'AAA est caractérisé par une inflammation chronique principalement au niveau de l'adventice, une réduction du nombre de cellules musculaires lisses dans la media et une dégradation et un remodelage de la matrice extracellulaire. Le PET/CT est une technique d'imagerie qui permet de détecter des cellules métaboliquement actives telles que les cellules inflammatoires. Notre étude préliminaire avait montré une captation de FDG au sein de la paroi anévrysmale de patients dont la majorité présentaient des symptômes alarmants tels que croissance accélérée, douleur et rupture. Par ailleurs, chez certains d'entre eux, le site de fixation du FDG correspondait au pic de stress pariétal maximum et parfois au site de rupture. Ces observations suggèrent que la captation de FDG détectée par PET/CT serait potentiellement prédictive d'un risque de rupture et représenterait donc un outil d'intérêt dans le monitoring des AAA.

Dans ce premier volet de nos travaux, nous avons comparé la composante cellulaire et les caractéristiques biochimiques de la paroi anévrysmale chez des patients présentant un PET positif (A+), au niveau du site de captation du FDG (A_{pos}) et d'un site distant négatif au sein du même anévrysme (A_{neg}). Cette approche réduit considérablement l'influence de facteurs environnementaux et systémiques. Par ailleurs, des échantillons issus d'AAA ne présentant aucune fixation du FDG ont également été analysés (A0).

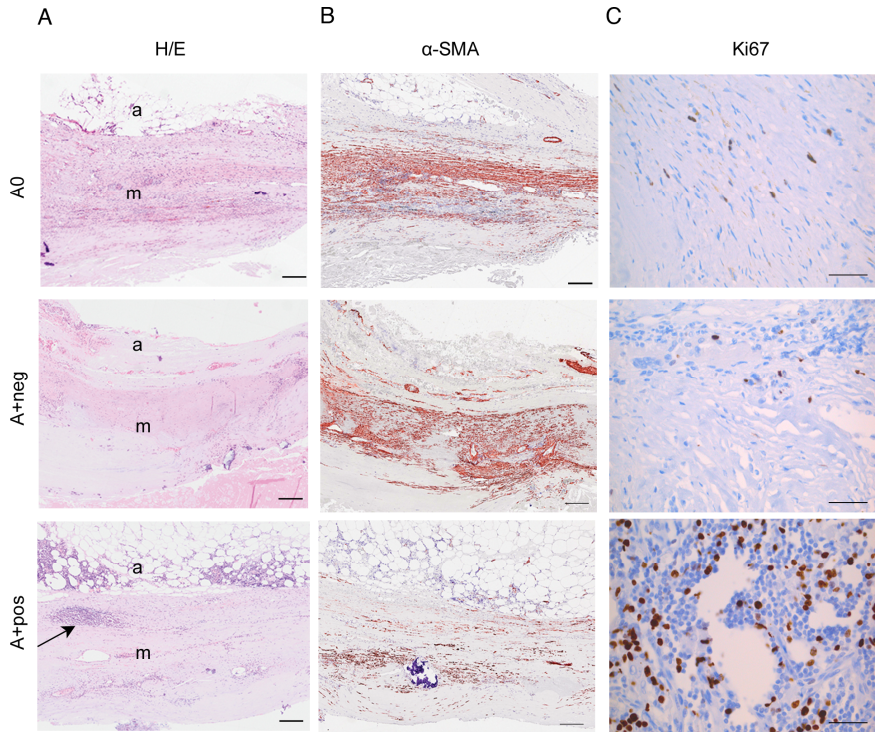


Figure 30. Caractérisation de la composition cellulaire de la paroi anévrysmale. Des coupes de parois entières provenant de patients représentatifs des A0 ou des A+ au niveau du site négatif (A+_{neg}) et du site positif (A+_{pos}) sont colorées à l'hématoxyline/éosine (A) ou marquées à l'aide d'anticorps dirigés contre l'actine-muscle lisse (α -SMA, B) ou le Ki67 (C). a, adventice et m, media. La barre correspond à 200 μ m en A et B et à 50 μ m en C. La flèche en A, panneau du bas, indique un organe lymphoïde tertiaire (ATLO).

Tableau 8. Quantification de l'infiltrat inflammatoire, du marquage α -SMA et du marquage Ki67.

Patients	Infiltrat inflammatoire (A.U.)	Cellules positives pour l' α -SMA (A.U.)	Cellules positives pour le Ki67 (A.U.)
A0	0.8 (0.4-2.0)	15.7 (7.5-18.9)	12.9 (6.7-22.3)
A+ _{neg}	0.7 (0.4-1.0)	20.6 (13.8-23.5)	15.6 (12.7-16.7)
A+ _{pos}	4.0 (2.9-5.8) *#	7.8 (3.9-10.2) *#	54.9 (45.7-64.9) *#

Médiane (Intervalle interquartile 25-75%) en unités arbitraires (A.U.). * $p < 0.05$ vs A0, déterminé par le U-test de Mann-Withney; # $p < 0.05$ vs A+_{neg}, déterminé par le test de Wilcoxon.

2. Résumé des résultats

Parmi les 18 patients intégrés à cette étude, dix avaient un PET négatif (A0) et huit présentaient une captation de FDG (A+). Par analyse histologique et immunochimique, les échantillons A₊_{pos} sont caractérisés par un infiltrat inflammatoire adventiciel significativement plus dense principalement composé de lymphocytes B et T ainsi que de macrophages (Figure 30A et tableau 8). On y constate également une raréfaction significative des cellules musculaires lisses (Figure 30B et tableau 8) ainsi qu'une activité mitotique accrue (Figure 30C et tableau 8). De plus, la densité des différents types de cellules inflammatoires est significativement corrélée au degré de fixation du FDG exprimé par le SUV (*Standardized Uptake Value*). L'activité proliférative ainsi que la densité plus importante de plasmocytes à l'endroit de captation du FDG indiquent une activation de la population lymphocytaire à ce niveau.

L'expression de gènes impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire (MMP-1, -2, -3, -9, -12, -13, -14, -15, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, PAI-1, uPA, RECK et EMMPRIN), dans son maintien et sa réparation (COL1A1, Elastine), dans la réaction inflammatoire (MCP-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, COX-2, TNF α et TGF β), dans l'angiogenèse (HIF-1 α , CD31, VEGF et TSP-1) ainsi qu'un marqueur des cellules musculaires lisses (α -SMA) a été mesurée dans la media et l'adventice de cinq patients A0 et de six patients A+ à la fois au site négatif (A₊_{neg}) et au site positif (A₊_{pos}). Les différences les plus significatives sont résumées dans les tableaux 9 et 10.

Bien que la captation de FDG soit nulle dans les échantillons A0 et A₊_{neg}, ces derniers diffèrent des A0 par une réduction de l'expression de plusieurs gènes impliqués dans le maintien et le remodelage de la matrice extracellulaire (MMP12, MMP15, TIMP2, RECK, EMMPRIN et chaîne alpha 1 du collagène de type 1). Certaines cytokines sont également réduites, dont le TNF α et le TGF β (Tableau 9).

Tableau 9. Expression relative ($A_{+neg}/A0$) des gènes les plus significativement modulés, dans la media et l'adventice.

Media		Adventice	
	$A_{+neg}/A0$		$A_{+neg}/A0$
MMP12	0.3*	TNF α	0.5*
IL8	0.3*	TGF β	0.7*
MMP15	0.4*	IL8	2.5
RECK	0.5**	IL6	3.7
TIMP2	0.6*		
EMMPRIN	0.8**		
COL1A1	0.8*		

*Les niveaux d'expression relative au sein des échantillons A_{+neg} sont présentés dans le tableau sous la forme d'un rapport de médianes ($A_{+neg}/A0$). Pour l'IL8 et l'IL6, au niveau de l'adventice, les différences ne sont pas statistiquement significatives en raison de grandes variabilités interindividuelles mais la tendance qui se dessine est susceptible d'avoir des implications biologiques. * $p < 0.05$ et ** $p < 0.01$, déterminé par le U test de Mann-Withney.*

Tableau 10. Expression relative (A_{+pos}/A_{+neg}) des gènes les plus significativement modulés, dans la media et l'adventice, chez le même patient.

Media		Adventice	
	A_{+pos}/A_{+neg}		A_{+pos}/A_{+neg}
ELN	0.3*	EMMPRIN	0.7*
TIMP2	0.7*	VEGF	0.7*
EMMPRIN	0.8*	TIMP2	0.9*
TGF β	0.8*	MMP14	1.6*
TIMP1	1.8*	TSP1	1.9*
MMP1	1.8*	uPA	2.2*
MMP12	1.8*	COL1A1	5.5*
COL1A1	2.2*	MMP13	9.1
MMP13	3.9*	MMP1	12.9

*Les niveaux d'expression relatifs au sein des échantillons A_{+pos} sont présentés dans le tableau sous la forme d'un rapport de médianes (A_{+pos}/A_{+neg}). Pour la MMP13 et la MMP1, au niveau de l'adventice, les différences ne sont pas statistiquement significatives en raison de grandes variabilités interindividuelles mais la tendance qui se dessine est susceptible d'avoir des implications biologiques. * $p < 0.05$, déterminé par le test de Wilcoxon.*

Le site de captation de FDG est caractérisé, par rapport à un site négatif du même anévrisme, par un accroissement parfois très important de l'expression de différents gènes impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire (MMP1, 12, 13 et TIMP1 au sein de la media ; MMP1, 13, 14 et uPA dans l'adventice). Par ailleurs, le collagène de type I est fortement exprimé aussi bien dans la media que dans l'adventice A₊_{pos} suggérant une tentative de réparation de la paroi. Il est intéressant de noter que le TGFβ est faiblement mais significativement réduit au niveau de la media du site A₊_{pos} par rapport aux A₊_{neg} (Tableau 10).

En complément à ces analyses d'expression, la production et l'activation de la MMP2 et de la MMP9 ont été mesurées par zymographie. Dans la media, seule la MMP9 est significativement accrue dans les sites A₊_{pos}, en termes de production et d'activation. Dans l'adventice, les deux enzymes MMP2 et MMP9 sont trouvées en plus grande quantité dans les sites A₊_{pos} et la proportion de forme activée est également accrue. Il est à noter que le taux circulant pré-opératoire de CRP est triplé chez les patients A+ par rapport aux A0.

3. Conclusions

L'ensemble de ces données nous permet de mettre en relation d'une part la captation de FDG au sein de l'anévrisme et, d'autre part, des altérations cellulaires et moléculaires augurant une fragilisation de la paroi. La densité importante de l'infiltrat inflammatoire dans l'adventice, la raréfaction considérable des SMC dans la media et l'expression élevée d'enzymes responsables de la dégradation du support matriciel de l'aorte sont des processus potentiellement précurseurs de rupture. Par ailleurs, la modulation de l'expression de nombreux gènes au niveau du site négatif des A+ par rapport aux A0, suggère que des événements environnementaux et/ou des facteurs systémiques pourraient avoir un impact général sur la biologie de la paroi anévrysmale et activer des voies de signalisation contribuant à sa fragilisation et à une croissance accélérée de l'anévrisme.

Publication n° 2:

18-FDG uptake assessed by PET/CT in abdominal aortic aneurysms is associated with cellular and molecular alterations prefacing wall deterioration and rupture.

Audrey Courtois, Betty V. Nusgens, Roland Hustinx, Gauthier Namur, Pierre Gomez, Joan Somja, Jean-Olivier Defraigne, Philippe Delvenne, Jean-Baptiste Michel, Alain C. Colige and Natzi Sakalihasan.

Journal of Nuclear Medicine, 2013, *in press*

RESULTATS : PARTIE III

Analyse globale de l'expression des gènes dans les anévrismes de l'aorte abdominale présentant une captation de FDG visualisée par PET/CT.

1. Introduction

Dans la partie précédente de ce travail, les processus cellulaires et biologiques étudiés avaient été définis, à priori, sur la base de leur implication connue ou potentielle dans le développement et la rupture des AAA. Nous avons ainsi démontré que le site d'incorporation de FDG se caractérise par une diminution marquée du nombre de SMC présentes dans la media, par une réaction inflammatoire intense et par des modulations de l'expression de gènes impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire, dont les MMPs. Ces différents événements sont probablement responsables de la fragilisation de la paroi anévrysmale conduisant finalement à sa rupture.

Dans cette troisième partie de nos travaux, nous avons étendu notre étude initiale en tentant d'identifier de nouveaux facteurs et de nouvelles voies de signalisation associés à un PET/CT positif. Cette approche prospective visait à une évaluation plus précise de la progression de l'anévrisme et à l'identification de nouveaux biomarqueurs potentiels. Dans ce but, une approche transcriptomique a été utilisée afin d'identifier dans l'ensemble du génome humain les gènes exprimés de façon différentielle dans les tissus A0, A_{+neg} et A_{+pos}.

MEDIA

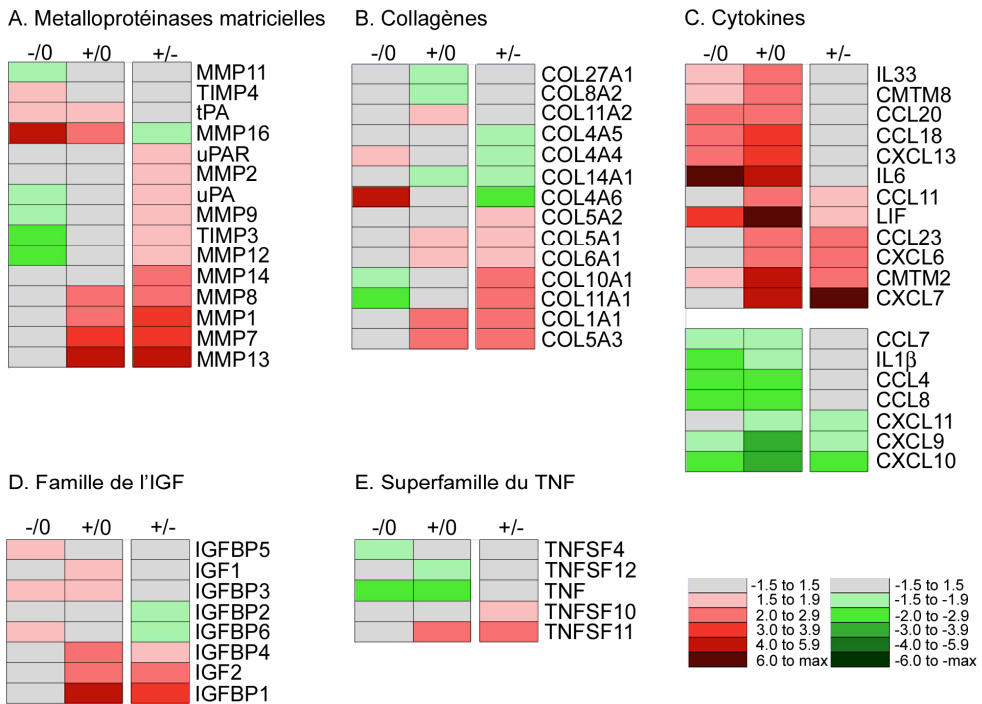


Figure 31. Sélection de familles de gènes présentant une expression différentielle entre les différents échantillons de la media. Les résultats de l'étude transcriptomique par « μ -array » ont été analysés par le programme « DAVID ». Diverses familles de gènes ont été identifiées sur base de leur expression différentielle dans les trois types d'échantillons. A) Famille des MMPs, de leurs activateurs (tPA, uPA et son récepteur uPAR) et de leurs inhibiteurs (TIMP4, TIMP3). B) Famille des collagènes. C) Famille des cytokines comprenant les chimiokines (CCL, CXCL et CMTM) et les interleukines (IL et LIF). D) Famille de l'« insulin-like growth factor » (IGF et protéines de liaison). E) Famille du « tumor necrosis factor ». Un code couleur est utilisé pour illustrer les facteurs de modulation entre les comparaisons paires entre les trois groupes: A_{+neg}/A_0 (-/0); A_{+pos}/A_0 (+/0) et A_{+pos}/A_{+neg} (+/-).

2. Résumé des résultats

L'ARN total a été isolé à partir de la media et de l'adventice d'anévrismes négatifs (A₀ ; n=6) ou positifs (A₊ ; n=6) pour l'accumulation de FDG, les prélèvements étant réalisés dans ce dernier cas au niveau du site positif (A_{+pos}) et d'un site négatif à distance (A_{+neg}). Les ARN de chaque groupe d'échantillons ont été « poolés » afin de réaliser une analyse par μ -array. Des comparaisons de niveaux d'expression ont été réalisées entre les trois groupes d'échantillons pour la media et l'adventice en prenant en compte toutes les modifications d'un facteur égal ou supérieur à 1.5. Près de 3000 gènes dont l'expression était modulée ont été observés pour chaque comparaison. Ces listes de gènes ont été analysées par le programme de bioinformatique DAVID. Les modifications d'expression d'une vingtaine de gènes ont été validées par RT-PCR en temps réel sur chaque échantillon individuellement.

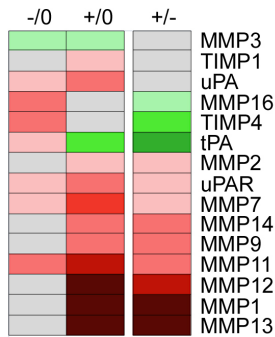
Environ 25% des gènes modulés ont pu être associés à des voies de signalisation proposées par la base de données KEGG (« *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome* »). La comparaison entre le A_{+pos} et le A_{+neg} montre principalement une réduction de l'expression des gènes associés à « *la contractilité des cellules musculaires lisses* » dans la media et dans l'adventice. Parmi les voies de signalisation associées aux gènes dont l'expression est accrue dans le site A_{+pos}, se retrouvent « *interactions matrice extracellulaire-récepteurs* » et « *interactions cytokines-récepteurs* », à la fois dans la media et dans l'adventice. L'adventice du A_{+pos} est de plus caractérisée par une expression accrue des gènes impliqués dans « *adhésion cellulaire* », « *lignée hématopoïétique* », « *cycle cellulaire* » et « *voie de p53* ».

De nombreuses familles de gènes dont l'expression varie significativement entre nos groupes d'échantillons ont été identifiées via DAVID. Les plus pertinentes sont détaillées dans les Figures 31 et 32.

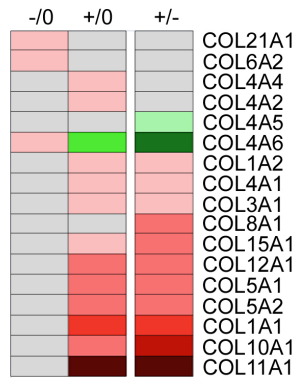
- Quatre familles sont communes à la media et à l'adventice : celle des MMPs, des collagènes, des cytokines et des IGF. Les gènes de la superfamille du TNF semblent modulés uniquement dans la media (Figure 31) et ceux impliqués dans le développement ostéocartilagineux uniquement dans l'adventice (Figure 32).
- Une observation originale issue de ces analyses concerne les régulations similaires identifiées pour une série de gènes à la fois au niveau du A_{+pos} et du A_{+neg} par rapport au

ADVENTICE

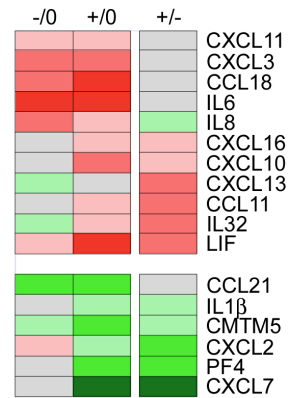
A. Métalloprotéinases matricielles



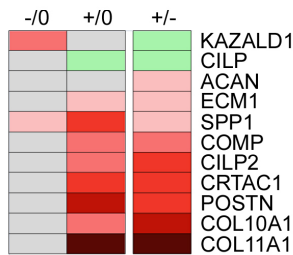
B. Collagènes



C. Cytokines



D. Cartilage



E. Famille de l'IGF

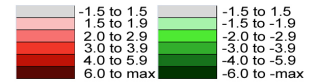
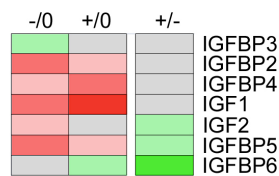


Figure 32. Sélection de familles de gènes présentant une expression différentielle entre les différents échantillons de l'adventice. Les résultats de l'étude transcriptomique par « μ -array » ont été analysés par le programme « DAVID ». Diverses familles de gènes ont été identifiées sur base de leur expression différentielle dans les trois types d'échantillons. A) Famille des MMPs, de leurs activateurs (uPA, tPA et le récepteur uPAR) et de leurs inhibiteurs (TIMP1, TIMP4). B) Famille des collagènes. C) Famille des cytokines comprenant les chimiokines (CCL, CXCL et CMTM) et les interleukines (IL et LIF). D) Gènes impliqués dans la formation du cartilage. E) Famille de l'« insulin-like growth factor » (IGF et protéines de liaison). Un code couleur est utilisé pour illustrer les facteurs de modulation entre les comparaisons paires entre les trois groupes : A_{+neg}/A_0 (-/0); A_{+pos}/A_0 (+/0) et A_{+pos}/A_{+neg} (+/-).

A0, et cela tant dans la media que dans l'adventice. La majorité de ces gènes appartiennent à la famille des cytokines, dont notamment l'IL6, le LIF et le CCL18 (Figure 31C et 32C). Ces observations suggèrent la survenue chez les patients A+ d'évènements d'origine systémique ou environnementale ciblant l'anévrisme dans sa globalité et activant les mécanismes de recrutement des cellules inflammatoires. Les protéines codées par ces gènes sont des candidats potentiels comme biomarqueurs.

- De manière plus spécifique, les sites de captation de FDG se caractérisent par des modifications considérables de l'expression de gènes, dont les plus surexprimés sont la MMP1, la MMP13 et le collagène de type I ce qui suggère un remodelage actif du support matriciel (Figure 31A, 32A et 32C).
- Il faut également noter l'accroissement de l'expression des collagènes de type X et XI au niveau de la media et surtout de l'adventice. Outre ces collagènes exprimés physiologiquement dans le cartilage, d'autres gènes impliqués dans l'ossification endochondrale sont également surexprimés au niveau de l'adventice A₊pos (Figure 32D). Ces données suggèrent la présence au sein de l'adventice de cellules exprimant un phénotype de type ostéocartilagineux et produisant potentiellement une matrice extracellulaire inappropriée. Le site de captation de FDG présente donc des altérations spécifiques potentiellement responsables d'une fragilisation locale prédisposant à la rupture de l'anévrisme.

3. Conclusions

L'analyse transcriptomique globale réalisée au cours de ce travail visait à identifier différents gènes et voies de signalisation potentiellement impliqués dans la progression et la rupture des AAA. Des études ultérieures, réalisées de manière plus ciblées sur un plus grand nombre de patients, seront néanmoins nécessaires afin de valider ces résultats prospectifs. La banque de prélèvements sanguins, créée au cours de ce programme de recherche, se révélera des plus utile pour poursuivre l'analyse de différents facteurs mis en évidence dans cette étude, notamment afin d'évaluer leur validité en tant que biomarqueurs circulants.

Publication n° 3:

Global analysis of gene expression in abdominal aortic aneurysms with a positive 18-FDG uptake as observed by PET/CT

Audrey Courtois, Betty V. Nusgens, Roland Hustinx, Gauthier Namur, Pierre Gomez, Helena Kuivaniemi, Jean-Olivier Defraigne, Alain C. Colige and Natzi Sakalihan.

Manuscrit en préparation

RESULTATS : PARTIE IV

Etude de deux cas cliniques présentant des dissections vasculaires

Présentation du cas n° 1

Une patiente âgée de 66 ans, atteinte d'une maladie de Horton, ou artérite à grandes cellules, a présenté un accroissement du taux de D-dimères et une thrombose veineuse. Lors de l'exploration pulmonaire, un TAA a été diagnostiqué. Un examen de contrôle par PET/CT a permis d'observer une augmentation importante de la taille de l'anévrisme ainsi que la présence d'une dissection aortique. La captation de FDG était particulièrement importante au niveau de l'endroit où débutait la dissection ainsi qu'au niveau des origines de l'artère carotide et du tronc brachiocéphalique.

Des biopsies réalisées au niveau de l'aorte thoracique, de l'artère carotide et du tronc brachiocéphalique ont permis d'observer la présence de cellules géantes ainsi qu'une inflammation importante au niveau de la paroi des vaisseaux. De plus, une activité hémophagocytaire importante en regard de la dissection a été détectée.

Présentation du cas n° 2

Un patient âgé de 47 ans atteint d'une polykystose rénale familiale autosomale dominante (ADPKD) a subi une transplantation rénale. Seize heures après l'intervention, le patient a présenté une thrombose de l'artère iliaque gauche. Il a été opéré d'urgence et le diagnostic de dissection a été posé. Une prothèse a été placée au niveau du segment de l'artère iliaque disséquée et des biopsies de la paroi ont été réalisées.

L'organisation et la densité des faisceaux de collagène ainsi que des cellules musculaires lisses (SMC) étaient normales au sein de la paroi de l'artère iliaque disséquée. Par contre, une réduction et une fragmentation importante des fibres élastiques étaient visibles dans la media de l'artère. Des mutations dans les gènes codant pour la polycystine 1 et 2, responsables de l'ADPKD, pourraient contribuer indirectement à la dégradation de l'élastine en raison de leur implication reconnue dans l'interaction des SMC avec la matrice extracellulaire environnante (197).

Publication n° 4:

Increased metabolic activity highlighted by PET-CT in the wall of the dissected ascending aorta in a patient with Horton disease

Samuel Bruls, Audrey Courtois, Gauthier Namur, Jean-Pierre Smeets, Betty V. Nusgens, Jean-Baptiste Michel, Jean-Olivier Defraigne, Natzi Sakalihasan,

Circulation : Cardiovascular Imaging, 2013, *in press*

Publication n° 5:

Dissection of iliac artery in a patient with autosomal dominant polycystic kidney disease: a case report

Audrey Courtois, Betty V. Nusgens, P. Delvenne, M. Meurisse, Jean-Olivier Defraigne, Alain C. Colige and Natzi Sakalihan.

Aorta, 2013, *in press*

DISCUSSION GENERALE

Comme nous l'avons souligné dans l'introduction générale de ce mémoire, une priorité essentielle dans la surveillance des AAA est le développement d'un mode de prédiction des risques de rupture. La majorité des patients sont en effet asymptomatiques et leur anévrisme est souvent détecté incidemment rendant encore plus problématique la gestion du risque de rupture. La situation idéale serait donc d'avoir à notre disposition un (des) biomarqueur(s) témoignant de l'instabilité de la paroi anévrysmale et de l'imminence de sa rupture en relation avec des techniques de diagnostic plus précises comme semble le promettre le PET/CT. L'identification de ces biomarqueurs nécessite en premier lieu une connaissance approfondie des mécanismes cellulaires et moléculaires conduisant à cette instabilité. Les travaux de recherche entrepris dans le cadre de ce doctorat se sont situés dans cette perspective et représentent une approche préliminaire et prospective de cette problématique. Nous avons bénéficié d'un ensemble d'observations cliniques associées à de l'imagerie fonctionnelle pour élaborer une stratégie expérimentale basée sur l'étude de biopsies provenant de patients AAA présentant ou non une fixation de FDG dans la paroi anévrysmale.

1. Relation entre la fixation de FDG dans la paroi anévrysmale et les données cliniques

En accord avec des résultats préliminaires de notre groupe de recherche (188), une fixation de FDG dans la paroi anévrysmale a été détectée par PET/CT chez un certain nombre de patients porteurs d'un AAA. Cette incorporation de FDG était le plus souvent associée à la présence d'évènements symptomatiques tels qu'une accélération de la croissance de l'anévrisme et/ou des douleurs, signes précurseurs d'un risque de rupture qui sont des facteurs décisionnels pour la chirurgie. Un suivi sur plusieurs années par échographie et PET/CT chez quelques patients a pu montrer l'apparition d'une captation de FDG dans la phase d'accélération de la croissance de l'anévrisme (Figure 24). Dans la série de patients participant à notre étude, le groupe des patients A+ comporte une proportion de patients symptomatiques (6/8) bien supérieure à ce qui est observé dans le groupe des patients A0 (2/10). Ces données sont en accord avec les études de Reeps *et al.* qui

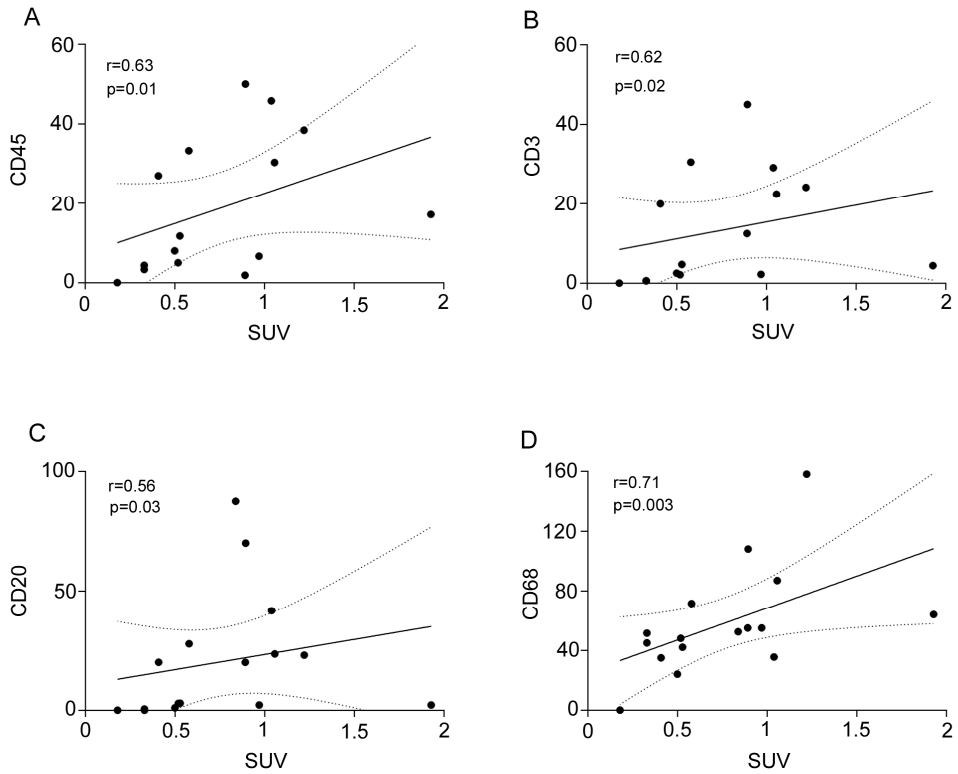


Figure 33. Corrélations entre le SUV et la densité des cellules inflammatoires. Les corrélations entre le SUV et les cellules CD45⁺ (A), CD3⁺ (B), CD20⁺ (C) et CD68⁺ (D) ont été établies selon le « Spearman's rank test ». La droite de régression ainsi que les intervalles de confiance à 95% sont illustrés (n=16).

rappellent également des mesures de SUV significativement plus élevées dans les AAA symptomatiques (190, 191). Nous avons en outre montré que les sites de fixation de FDG au sein des anévrismes sont corrélés avec les sites de tension pariétale élevée identifiés par la méthode des éléments finis (195) ainsi qu'avec le risque et le lieu préférentiel de rupture (196, 198). L'ensemble de ces données, nous permet donc de considérer qu'une fixation de FDG est associée à la survenue d'évènements symptomatiques et est un signe de risque de rupture des AAA. Nous avons dès lors évalué les modifications tissulaires, cellulaires et moléculaires qui y étaient associées.

2. Nature des cellules impliquées dans la captation de FDG

Au niveau cellulaire, la captation de FDG est médiée par les transporteurs membranaires du glucose (GLUT) et son accumulation intracellulaire dépend essentiellement de sa phosphorylation par une hexokinase, dont le niveau d'activité est corrélé au niveau d'activité métabolique des cellules (164). Dans le domaine cardiovasculaire, la captation de FDG est généralement associée à l'activité phagocytaire des macrophages qui possèdent un niveau d'expression élevé des GLUT 1 et 3 et une forte activité hexokinase (174). D'autres types cellulaires peuvent également incorporer le FDG. Une corrélation entre la densité de lymphocytes T et la fixation de FDG a été notamment mise en évidence dans les cancers mammaires (199). Dans notre étude, l'incorporation de FDG est vraisemblablement liée à l'accroissement important du nombre de lymphocytes T et B au sein de l'adventice des sites positifs. Une densité non négligeable mais plus faible de macrophages est également observée au niveau de la media des sites positifs. De fait, une corrélation significative a pu être établie entre le nombre de macrophages et de lymphocytes T et B et le SUV mesuré chez nos patients (Figure 33). Ces résultats confirment et étendent une observation initiale de notre groupe montrant une corrélation entre la captation de FDG et l'infiltration macrophagique de la paroi des AAA (189). Nous avons par ailleurs des arguments suggérant que les cellules inflammatoires sont activées au sein de ces sites positifs. En effet, une prolifération accrue des lymphocytes est observée par marquage au Ki67 dans les sites positifs et la densité de plasmocytes y est également plus élevée que dans les sites négatifs correspondants. Une évaluation de l'activité hémophagocytaire des macrophages, par coloration au bleu de Prusse, a effectivement montré une activité importante localisée dans

les sites de captation de FDG (données non montrées). L'activation des lymphocytes s'accompagne d'une stimulation de l'activité hexokinase et d'une augmentation très importante (jusqu'à six fois) des transporteurs du glucose. Dans le cas des macrophages, leur activation induit également l'expression des GLUT mais de manière plus modérée (193). L'activation des cellules inflammatoires est donc probablement responsable de la captation de FDG observée localement au niveau de la paroi chez certains patients.

Nos analyses transcriptomiques renforcent ces observations. Nous avons en effet observé, au niveau de l'adventice des sites positifs, une surexpression de gènes impliqués dans la lignée hématopoïétique, dans la fixation des leucocytes à l'endothélium et dans la migration trans-endothéliale. Par ailleurs, l'accroissement significatif de transcrits impliqués dans le cycle cellulaire supporte également l'hypothèse d'une activation des cellules inflammatoires et de leur prolifération.

En accord avec les données de la littérature, environ 50% des cellules inflammatoires présentes dans la paroi anévrysmale sont des lymphocytes T. Une proportion un peu plus faible de lymphocytes B s'y trouvent également alors que les macrophages sont significativement moins abondants. Au cours de nos travaux, nous n'avons toutefois pas cherché à caractériser plus en détails ces différentes populations. Plusieurs études rapportent que les lymphocytes CD4 positifs, ou T helper, prédomineraient dans les AAA (73). Les lymphocytes B seraient préférentiellement des cellules mémoires formant, avec les lymphocytes T, des structures folliculaires appelées organes lymphoïdes tertiaires adventitiels (ATLO) (74). La présence d'ATLOs a été démontrée dans différentes pathologies vasculaires, dont l'athérosclérose et les AAA (200). Elle est également corrélée avec des infections bactériennes chroniques ou des maladies auto-immunes (201, 202). Dans notre étude, des ATLOs sont présents au niveau de l'adventice des anévrysmes principalement dans les sites A₊pos. D'après la théorie dite de « *outside-in* », l'infiltration des leucocytes au sein de l'adventice dépendrait de la formation de nombreux néo-vaisseaux (70). Aucune vascularisation particulière n'a toutefois été observée dans les sites positifs (marquage du CD31 ; données non montrées). De plus, aucune modification de l'expression de marqueurs d'angiogenèse, CD31 et VEGFA, n'a été notée dans les sites de fixation du FDG.

3. Profil des médiateurs inflammatoires exprimés au site de fixation du FDG

De nombreuses études antérieures ont suggéré que plusieurs facteurs pro-inflammatoires étaient impliqués dans le développement des AAA (Tableau 2, page 31). Dans notre étude, aucune des cytokines testées parmi les plus courantes n'était toutefois significativement surexprimée au site de fixation du FDG par rapport au site négatif. Les seules surexpressions observées concernaient l'IL6 et l'IL8 au niveau de la paroi anévrysmale des patients A+ par rapport aux patients A0 mais avec de grandes variabilités interindividuelles. Selon nos analyses transcriptomiques globales (KEGG), la voie « *cytokines-récepteurs des cytokines* » est enrichie dans l'adventice du site positif, ce qui laisse présager la présence d'autres cytokines au sein de ce site spécifique. Une analyse plus ciblée des données du microarray a confirmé que plusieurs interleukines et chimiokines étaient effectivement modulées différemment au site de captation de FDG par rapport au site négatif du même patient. La CCL11 (éotaxine) et le LIF sont par exemple surexprimés au site de captation de FDG, tant dans l'adventice que dans la media. La CCL11 est produite par les SMC durant la progression de l'athérosclérose où elle induit la production et l'activation de la MMP2 (203). Le LIF est produit par de nombreux types cellulaires dont les fibroblastes, les lymphocytes T activés, les macrophages, les cellules endothéliales, les chondrocytes ou encore les cellules tumorales (204). Il a été décrit dans l'ostéoarthrite où il induit également l'expression de différentes MMPs (205) alors qu'il jouerait un rôle opposé dans les fibroblastes cardiaques (206). Ces deux cytokines pourraient participer au remodelage de la matrice extracellulaire qui a lieu au niveau du site de captation de FDG, notamment en régulant la production de MMPs. Au sein de l'adventice, là où se situent la majorité des cellules inflammatoires, l'expression d'autres chimiokines est également accrue, dont les CXCL16, CXCL10 et CXCL13 qui pourraient être impliquées dans le recrutement d'autres leucocytes et entretenir la réaction inflammatoire.

Enfin, d'autres cytokines sont réduites dans l'adventice au niveau du site de captation de FDG, dont la CXCL7 et le facteur plaquettaire 4 (ou CXCL4). Ces chimiokines sont notamment impliquées dans le recrutement des neutrophiles et sont les principales chimiokines sécrétées par les plaquettes (207). Leur réduction est en accord avec le nombre extrêmement faible de neutrophiles détecté en général dans la paroi anévrysmale et au niveau du site de captation de FDG.

4. Raréfaction des cellules contractiles au site de captation du FDG

Une des caractéristiques des AAA est une perte des SMC de la media. Ce déficit est significativement plus important au niveau du site de captation de FDG et peut être mis en relation avec l'analyse des voies de signalisation KEGG montrant que des gènes impliqués dans la fonction contractile des SMC sont réprimés au niveau du site positif.

Cette réduction du nombre de cellules contractiles peut avoir deux origines. La première hypothèse serait liée à une modification phénotypique des SMC vers un état dit synthétique où les SMC sont capables de migrer et de proliférer mais n'expriment plus les molécules nécessaires à la contraction, telle l' α -SMA. Cette dédifférenciation phénotypique est notamment observée durant les processus d'athérosclérose (30) et de resténose ainsi que durant les stades précoces du développement des AAA (208). En support à cette hypothèse, des cellules allongées positives pour la vimentine et négatives pour l' α -SMA ont été observées dans la media au niveau du site positif et pourraient correspondre à ces cellules synthétiques (données non montrées). La deuxième hypothèse serait liée à une mortalité plus élevée des SMC au niveau du site positif. Cette mort cellulaire pourrait s'apparenter à l'anoïkis car elle résulterait de la perte des interactions des SMC avec les protéines et glycoprotéines matricielles de leur microenvironnement en raison du remodelage intense qui s'y déroule (115). La présence d'une population dense de lymphocytes au sein de la paroi peut de surcroît favoriser cette apoptose par la production de facteurs pro-apoptotiques comme décrit par Henderson *et al.* (75).

5. Remodelage de la matrice extracellulaire au site de fixation du FDG

En accord avec l'hypothèse d'une apoptose élevée des SMC induite par la dégradation de la matrice extracellulaire, plusieurs gènes impliqués dans le remodelage matriciel sont effectivement modulés spécifiquement dans le site de captation du FDG. Une augmentation significative de l'abondance et de l'activation des MMP2 et MMP9 y avait été initialement observée par zymographie. D'autres MMPs, principalement les collagénases MMP1 et MMP13, y sont également fortement surexprimées. Dans l'adventice, des stimulations de l'ordre d'un facteur 10 ont été mesurées pour la MMP1. Concernant la MMP13, elle est totalement absente au niveau des échantillons A0, très légèrement exprimée au niveau des sites négatifs des patients A+ et fortement induite dans les sites positifs de ces mêmes patients. La MMP13 est une collagénase largement impliquée dans le développement ostéochondral. En plus de son activité de clivage des collagènes fibrillaires, elle peut dégrader de nombreux autres composants de la matrice extracellulaire (209). Son expression est strictement régulée et souvent limitée à des situations de remodelage matriciel rapide observé notamment dans les tumeurs ou dans les maladies inflammatoires chroniques comme l'ostéoarthritis (209, 210). Son expression dans la paroi des AAA a été corrélée à la présence de lymphocytes B et T (211). Les MMP1 et 13 pourraient coopérer pour dégrader et fragiliser le support matriciel de l'adventice qui constitue, aux stades tardifs du développement de l'anévrisme, le dernier rempart à sa rupture.

D'autres MMPs sont également surexprimées au site de captation du FDG, aussi bien dans la media que dans l'adventice. C'est notamment le cas de la matrilysine (MMP7), de l'élastase (MMP12) et de la MMP14 (ou MT1-MMP). La MMP12 est une élastase produite par les macrophages. Son implication dans les anévrysmes a été décrite précédemment dans un modèle murin de développement d'AAA (110) et, de concert avec les MMP2 et MMP9, elle pourrait contribuer à la dégradation de l'élastine de la paroi. La MMP14 présente dans la paroi anévrysmale est préférentiellement localisée au niveau de la membrane des SMC et des macrophages (108). Cette MMP transmembranaire intervient principalement dans l'activation de la MMP2 en collaboration avec le TIMP2. Outre ce rôle activateur, la MMP14 est capable de dégrader directement différents composants de la matrice extracellulaire tels les collagènes, la fibronectine ou encore la laminine-1. Son expression accrue dans les sites positifs est en accord avec la suractivation de la MMP2 observée par zymographie. D'autres MMPs sont également modulées mais de manière plus

spécifique dans la media ou l'adventice. C'est le cas par exemple de la MMP8, une autre collagénase produite par les neutrophiles et les SMC, qui est surexprimée au niveau du site positif uniquement dans la media. En plus des MMPs, les inhibiteurs TIMPs et RECK, et différents activateurs (uPA et tPA) sont également surexprimés au sein du site positif. Etant donné que la MMP13 est presque exclusivement exprimée au niveau du site de captation de FDG, nous avons tenté d'en mesurer le taux circulant dans les deux groupes de patients A0 et A+ ainsi que chez des sujets contrôles non porteurs d'AAA. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les différents groupes, sans doute en raison des faibles concentrations de MMP13 détectées.

Des études antérieures, dont deux issues de notre groupe, avaient montré que la quantité de collagène de type I, un des composants principaux des fibres de collagène de l'adventice, n'est pas modifiée, voire légèrement accrue dans l'aorte anévrysmale (86), ce qui est en accord avec une surexpression de son gène COL1A1 (87). Ces données sont interprétées comme une tentative de réparation du tissu pathologique par les cellules résidentes. Ce processus semble encore plus actif au sein du site de captation de FDG puisque le taux de l'ARN messager de COL1A1 y est quintuplé et que les deux autres collagènes fibrillaires principaux (III et V) y sont également surexprimés. L'accélération de l'expansion des anévrysmes observée chez certains patients A+ suggère toutefois que ce processus est inefficace et ne compense pas l'activité dégradative.

Outre ces collagènes classiquement présents dans la paroi vasculaire, une surexpression inattendue de COL10A1 et de COL11A1 a été détectée dans le site positif, alors que ces deux collagènes sont normalement préférentiellement localisés dans le cartilage et le corps vitreux. COL10A1 est exprimé par les chondrocytes hypertrophiques durant l'ossification endochondrale (212) mais également dans certaines tumeurs solides (213). En plus de son expression cartilagineuse, COL11A1 est également observé dans des tumeurs, et notamment dans les myofibroblastes péricancéreux (214). Dans le domaine des anévrysmes, COL11A1 a été décrit dans les TAA (215). De manière surprenante, plusieurs gènes impliqués dans le développement de l'os et du cartilage sont également surexprimés dans l'adventice des sites positifs. Ces données suggèrent qu'une matrice inappropriée pourrait être déposée par des cellules présentes au sein de l'adventice. Des cellules progénitrices résidentes, capable de se différencier en chondrocytes et/ou ostéoblastes, pourraient être responsables de cette synthèse inadéquate. Dans ce contexte, il est intéressant de noter que le

gène codant pour le facteur de transcription Runx2, connu pour être exprimé au cours de la différenciation de cellules souches en ostéoblastes (216), est environ deux fois plus exprimé au niveau du site adventiciel de fixation du FDG. Ces données ouvrent de nouvelles perspectives d'investigations visant à identifier d'autres protéines exprimées de façon ectopique au sein de l'adventice, à déterminer la nature des cellules responsables de leur synthèse et à caractériser les facteurs favorisant cette différenciation ostéoblastique. L'abondance particulière d'adipocytes que nous avons remarquée au niveau des sites de fixation du FDG sera une piste privilégiée (voir la figure 4, page 14).

6. La paroi anévrysmale métaboliquement inactive des patients A+ diffère de celle des patients A0

Les études transcriptomiques comparatives ont mis en évidence des différences entre les échantillons métaboliquement actifs (A_{+pos}) et inactifs (A_{+neg}), ce qui était attendu. De manière plus intéressante, des profils différents d'expression génique ont également été notés entre d'une part les échantillons provenant d'anévrysmes sans aucune captation de FDG (A0) et, d'autre part, les prélèvements réalisés dans la partie métaboliquement inactive des A+ (A_{+neg}). Cette différence se marque notamment par le nombre élevé de voies de signalisation identifiées par le programme DAVID en comparant les adventices des sites négatifs aux A0. Une réduction de l'expression de plusieurs gènes impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire (collagène de type I, différentes MMPs et deux de leurs inhibiteurs) a été observée au niveau de la media des échantillons A_{+neg} par rapport aux A0. Par ailleurs, un certain nombre de gènes modulés dans cette paroi métaboliquement inactive A_{+neg} sont régulés de façon similaire dans les sites positifs correspondants (A_{+pos}). Ces observations suggèrent fortement que l'entièreté de la paroi anévrysmale des patients A+ est altérée, même si aucune activation métabolique n'est détectée.

Parmi ces gènes modulés de manière similaire dans les sites négatifs et positifs par rapport aux A0, nous avons retenu en premier lieu la chimiokine CCL18. Celle-ci a été décrite comme facteur chimio-attractant pour les lymphocytes T et B et participe à la formation des ATLOs (217). Elle est également considérée comme un médiateur fibro-

inflammatoire capable de stimuler la production de collagène par les fibroblastes pulmonaires (218). En raison de l'accroissement considérable de son expression dans l'adventice et la media des A+, CCL18 pouvait être un candidat potentiel comme biomarqueur de l'instabilité de la paroi anévrysmale. Un dosage sanguin par ELISA de cette chimiokine chez six patients A+ et six patients A0 n'a cependant pas permis de mettre en évidence de différence statistiquement valable (données non montrées). Ceci s'explique sans doute par le fait qu'une surexpression dans un volume de tissu réduit n'engendre pas nécessairement de modifications mesurables à l'échelle de la totalité du volume sanguin.

Une réduction du taux circulant d'IGF1 a été associée avec des pathologies cardiovasculaires telles que l'athérosclérose (219). A l'inverse, des études récentes ont montré une augmentation d'IGF1 circulant positivement corrélée avec le taux de croissance et le diamètre de l'AAA (144, 220). Dans notre étude, les comparaisons réalisées par rapport aux échantillons A0 montraient une surexpression d'IGF1 et de ses protéines de liaison IGFBP2, 4 et 5 dans l'adventice des patients A+, que ce soit au niveau de sites actifs (A^{+}_{pos}) ou non (A^{+}_{neg}). IGF1 et ses protéines de liaison pourraient donc constituer des biomarqueurs pertinents, une hypothèse qu'il conviendrait de valider au cours d'études complémentaires. Par ailleurs, une surexpression de l'IGF2 et de l'IGFBP1 spécifiquement au site de captation de FDG dans la media suggère que la famille de l'IGF dans son ensemble pourrait jouer un rôle dans la progression des AAA vers l'instabilité.

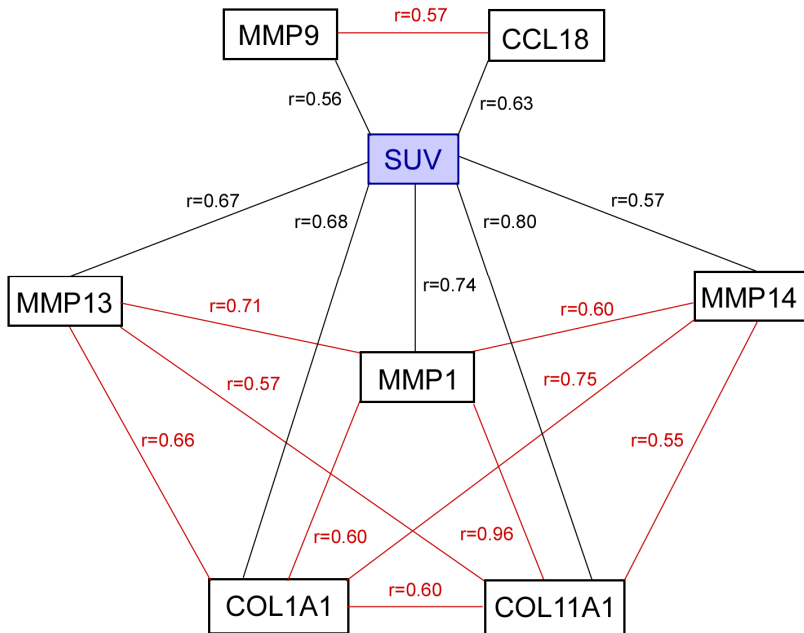
Les $TGF\beta$ et le $TNF\alpha$ sont deux facteurs habituellement associés aux maladies cardiovasculaires, dont les anévrysmes. Dans notre étude, ils sont, de manière surprenante, sous-exprimés dans la paroi des patients A+ par rapport aux A0. Une signalisation excessive du $TGF\beta$ a été clairement établie dans les anévrysmes de l'aorte thoracique. A l'inverse, diverses études ont démontré son rôle protecteur dans les AAA expérimentaux chez l'animal (221, 222). Le $TGF\beta$ possède des activités pro- ou anti-inflammatoires en fonction du contexte. Il semble en outre capable de promouvoir la survie des SMC et de favoriser le maintien de la matrice extracellulaire dans les parois anévrysmales (223). La réduction de son expression dans la paroi A+ ferait donc partie d'un processus général menant à sa déstabilisation.

Le TNF α a été décrit précédemment comme une des principales cytokines pro-inflammatoires impliquées dans les AAA (142). Néanmoins, elle a été principalement étudiée au niveau circulant et toutes les études ne sont pas concordantes. Treska *et al.* ont récemment rapporté une diminution du TNF α circulant chez des patients porteurs d'un AAA rompu par rapport à des AAA ne présentant pas de signe de rupture, en ligne avec nos résultats expérimentaux (224).

L'ensemble de nos données suggère fortement que la paroi dite inactive de l'anévrisme A+ présente des altérations cellulaires et moléculaires la différenciant de la paroi des patients A0. Des facteurs systémiques et/ou environnementaux pourraient donc avoir un impact sur la progression de l'anévrisme vers une plus grande instabilité. En accord avec cette hypothèse, la majorité des patients A+ ont un niveau de CRP circulante pré-opératoire plus élevé que celui observé chez les patients A0. Chez des patients atteints d'un AAA asymptomatique, la CRP moyenne est de 4 mg/L, une valeur que nous trouvons également dans le groupe A0, alors qu'elle se situe au environ de 0.8 mg/L chez des sujets sains (143). Une autre étude a rapporté une augmentation significative de la CRP chez des patients symptomatiques avec des taux proches (11 mg/L) de ceux mesurés chez nos patients A+ (environ 13 mg/L) (129). La CRP est une protéine synthétisée et sécrétée par le foie en réponse à des cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IL6. Elle forme des complexes avec les molécules présentes sur les bactéries et les parasites mais également avec des débris cellulaires, ce qui induit une phagocytose et une nouvelle production de cytokines. En plus de son origine hépatique, il semblerait que la CRP puisse être produite par le tissu anévrysmal lui-même ainsi que le démontre la présence de son ARN messenger dans environ 25% d'AAA (143). Toutefois, aucune expression de CRP n'a été détectée dans notre étude transcriptomique. Savoir si l'augmentation de la CRP observée chez les patients A+ dans notre étude provient d'un processus inflammatoire concomitant mais indépendant ou associé à l'anévrisme, reste à déterminer.

Une infection bactérienne pourrait être une des causes des taux élevés de CRP chez nos patients A+. Des bactéries parodontales, par exemple, ont été détectées dans les tissus anévrysmaux chez un certain nombre de patients (225, 226). Dans un modèle expérimental d'induction d'AAA par le CaCl₂, les souris infectées par *P. Gingivalis*, une des bactéries orales les plus communes, ont développé un anévrisme plus important que les souris non infectées, avec de surcroît un taux de rupture accru. Deux autres observations pertinentes

A. Adventice



B. Media

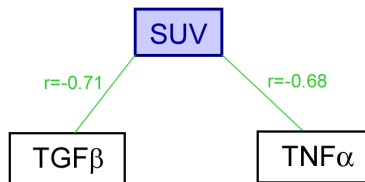


Figure 34. Corrélations entre le SUV et l'expression de gènes dans la paroi anévrysmale. Toutes les corrélations significatives établies sont positives dans l'adventice (A) et négatives dans la media (B). En noir, les corrélations positives entre le SUV et l'expression de gènes ; en vert, les corrélations négatives entre le SUV et l'expression de gènes ; en rouge, les corrélations positives des gènes entre eux. Selon le Spearman's rank test pour des valeurs non-paramétriques.

pour notre étude étaient l'augmentation du nombre de cellules inflammatoires et du taux de MMP2 au sein des parois aortiques infectées (227). Plus récemment, l'équipe de JB. Michel a mis en évidence la présence de *P. Gingivalis* dans la paroi d'AAA humains et a établi une corrélation significative entre le niveau circulant de cette bactérie et le volume du thrombus de l'AAA. D'autres études suggèrent également que ces agents bactériens pourraient favoriser le recrutement des neutrophiles au sein du thrombus (226). Le rôle pathogénique de nombreuses bactéries a été souvent invoqué dans le développement des AAA. Dans ce contexte, une association potentielle entre la présence de bactéries, parodontales ou autres, et la captation de FDG serait pertinente à approfondir.

7. Corrélations entre le SUV et l'expression de gènes pertinents modulés au cours de la progression des AAA.

Une corrélation significative entre le SUV et la densité de l'infiltrat inflammatoire dans l'adventice est rapportée dans la publication n° 2 et illustrée dans la figure 33 de cette discussion. Cette analyse a été étendue en corrélant, pour chacun des échantillons, les valeurs de SUV avec le niveau d'expression d'un certain nombre de gènes pertinents. Dans l'adventice, des corrélations positives hautement significatives ont pu être établies pour certains d'entre eux (figure 34). Il existe par ailleurs des corrélations significatives entre certains gènes eux-mêmes. Les expressions de MMP1, MMP13 et MMP14 sont significativement corrélées à celles des collagènes de type I et XI, alors que l'expression du CCL18 semble en relation avec celle de la MMP9. Les connexions existant entre ces différents programmes de régulation devront être investiguées plus en détails.

Dans la media, une corrélation négative a été mise en évidence entre le SUV et l'expression du TGF β et de TNF α . Ces associations négatives renforcent l'hypothèse que ces deux cytokines pourraient jouer un rôle protecteur dans la stabilisation de la paroi anévrysmale.

Une fois encore, ces différentes analyses corrélatives soulignent le lien entre la captation de FDG et une fragilisation de la paroi suggérée par l'expression de gènes impliqués principalement dans le remodelage de la matrice extracellulaire.

8. Potentiel du PET/CT dans le domaine des maladies vasculaires

Comme nous l'avons commenté dans l'introduction de ce mémoire, le PET/CT jouit d'un intérêt grandissant dans le domaine cardiovasculaire. Outre la détection de plaques instables d'athérosclérose, il permet également un meilleur suivi médical des dissections aortiques aiguës. En effet, comme dans les anévrismes, la détection de FDG y est significativement associée avec un risque accru de progression et de rupture (186).

Nous avons été récemment confrontés à deux cas de dissections artérielles, dont un a pu bénéficier d'un examen par PET/CT. Dans ce premier cas, une patiente atteinte d'une maladie de Horton, ou artérite à cellules géantes (GCA), a développé un anévrisme thoracique accompagné d'une dissection. Une inflammation aortique est souvent présente chez les patients GCA et peut conduire à une dégénérescence de la paroi du vaisseau (228). Dans notre étude, une accumulation de cellules inflammatoires est effectivement observée dans la paroi aortique et plusieurs sites d'accumulation de FDG ont été détectés par PET/CT. Ils se situent et correspondent à la naissance de la dissection ainsi qu'au niveau des origines de l'artère carotide et du tronc brachiocéphalique. La mise en évidence d'une activité hémophagocytaire à ces localisations souligne la relation entre la captation de FDG et la présence de macrophages dans la paroi vasculaire. La maladie de Horton peut conduire à des complications souvent fatales et nos observations démontrent l'importance d'une détection précoce afin de mieux traiter cette pathologie.

Dans le deuxième cas de dissection étudié, une dégradation importante des fibres élastiques a été observée au sein d'une artère iliaque disséquante chez un patient atteint de polykystose rénale autosomale dominante. En raison du caractère urgent de la lésion, aucun PET/CT n'a pu être réalisé. Cette maladie est liée à des mutations des gènes PKD1 ou 2 codant pour les polycystines 1 et 2 (229). Ces protéines sont notamment exprimées par les SMC de la paroi des vaisseaux et sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie calcique et dans les interactions des SMC avec leur matrice environnante (197, 230). La densité de SMC observée par marquage à l' α -SMA dans la media apparaît normale suggérant que la dégradation de leur support matriciel n'induit pas une apoptose des SMC. Un accroissement du TGF β 1 a été récemment mis en évidence au niveau rénal chez des patients atteints d'ADPKD où il coïncide avec une hyperexpression de ses gènes cibles potentiels, dont la MMP2 (231, 232). Dans notre étude, nous avons également détecté du TGF β 1 au sein de la paroi disséquée (données non montrées). De plus, un marquage pour le phospho-smad 2, un

effecteur principal du TGF β , a été visualisé dans le noyau de cellules inflammatoires présentes au sein du thrombus de l'artère iliaque disséquée (données non montrées). Cette activation de la voie du TGF β pourrait donc participer à la dégradation de la paroi artérielle.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au cours des travaux exposés dans ce mémoire, nous avons objectivé l'imagerie fonctionnelle générée par le PET/CT par une série d'observations histologiques et de données biochimiques. Celles-ci conduisent à la conclusion que la paroi anévrysmale captant du FDG est caractérisée par des altérations cellulaires et moléculaires potentiellement impliquées dans la progression de l'anévrysme vers un état instable, précurseur de sa rupture.

La présence d'une densité considérable de cellules inflammatoires activées dans l'adventice explique logiquement la fixation de FDG à ce niveau. Les raisons de leur prolifération et de leur abondance spécifiquement dans cette zone restent à déterminer. Des études par éléments finis sont en cours de révision sur base des images de PET/CT obtenues dans notre série de patients (collaboration avec l'équipe de C. Gasser, *Department of Solid Mechanics, School of Engineering Sciences, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden*). Elles visent à définir les zones de haute tension pariétale et à évaluer leur coïncidence éventuelle avec les sites de fixation du FDG, ainsi que semblait le suggérer une étude préliminaire de notre groupe.

Outre cet infiltrat inflammatoire abondant, plusieurs autres altérations sont en faveur de l'hypothèse d'une fragilisation locale de la paroi. La perte importante des SMC au niveau de la media par rapport à une zone du même anévrysme ne captant pas le FDG et la réduction significative de l'expression du TGF β 1, un facteur de survie et de différenciation des SMC, sont deux éléments suggérant que les capacités de résistance de la paroi aortique au stress hémodynamique sont affaiblies. Par ailleurs, l'accroissement très significatif de l'expression et de l'activation d'enzymes impliquées dans la dégradation des protéines matricielles, surtout au niveau de l'adventice, supportent la survenue d'un processus de dégradation localisé qui pourrait être à l'origine de la rupture. Il faut cependant souligner que ces observations ont été réalisées en grande partie au niveau des transcrits des gènes et ne sont donc pas complètement garantes, bien que probables, de leur réalité au niveau protéique. La mise en évidence de la présence dans l'adventice de certaines enzymes-clé, dont la MMP1 et la MMP13, qui y sont largement surexprimées, devra être réalisée dans des études futures.

Comme dans toute lésion tissulaire, il est vraisemblable qu'un processus de réparation tente de se mettre en place comme le suggère le niveau élevé d'expression des collagènes fibrillaires au niveau de l'adventice. Les résultats d'analyse transcriptomique suggèrent par ailleurs qu'un processus particulier de remaniement matriciel met en jeu un groupe de gènes impliqués dans le développement et la différenciation ostéochondrale. Des analyses immunohistochimiques que nous envisageons dans des études futures viseront à visualiser le dépôt d'une matrice cartilagineuse à priori mécaniquement inappropriée dans une paroi aortique. La nature des cellules responsables de ce remodelage reste inconnue. Une hypothèse attractive, et par ailleurs supportée par le concept d'« activation adventitielle » décrit dans l'introduction, reposerait sur l'implication de cellules souches dans ce remaniement cicatriciel.

Notre approche expérimentale comparant les sites de captation de FDG à des zones métaboliquement inactives du même anévrisme nous a permis de décrire l'existence de processus potentiellement impliqués dans une fragilisation locale de la paroi. La comparaison de ces deux types d'échantillons à ceux prélevés dans la paroi des patients A0 montre, de surcroît, que l'entièreté de la paroi des patients A+ est caractérisée par la surexpression de plusieurs gènes, dont l'IL6, le LIF, l'IGF1, le CCL18 et le CXCL13. Cette observation originale suggère que, chez ces patients, des événements environnementaux et/ou des facteurs systémiques activeraient des voies de signalisation qui, à leur tour conduiraient à une instabilité de la paroi anévrysmale. Plusieurs perspectives d'investigations découlent de cette observation. Une de nos priorités sera de tenter d'identifier l(es) événement(s) déclencheur(s) de cette instabilité. Nous collaborons à l'heure actuelle avec le Département de Médecine dentaire à un programme de détection dans les tissus anévrysmaux de bactéries parodontales dont on sait qu'elles sont impliquées dans d'autres pathologies cardiovasculaires. Des études épidémiologiques sont en outre envisagées sur des groupes plus étendus de patients afin de déterminer des associations potentielles avec différents facteurs comme la prise de médicaments ou l'existence de pathologies concomitantes. Par ailleurs, l'atteinte généralisée de la paroi des patients A+ pourrait s'exprimer par des accroissements du taux circulant d'une série de facteurs. La banque d'échantillons biologiques que nous avons créée sera des plus utile pour la recherche et la validation de tels biomarqueurs. Les essais préliminaires de la mesure du taux circulant de CCL18 et de MMP13 ne se sont pas avérés positifs. Une approche plus globale à l'aide de techniques multiplex sera envisagée dans un futur proche.

LISTE DES PUBLICATIONS PERSONNELLES

1. Charles M. Lapière, Audrey Courtois and Betty V. Nusgens, Extracellular matrix proteins in normal and aneurysmal aorta. In **“Aortic aneurysms : new insights into an old problem”** Editors : N. Sakalihasan, H. Kuivaniemi and JB. Michel; Publisher : Editions de l’Université de Liège, 2008, pp67-83.
2. Audrey Courtois, Betty V. Nusgens, Roland Hustinx, Gauthier Namur, Pierre Gomez, Joan Somja, Jean-Olivier Defraigne, Philippe Delvenne, Jean-Baptiste Michel, Alain C. Colige and Natzi Sakalihasan, 18-FDG uptake assessed by PET/CT in abdominal aortic aneurysms is associated with cellular and molecular alterations prefacing wall deterioration and rupture, **Journal of Nuclear Medicine**, 2013, *in press*
3. Audrey Courtois, Betty V. Nusgens, P. Delvenne, M. Meurisse, Jean-Olivier Defraigne, Alain C. Colige and Natzi Sakalihasan, Dissection of iliac artery in a patient with autosomal dominant polycystic kidney disease : a case report, **Aorta**, 2013, *in press*
4. Samuel Bruls, Audrey Courtois, Gauthier Namur, Jean-Pierre Smeets, Betty V. Nusgens, Jean-Baptiste Michel, Jean-Olivier Defraigne, Natzi Sakalihasan, Increased metabolic activity highlighted by PET-CT in the wall of the dissected ascending aorta in a patient with Horton disease, **Circulation : Cardiovascular Imaging**, 2013, *in press*
5. Audrey Courtois, Betty V. Nusgens, Roland Hustinx, Gauthier Namur, Pierre Gomez, Helena Kuivaniemi, Jean-Olivier Defraigne, Alain C. Colige and Natzi Sakalihasan, Global analysis of gene expression in abdominal aortic aneurysms with a positive 18-FDG uptake as observed by PET/CT, *Manuscrit en préparation*

BIBLIOGRAPHIE

1. Dingemans KP, Teeling P, Lagendijk JH, Becker AE. Extracellular matrix of the human aortic media: an ultrastructural histochemical and immunohistochemical study of the adult aortic media. *Anat Rec.* 2000;258:1-14.
2. Majesky MW. Developmental basis of vascular smooth muscle diversity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:1248-1258.
3. Wagenseil JE, Mecham RP. Vascular extracellular matrix and arterial mechanics. *Physiol Rev.* 2009;89:957-989.
4. Gunst SJ, Zhang W. Actin cytoskeletal dynamics in smooth muscle: a new paradigm for the regulation of smooth muscle contraction. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;295:C576-587.
5. Owens GK, Kumar MS, Wamhoff BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. *Physiol Rev.* 2004;84:767-801.
6. Stenmark KR, Yeager ME, El Kasmi KC, et al. The Adventitia: Essential Regulator of Vascular Wall Structure and Function. *Annu Rev Physiol.* 2012.
7. Postlethwaite AE, Shigemitsu H, Kanangat S. Cellular origins of fibroblasts: possible implications for organ fibrosis in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;16:733-738.
8. Sartore S, Chiavegato A, Faggin E, et al. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. *Circ Res.* 2001;89:1111-1121.
9. Zengin E, Chalajour F, Gehling UM, et al. Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. *Development.* 2006;133:1543-1551.
10. Majesky MW, Dong XR, Høglund V, Daum G, Mahoney WM, Jr. The Adventitia: A Progenitor Cell Niche for the Vessel Wall. *Cells Tissues Organs.* 2011.
11. Veit G, Kobbe B, Keene DR, Paulsson M, Koch M, Wagener R. Collagen XXVIII, a novel von Willebrand factor A domain-containing protein with many imperfections in the collagenous domain. *J Biol Chem.* 2006;281:3494-3504.
12. Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. *Trends Genet.* 2004;20:33-43.
13. Maiellaro K, Taylor WR. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2007;75:640-648.
14. Szasz T, Webb RC. Perivascular adipose tissue: more than just structural support. *Clin Sci (Lond).* 2012;122:1-12.

15. Yanagisawa H, Davis EC. Unraveling the mechanism of elastic fiber assembly: The roles of short fibulins. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42:1084-1093.
16. Moore J, Thibeault S. Insights into the role of elastin in vocal fold health and disease. *J Voice.* 2012;26:269-275.
17. Debelle L, Tamburro AM. Elastin: molecular description and function. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999;31:261-272.
18. Urban Z, Riazi S, Seidl TL, et al. Connection between elastin haploinsufficiency and increased cell proliferation in patients with supravalvular aortic stenosis and Williams-Beuren syndrome. *Am J Hum Genet.* 2002;71:30-44.
19. Dietz HC, Cutting GR, Pyeritz RE, et al. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature.* 1991;352:337-339.
20. Robertson I, Jensen S, Handford P. TB domain proteins: evolutionary insights into the multifaceted roles of fibrillins and LTBPs. *Biochem J.* 2011;433:263-276.
21. Kaartinen V, Warburton D. Fibrillin controls TGF-beta activation. *Nat Genet.* 2003;33:331-332.
22. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, et al. Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet.* 2003;33:407-411.
23. Chothia C, Jones EY. The molecular structure of cell adhesion molecules. *Annu Rev Biochem.* 1997;66:823-862.
24. Lee JY, Spicer AP. Hyaluronan: a multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Curr Opin Cell Biol.* 2000;12:581-586.
25. Iozzo RV. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu Rev Biochem.* 1998;67:609-652.
26. Yao LY, Moody C, Schonherr E, Wight TN, Sandell LJ. Identification of the proteoglycan versican in aorta and smooth muscle cells by DNA sequence analysis, in situ hybridization and immunohistochemistry. *Matrix Biol.* 1994;14:213-225.
27. Wight TN, Kinsella MG, Qwarnstrom EE. The role of proteoglycans in cell adhesion, migration and proliferation. *Curr Opin Cell Biol.* 1992;4:793-801.
28. Theocharis AD, Karamanos NK. Decreased biglycan expression and differential decorin localization in human abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis.* 2002;165:221-230.
29. Hallmann R, Horn N, Selg M, Wendler O, Pausch F, Sorokin LM. Expression and function of laminins in the embryonic and mature vasculature. *Physiol Rev.* 2005;85:979-1000.
30. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature.* 2011;473:317-325.

31. Fougerat A. *Role de la phosphoinositide 3-kinase gamma dans la paroi artérielle: une cible thérapeutique dans le traitement de l'athérosclérose et de ses complications?* . Toulouse: INSERM U563, CPTP, Université de Toulouse III; 2010.
32. Costa MA, Simon DI. Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents. *Circulation*. 2005;111:2257-2273.
33. Sakalihasan N., Kuivaniemi H., Nussgens B., Durieux R., Defraigne JO. Aneurysm: Epidemiology, Aetiology and Pathophysiology. In: T. M, ed. *Biomechanics and Mechanobiology of Aneurysms*. Vol 7: Springer; 2011:1-33.
34. Ghorpade A, Baxter BT. Biochemistry and molecular regulation of matrix macromolecules in abdominal aortic aneurysms. *Ann N Y Acad Sci*. 1996;800:138-150.
35. Guo DC, Papke CL, He R, Milewicz DM. Pathogenesis of thoracic and abdominal aortic aneurysms. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1085:339-352.
36. Gittenberger-de Groot AC, DeRuiter MC, Bergwerff M, Poelmann RE. Smooth muscle cell origin and its relation to heterogeneity in development and disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:1589-1594.
37. Golledge J, Eagle KA. Acute aortic dissection. *Lancet*. 2008;372:55-66.
38. Erbel R, Alfonso F, Boileau C, et al. Diagnosis and management of aortic dissection. *Eur Heart J*. 2001;22:1642-1681.
39. Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A, Byers PH. Clinical and genetic features of Ehlers-Danlos syndrome type IV, the vascular type. *N Engl J Med*. 2000;342:673-680.
40. Limet R, Sakalihassan N, Albert A. Determination of the expansion rate and incidence of rupture of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 1991;14:540-548.
41. Limet R, Sakalihasan N, Albert A. Taux de croissance et incidence de rupture des anévrysmes de l'aorte abdominale. In: ER. K, ed. *Les anévrysmes de l'aorte abdominale sous-rénale*. Paris; 1990:79-85.
42. Liddington MI, Heather BP. The relationship between aortic diameter and body habitus. *Eur J Vasc Surg*. 1992;6:89-92.
43. McGregor JC, Pollock JG, Anton HC. The value of ultrasonography in the diagnosis of abdominal aortic aneurysm. *Scott Med J*. 1975;20:133-137.
44. Tang T, Boyle JR, Dixon AK, Varty K. Inflammatory abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005;29:353-362.
45. Brady AR, Thompson SG, Fowkes FG, Greenhalgh RM, Powell JT. Abdominal aortic aneurysm expansion: risk factors and time intervals for surveillance. *Circulation*. 2004;110:16-21.

46. Ashton HA, Gao L, Kim LG, Druce PS, Thompson SG, Scott RA. Fifteen-year follow-up of a randomized clinical trial of ultrasonographic screening for abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg*. 2007;94:696-701.
47. Lindholt JS, Juul S, Fasting H, Henneberg EW. Screening for abdominal aortic aneurysms: single centre randomised controlled trial. *BMJ*. 2005;330:750.
48. Norman PE, Jamrozik K, Lawrence-Brown MM, et al. Population based randomised controlled trial on impact of screening on mortality from abdominal aortic aneurysm. *BMJ*. 2004;329:1259.
49. Vazquez C, Sakalihasan N, D'Harcour JB, Limet R. Routine ultrasound screening for abdominal aortic aneurysm among 65- and 75-year-old men in a city of 200,000 inhabitants. *Ann Vasc Surg*. 1998;12:544-549.
50. Scott RA, Bridgewater SG, Ashton HA. Randomized clinical trial of screening for abdominal aortic aneurysm in women. *Br J Surg*. 2002;89:283-285.
51. Sakalihasan N, Limet R, Defawe OD. Abdominal aortic aneurysm. *Lancet*. 2005;365:1577-1589.
52. Thompson MM. Controlling the expansion of abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg*. 2003;90:897-898.
53. Xu C, Zarins CK, Glagov S. Aneurysmal and occlusive atherosclerosis of the human abdominal aorta. *J Vasc Surg*. 2001;33:91-96.
54. Nordon IM, Hinchliffe RJ, Loftus IM, Thompson MM. Pathophysiology and epidemiology of abdominal aortic aneurysms. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8:92-102.
55. Blanchard JF. Epidemiology of abdominal aortic aneurysms. *Epidemiol Rev*. 1999;21:207-221.
56. Kuivaniemi H., Boddy A., Lillvis JH., Nischan J., Lenk GM., Tromp G. Abdominal aortic aneurysms are deep, deadly and genetic. In: Sakalihasan N. KH, Michel JB., ed. *Aortic aneurysms: new insights into an old problem*: Editions de l'Université de Liège; 2008:299-323.
57. Wilmink TB, Quick CR, Day NE. The association between cigarette smoking and abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 1999;30:1099-1105.
58. Wong DR, Willett WC, Rimm EB. Smoking, hypertension, alcohol consumption, and risk of abdominal aortic aneurysm in men. *Am J Epidemiol*. 2007;165:838-845.
59. MacSweeney ST, Ellis M, Worrell PC, Greenhalgh RM, Powell JT. Smoking and growth rate of small abdominal aortic aneurysms. *Lancet*. 1994;344:651-652.
60. Iribarren C, Darbinian JA, Go AS, Fireman BH, Lee CD, Grey DP. Traditional and novel risk factors for clinically diagnosed abdominal aortic aneurysm: the Kaiser multiphasic health checkup cohort study. *Ann Epidemiol*. 2007;17:669-678.

61. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, et al. Prevalence and associations of abdominal aortic aneurysm detected through screening. Aneurysm Detection and Management (ADAM) Veterans Affairs Cooperative Study Group. *Ann Intern Med.* 1997;126:441-449.
62. Shantikumar S, Ajjan R, Porter KE, Scott DJ. Diabetes and the abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010;39:200-207.
63. Clifton MA. Familial abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg.* 1977;64:765-766.
64. Limet R. [Familial risk of abdominal aortic aneurysm and its consequences for organization of selective detection]. *J Mal Vasc.* 1995;20:285-287.
65. Helgadottir A, Thorleifsson G, Magnusson KP, et al. The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm. *Nat Genet.* 2008;40:217-224.
66. Hinterseher I, Tromp G, Kuivaniemi H. Genes and abdominal aortic aneurysm. *Ann Vasc Surg.* 2011;25:388-412.
67. Sandford RM, Bown MJ, London NJ, Sayers RD. The genetic basis of abdominal aortic aneurysms: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007;33:381-390.
68. Quill DS, Colgan MP, Sumner DS. Ultrasonic screening for the detection of abdominal aortic aneurysms. *Surg Clin North Am.* 1989;69:713-720.
69. Boddy AM, Lenk GM, Lillvis JH, Nischan J, Kyo Y, Kuivaniemi H. Basic research studies to understand aneurysm disease. *Drug News Perspect.* 2008;21:142-148.
70. Choke E, Thompson MM, Dawson J, et al. Abdominal aortic aneurysm rupture is associated with increased medial neovascularization and overexpression of proangiogenic cytokines. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:2077-2082.
71. Thompson RW, Curci A, Ennis TL, Mao D, Pagano MB and Pham C. The role of the inflammatory cells during the development of aortic aneurysms. In: Sakalihan N. KH, Michel JB., ed. *Aortic aneurysms: new insights into an old problem*: Editions de l'université de Liège; 2008:335-342.
72. Eagleton MJ. Inflammation in abdominal aortic aneurysms: cellular infiltrate and cytokine profiles. *Vascular.* 2012;20:278-283.
73. Galle C, Schandene L, Stordeur P, et al. Predominance of type 1 CD4+ T cells in human abdominal aortic aneurysm. *Clin Exp Immunol.* 2005;142:519-527.
74. Bobryshev YV, Lord RS. Vascular-associated lymphoid tissue (VALT) involvement in aortic aneurysm. *Atherosclerosis.* 2001;154:15-21.
75. Henderson EL, Geng YJ, Sukhova GK, Whittemore AD, Knox J, Libby P. Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T lymphocytes in human abdominal aortic aneurysms. *Circulation.* 1999;99:96-104.

76. Swedenborg J, Mayranpaa MI, Kovanen PT. Mast cells: important players in the orchestrated pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31:734-740.
77. Ocana E, Bohorquez JC, Perez-Requena J, Brieva JA, Rodriguez C. Characterisation of T and B lymphocytes infiltrating abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis.* 2003;170:39-48.
78. Sprague AH, Khalil RA. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol.* 2009;78:539-552.
79. Golledge AL, Walker P, Norman PE, Golledge J. A systematic review of studies examining inflammation associated cytokines in human abdominal aortic aneurysm samples. *Dis Markers.* 2009;26:181-188.
80. Dubick MA, Hunter GC, Casey SM, Keen CL. Aortic ascorbic acid, trace elements, and superoxide dismutase activity in human aneurysmal and occlusive disease. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1987;184:138-143.
81. Dubick MA, Keen CL, DiSilvestro RA, Eskelson CD, Ireton J, Hunter GC. Antioxidant enzyme activity in human abdominal aortic aneurysmal and occlusive disease. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;220:39-45.
82. Zhang J, Schmidt J, Ryschich E, Mueller-Schilling M, Schumacher H, Allenberg JR. Inducible nitric oxide synthase is present in human abdominal aortic aneurysm and promotes oxidative vascular injury. *J Vasc Surg.* 2003;38:360-367.
83. McCormick ML, Gavrila D, Weintraub NL. Role of oxidative stress in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:461-469.
84. Miller FJ, Jr., Sharp WJ, Fang X, Oberley LW, Oberley TD, Weintraub NL. Oxidative stress in human abdominal aortic aneurysms: a potential mediator of aneurysmal remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:560-565.
85. White JV, Haas K, Phillips S, Comerota AJ. Adventitial elastolysis is a primary event in aneurysm formation. *J Vasc Surg.* 1993;17:371-380; discussion 380-371.
86. Sakalihan N, Heyeres A, Nusgens BV, Limet R, Lapiere CM. Modifications of the extracellular matrix of aneurysmal abdominal aortas as a function of their size. *Eur J Vasc Surg.* 1993;7:633-637.
87. Defawe OD, Colige A, Lambert CA, et al. TIMP-2 and PAI-1 mRNA levels are lower in aneurysmal as compared to athero-occlusive abdominal aortas. *Cardiovasc Res.* 2003;60:205-213.
88. Bode MK, Mosorin M, Satta J, Risteli L, Juvonen T, Risteli J. Increased amount of type III pN-collagen in AAA when compared with AOD. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2002;23:413-420.
89. Theocharis AD, Tsolakis I, Hjerpe A, Karamanos NK. Human abdominal aortic aneurysm is characterized by decreased versican concentration and specific downregulation of versican isoform V(0). *Atherosclerosis.* 2001;154:367-376.

90. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:161-174.
91. Emmert-Buck MR, Emonard HP, Corcoran ML, Kruttsch HC, Foidart JM, Stetler-Stevenson WG. Cell surface binding of TIMP-2 and pro-MMP-2/TIMP-2 complex. *FEBS Lett*. 1995;364:28-32.
92. Parks WC, Wilson CL, Lopez-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:617-629.
93. Busti C, Falcinelli E, Momi S, Gresele P. Matrix metalloproteinases and peripheral arterial disease. *Intern Emerg Med*. 2010;5:13-25.
94. Newby AC. Matrix metalloproteinases regulate migration, proliferation, and death of vascular smooth muscle cells by degrading matrix and non-matrix substrates. *Cardiovasc Res*. 2006;69:614-624.
95. Sakalihasan N, Delvenne P, Nusgens BV, Limet R, Lapiere CM. Activated forms of MMP2 and MMP9 in abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 1996;24:127-133.
96. McMillan WD, Tamarina NA, Cipollone M, Johnson DA, Parker MA, Pearce WH. Size matters: the relationship between MMP-9 expression and aortic diameter. *Circulation*. 1997;96:2228-2232.
97. Saito S, Zempo N, Yamashita A, Takenaka H, Fujioka K, Esato K. Matrix metalloproteinase expressions in arteriosclerotic aneurysmal disease. *Vasc Endovascular Surg*. 2002;36:1-7.
98. Pyo R, Lee JK, Shipley JM, et al. Targeted gene disruption of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) suppresses development of experimental abdominal aortic aneurysms. *J Clin Invest*. 2000;105:1641-1649.
99. Freestone T, Turner RJ, Coady A, Higman DJ, Greenhalgh RM, Powell JT. Inflammation and matrix metalloproteinases in the enlarging abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1145-1151.
100. McMillan WD, Patterson BK, Keen RR, Pearce WH. In situ localization and quantification of seventy-two-kilodalton type IV collagenase in aneurysmal, occlusive, and normal aorta. *J Vasc Surg*. 1995;22:295-305.
101. Petersen E, Gineitis A, Wagberg F, Angquist KA. Activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 in abdominal aortic aneurysms. Relation to size and rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2000;20:457-461.
102. Wilson WR, Anderton M, Schwalbe EC, et al. Matrix metalloproteinase-8 and -9 are increased at the site of abdominal aortic aneurysm rupture. *Circulation*. 2006;113:438-445.
103. Lindholt JS, Vammen S, Fasting H, Henneberg EW, Heickendorff L. The plasma level of matrix metalloproteinase 9 may predict the natural history of small abdominal aortic aneurysms. A preliminary study. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2000;20:281-285.

- 104.** Irizarry E, Newman KM, Gandhi RH, et al. Demonstration of interstitial collagenase in abdominal aortic aneurysm disease. *J Surg Res.* 1993;54:571-574.
- 105.** Mao D, Lee JK, VanVickle SJ, Thompson RW. Expression of collagenase-3 (MMP-13) in human abdominal aortic aneurysms and vascular smooth muscle cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;261:904-910.
- 106.** Newman KM, Jean-Claude J, Li H, et al. Cellular localization of matrix metalloproteinases in the abdominal aortic aneurysm wall. *J Vasc Surg.* 1994;20:814-820.
- 107.** Sangiorgi G, D'Averio R, Mauriello A, et al. Plasma levels of metalloproteinases-3 and -9 as markers of successful abdominal aortic aneurysm exclusion after endovascular graft treatment. *Circulation.* 2001;104:1288-295.
- 108.** Nollendorfs A, Greiner TC, Nagase H, Baxter BT. The expression and localization of membrane type-1 matrix metalloproteinase in human abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2001;34:316-322.
- 109.** Curci JA, Liao S, Huffman MD, Shapiro SD, Thompson RW. Expression and localization of macrophage elastase (matrix metalloproteinase-12) in abdominal aortic aneurysms. *J Clin Invest.* 1998;102:1900-1910.
- 110.** Longo GM, Buda SJ, Fiotta N, et al. MMP-12 has a role in abdominal aortic aneurysms in mice. *Surgery.* 2005;137:457-462.
- 111.** Tamarina NA, McMillan WD, Shively VP, Pearce WH. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in aneurysms and normal aorta. *Surgery.* 1997;122:264-271; discussion 271-262.
- 112.** Allaire E, Muscatelli-Groux B, Mandet C, et al. Paracrine effect of vascular smooth muscle cells in the prevention of aortic aneurysm formation. *J Vasc Surg.* 2002;36:1018-1026.
- 113.** Swedenborg J. The role of the intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysms In: Sakalihasan N. KH, Michel JB., ed. *Aortic aneurysms: new insights into an old problem*: Editions de l'université de Liège; 2008:343-346.
- 114.** Lopez-Candales A, Holmes DR, Liao S, Scott MJ, Wickline SA, Thompson RW. Decreased vascular smooth muscle cell density in medial degeneration of human abdominal aortic aneurysms. *Am J Pathol.* 1997;150:993-1007.
- 115.** Michel JB. Anoikis in the cardiovascular system: known and unknown extracellular mediators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:2146-2154.
- 116.** Pollman MJ, Yamada T, Horiuchi M, Gibbons GH. Vasoactive substances regulate vascular smooth muscle cell apoptosis. Countervailing influences of nitric oxide and angiotensin II. *Circ Res.* 1996;79:748-756.

117. Bjorkerud B, Bjorkerud S. Contrary effects of lightly and strongly oxidized LDL with potent promotion of growth versus apoptosis on arterial smooth muscle cells, macrophages, and fibroblasts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16:416-424.
118. Kazi M, Thyberg J, Religa P, et al. Influence of intraluminal thrombus on structural and cellular composition of abdominal aortic aneurysm wall. *J Vasc Surg.* 2003;38:1283-1292.
119. Carrell TW, Burnand KG, Booth NA, Humphries J, Smith A. Intraluminal thrombus enhances proteolysis in abdominal aortic aneurysms. *Vascular.* 2006;14:9-16.
120. Michel JB, Martin-Ventura JL, Egido J, et al. Novel aspects of the pathogenesis of aneurysms of the abdominal aorta in humans. *Cardiovasc Res.* 2011;90:18-27.
121. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, et al. Rupture rate of large abdominal aortic aneurysms in patients refusing or unfit for elective repair. *JAMA.* 2002;287:2968-2972.
122. Brown LC, Powell JT. Risk factors for aneurysm rupture in patients kept under ultrasound surveillance. UK Small Aneurysm Trial Participants. *Ann Surg.* 1999;230:289-296; discussion 296-287.
123. Choke E, Cockerill G, Wilson WR, et al. A review of biological factors implicated in abdominal aortic aneurysm rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005;30:227-244.
124. Stringfellow MM, Lawrence PF, Stringfellow RG. The influence of aorta-aneurysm geometry upon stress in the aneurysm wall. *J Surg Res.* 1987;42:425-433.
125. Mower WR, Baraff LJ, Sneyd J. Stress distributions in vascular aneurysms: factors affecting risk of aneurysm rupture. *J Surg Res.* 1993;55:155-161.
126. Fillinger MF, Raghavan ML, Marra SP, Cronenwett JL, Kennedy FE. In vivo analysis of mechanical wall stress and abdominal aortic aneurysm rupture risk. *J Vasc Surg.* 2002;36:589-597.
127. Venkatasubramaniam AK, Fagan MJ, Mehta T, et al. A comparative study of aortic wall stress using finite element analysis for ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004;28:168-176.
128. Defawe OD, Colige A, Lambert CA, et al. Gradient of proteolytic enzymes, their inhibitors and matrix proteins expression in a ruptured abdominal aortic aneurysm. *Eur J Clin Invest.* 2004;34:513-514.
129. Domanovits H, Schillinger M, Mullner M, et al. Acute phase reactants in patients with abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis.* 2002;163:297-302.
130. Choke E, Cockerill GW, Laing K, et al. Whole genome-expression profiling reveals a role for immune and inflammatory response in abdominal aortic aneurysm rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2009;37:305-310.

- 131.** Urbonavicius S., Urbonaviciene G., Lindholt JS. Serological biomarkers of progression and rupture of abdominal aortic aneurysms. In: Sakalihasan N. KH, Michel JB., ed. *Aortic aneurysms: new insights into an old problem*: Editions de l'université de Liège; 2008:379-393.
- 132.** Wilson WR, Wills J, Furness PN, Loftus IM, Thompson MM. Abdominal aortic aneurysm rupture is not associated with an up-regulation of inflammation within the aneurysm wall. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010;40:191-195.
- 133.** Satta J, Laara E, Juvonen T. Intraluminal thrombus predicts rupture of an abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 1996;23:737-739.
- 134.** Simao da Silva E, Rodrigues AJ, Magalhaes Castro de Tolosa E, Rodrigues CJ, Villas Boas do Prado G, Nakamoto JC. Morphology and diameter of infrarenal aortic aneurysms: a prospective autopsy study. *Cardiovasc Surg.* 2000;8:526-532.
- 135.** Lindholt JS, Heickendorff L, Henneberg EW, Fasting H. Serum-elastin-peptides as a predictor of expansion of small abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1997;14:12-16.
- 136.** Golledge J, Tsao PS, Dalman RL, Norman PE. Circulating markers of abdominal aortic aneurysm presence and progression. *Circulation.* 2008;118:2382-2392.
- 137.** Claridge MW, Hobbs SD, Quick CR, Day NE, Bradbury AW, Wilmink AB. ACE inhibitors increase type III collagen synthesis: a potential explanation for reduction in acute vascular events by ACE inhibitors. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004;28:67-70.
- 138.** Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest.* 1999;104:1191-1197.
- 139.** Lindholt JS, Jorgensen B, Fasting H, Henneberg EW. Plasma levels of plasmin-antiplasmin-complexes are predictive for small abdominal aortic aneurysms expanding to operation-recommendable sizes. *J Vasc Surg.* 2001;34:611-615.
- 140.** Lindholt JS, Jorgensen B, Shi GP, Henneberg EW. Relationships between activators and inhibitors of plasminogen, and the progression of small abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003;25:546-551.
- 141.** Treska V, Topolcan O, Pecen L. Cytokines as plasma markers of abdominal aortic aneurysm. *Clin Chem Lab Med.* 2000;38:1161-1164.
- 142.** Juvonen J, Surcel HM, Satta J, et al. Elevated circulating levels of inflammatory cytokines in patients with abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:2843-2847.
- 143.** Vainas T, Lubbers T, Stassen FR, et al. Serum C-reactive protein level is associated with abdominal aortic aneurysm size and may be produced by aneurysmal tissue. *Circulation.* 2003;107:1103-1105.
- 144.** Lindholt JS, Martin-Ventura JL, Urbonavicius S, et al. Insulin-like growth factor I - a novel biomarker of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011;42:560-562.

- 145.** Giusti B, Rossi L, Lapini I, et al. Gene expression profiling of peripheral blood in patients with abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2009;38:104-112.
- 146.** Ramos-Mozo P, Rodriguez C, Pastor-Vargas C, et al. Plasma profiling by a protein array approach identifies IGFBP-1 as a novel biomarker of abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis.* 2012;221:544-550.
- 147.** Parodi JC, Palmaz JC, Barone HD. Transfemoral intraluminal graft implantation for abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg.* 1991;5:491-499.
- 148.** Schermerhorn ML, O'Malley AJ, Jhaveri A, Cotterill P, Pomposelli F, Landon BE. Endovascular vs. open repair of abdominal aortic aneurysms in the Medicare population. *N Engl J Med.* 2008;358:464-474.
- 149.** Anidjar S, Salzman JL, Gentric D, Lagneau P, Camilleri JP, Michel JB. Elastase-induced experimental aneurysms in rats. *Circulation.* 1990;82:973-981.
- 150.** Gertz SD, Kurgan A, Eisenberg D. Aneurysm of the rabbit common carotid artery induced by periarterial application of calcium chloride in vivo. *J Clin Invest.* 1988;81:649-656.
- 151.** Chiou AC, Chiu B, Pearce WH. Murine aortic aneurysm produced by periarterial application of calcium chloride. *J Surg Res.* 2001;99:371-376.
- 152.** Longo GM, Xiong W, Greiner TC, Zhao Y, Fiotti N, Baxter BT. Matrix metalloproteinases 2 and 9 work in concert to produce aortic aneurysms. *J Clin Invest.* 2002;110:625-632.
- 153.** Yoshimura K, Aoki H. Recent advances in pharmacotherapy development for abdominal aortic aneurysm. *Int J Vasc Med.* 2012;2012:648167.
- 154.** Daugherty A, Cassis LA. Mouse models of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:429-434.
- 155.** Daugherty A, Manning MW, Cassis LA. Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysms in apolipoprotein E-deficient mice. *J Clin Invest.* 2000;105:1605-1612.
- 156.** Allaire E, Guettier C, Bruneval P, Plissonnier D, Michel JB. Cell-free arterial grafts: morphologic characteristics of aortic isografts, allografts, and xenografts in rats. *J Vasc Surg.* 1994;19:446-456.
- 157.** Parodi FE, Mao D, Ennis TL, Bartoli MA, Thompson RW. Suppression of experimental abdominal aortic aneurysms in mice by treatment with pyrrolidine dithiocarbamate, an antioxidant inhibitor of nuclear factor-kappaB. *J Vasc Surg.* 2005;41:479-489.
- 158.** Yoshimura K, Aoki H, Ikeda Y, Furutani A, Hamano K, Matsuzaki M. Regression of abdominal aortic aneurysm by inhibition of c-Jun N-terminal kinase in mice. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1085:74-81.

- 159.** Petrinc D, Liao S, Holmes DR, Reilly JM, Parks WC, Thompson RW. Doxycycline inhibition of aneurysmal degeneration in an elastase-induced rat model of abdominal aortic aneurysm: preservation of aortic elastin associated with suppressed production of 92 kD gelatinase. *J Vasc Surg.* 1996;23:336-346.
- 160.** Curci JA, Mao D, Bohner DG, et al. Preoperative treatment with doxycycline reduces aortic wall expression and activation of matrix metalloproteinases in patients with abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2000;31:325-342.
- 161.** Mosorin M, Juvonen J, Biancari F, et al. Use of doxycycline to decrease the growth rate of abdominal aortic aneurysms: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *J Vasc Surg.* 2001;34:606-610.
- 162.** Baxter BT, Pearce WH, Waltke EA, et al. Prolonged administration of doxycycline in patients with small asymptomatic abdominal aortic aneurysms: report of a prospective (Phase II) multicenter study. *J Vasc Surg.* 2002;36:1-12.
- 163.** Lindeman JH, Abdul-Hussien H, van Bockel JH, Wolterbeek R, Kleemann R. Clinical trial of doxycycline for matrix metalloproteinase-9 inhibition in patients with an abdominal aneurysm: doxycycline selectively depletes aortic wall neutrophils and cytotoxic T cells. *Circulation.* 2009;119:2209-2216.
- 164.** Rudd JH, Narula J, Strauss HW, et al. Imaging atherosclerotic plaque inflammation by fluorodeoxyglucose with positron emission tomography: ready for prime time? *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:2527-2535.
- 165.** Schelbert HR. The usefulness of positron emission tomography. *Curr Probl Cardiol.* 1998;23:69-120.
- 166.** Phelps ME. Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:9226-9233.
- 167.** Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action--implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1999;341:248-257.
- 168.** Haberkorn U, Ziegler SI, Oberdorfer F, et al. FDG uptake, tumor proliferation and expression of glycolysis associated genes in animal tumor models. *Nucl Med Biol.* 1994;21:827-834.
- 169.** Golshani-Hebroni SG, Bessman SP. Hexokinase binding to mitochondria: a basis for proliferative energy metabolism. *J Bioenerg Biomembr.* 1997;29:331-338.
- 170.** Buvat I. Les limites du SUV (Mise au point). *Médecine Nucléaire.* 2007;21:165-172.
- 171.** Yun M, Yeh D, Araujo LI, Jang S, Newberg A, Alavi A. F-18 FDG uptake in the large arteries: a new observation. *Clin Nucl Med.* 2001;26:314-319.
- 172.** Cavalcanti Filho JL, de Souza Leao Lima R, de Souza Machado Neto L, Kayat Bittencourt L, Domingues RC, da Fonseca LM. PET/CT and vascular disease: current concepts. *Eur J Radiol.* 2011;80:60-67.

- 173.** Glaudemans AW, Slart RH, Bozzao A, et al. Molecular imaging in atherosclerosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37:2381-2397.
- 174.** Newsholme P, Curi R, Gordon S, Newsholme EA. Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages. *Biochem J*. 1986;239:121-125.
- 175.** Sakalihasan N, Michel JB. Functional imaging of atherosclerosis to advance vascular biology. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;37:728-734.
- 176.** Tawakol A, Migrino RQ, Hoffmann U, et al. Noninvasive in vivo measurement of vascular inflammation with F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Nucl Cardiol*. 2005;12:294-301.
- 177.** Aziz K, Berger K, Claycombe K, Huang R, Patel R, Abela GS. Noninvasive detection and localization of vulnerable plaque and arterial thrombosis with computed tomography angiography/positron emission tomography. *Circulation*. 2008;117:2061-2070.
- 178.** Rudd JH, Warburton EA, Fryer TD, et al. Imaging atherosclerotic plaque inflammation with [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Circulation*. 2002;105:2708-2711.
- 179.** Rominger A, Saam T, Wolpers S, et al. 18F-FDG PET/CT identifies patients at risk for future vascular events in an otherwise asymptomatic cohort with neoplastic disease. *J Nucl Med*. 2009;50:1611-1620.
- 180.** Wu YW, Kao HL, Chen MF, et al. Characterization of plaques using 18F-FDG PET/CT in patients with carotid atherosclerosis and correlation with matrix metalloproteinase-1. *J Nucl Med*. 2007;48:227-233.
- 181.** Tahara N, Kai H, Ishibashi M, et al. Simvastatin attenuates plaque inflammation: evaluation by fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:1825-1831.
- 182.** Dunphy MP, Freiman A, Larson SM, Strauss HW. Association of vascular 18F-FDG uptake with vascular calcification. *J Nucl Med*. 2005;46:1278-1284.
- 183.** Wykrzykowska J, Lehman S, Williams G, et al. Imaging of inflamed and vulnerable plaque in coronary arteries with 18F-FDG PET/CT in patients with suppression of myocardial uptake using a low-carbohydrate, high-fat preparation. *J Nucl Med*. 2009;50:563-568.
- 184.** Bertagna F, Bosio G, Caobelli F, Motta F, Biasiotto G, Giubbini R. Role of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography for therapy evaluation of patients with large-vessel vasculitis. *Jpn J Radiol*. 2010;28:199-204.
- 185.** Reeps C, Pelisek J, Bundschuh RA, et al. Imaging of acute and chronic aortic dissection by 18F-FDG PET/CT. *J Nucl Med*. 2010;51:686-691.
- 186.** Kato K, Nishio A, Kato N, Usami H, Fujimaki T, Murohara T. Uptake of 18F-FDG in acute aortic dissection: a determinant of unfavorable outcome. *J Nucl Med*. 2010;51:674-681.

- 187.** Kuehl H, Eggebrecht H, Boes T, et al. Detection of inflammation in patients with acute aortic syndrome: comparison of FDG-PET/CT imaging and serological markers of inflammation. *Heart*. 2008;94:1472-1477.
- 188.** Sakalihasan N, Van Damme H, Gomez P, et al. Positron emission tomography (PET) evaluation of abdominal aortic aneurysm (AAA). *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2002;23:431-436.
- 189.** Defawe OD, Hustinx R, Defraigne JO, Limet R, Sakalihasan N. Distribution of F-18 fluorodeoxyglucose (F-18 FDG) in abdominal aortic aneurysm: high accumulation in macrophages seen on PET imaging and immunohistology. *Clin Nucl Med*. 2005;30:340-341.
- 190.** Reeps C, Essler M, Pelisek J, Seidl S, Eckstein HH, Krause BJ. Increased 18F-fluorodeoxyglucose uptake in abdominal aortic aneurysms in positron emission/computed tomography is associated with inflammation, aortic wall instability, and acute symptoms. *J Vasc Surg*. 2008;48:417-423.
- 191.** Reeps C, Bundschuh RA, Pellisek J, et al. Quantitative assessment of glucose metabolism in the vessel wall of abdominal aortic aneurysms: correlation with histology and role of partial volume correction. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2013;29:505-512.
- 192.** Truijers M, Kurvers HA, Bredie SJ, Oyen WJ, Blankensteijn JD. In vivo imaging of abdominal aortic aneurysms: increased FDG uptake suggests inflammation in the aneurysm wall. *J Endovasc Ther*. 2008;15:462-467.
- 193.** Sarda-Mantel L, Alsac JM, Boisgard R, et al. Comparison of 18F-fluoro-deoxy-glucose, 18F-fluoro-methyl-choline, and 18F-DPA714 for positron-emission tomography imaging of leukocyte accumulation in the aortic wall of experimental abdominal aneurysms. *J Vasc Surg*. 2012;56:765-773.
- 194.** Tegler G, Sorensen J, Ericson K, Bjorck M, Wanhainen A. 4D-PET/CT with [(11)C]-PK11195 and [(11)C]-d-deprenyl Does not Identify the Chronic Inflammation in Asymptomatic Abdominal Aortic Aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2013;45:351-356.
- 195.** Xu XY, Borghi A, Nchimi A, et al. High levels of 18F-FDG uptake in aortic aneurysm wall are associated with high wall stress. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010;39:295-301.
- 196.** Doyle BJ, Cloonan AJ, Walsh MT, Vorp DA, McGloughlin TM. Identification of rupture locations in patient-specific abdominal aortic aneurysms using experimental and computational techniques. *J Biomech*. 2010;43:1408-1416.
- 197.** Griffin MD, Torres VE, Grande JP, Kumar R. Vascular expression of polycystin. *J Am Soc Nephrol*. 1997;8:616-626.
- 198.** Sakalihasan N, Hustinx R, Limet R. Contribution of PET scanning to the evaluation of abdominal aortic aneurysm. *Semin Vasc Surg*. 2004;17:144-153.
- 199.** Bos R, van Der Hoeven JJ, van Der Wall E, et al. Biologic correlates of (18)fluorodeoxyglucose uptake in human breast cancer measured by positron emission tomography. *J Clin Oncol*. 2002;20:379-387.

- 200.** Michel JB, Thauinat O, Houard X, Meilhac O, Caligiuri G, Nicoletti A. Topological determinants and consequences of adventitial responses to arterial wall injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:1259-1268.
- 201.** van de Pavert SA, Mebius RE. New insights into the development of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol.* 2010;10:664-674.
- 202.** Grabner R, Lotzer K, Dopping S, et al. Lymphotoxin beta receptor signaling promotes tertiary lymphoid organogenesis in the aorta adventitia of aged ApoE^{-/-} mice. *J Exp Med.* 2009;206:233-248.
- 203.** Kodali R, Hajjou M, Berman AB, et al. Chemokines induce matrix metalloproteinase-2 through activation of epidermal growth factor receptor in arterial smooth muscle cells. *Cardiovasc Res.* 2006;69:706-715.
- 204.** Trouillas M, Saucourt C, Guillotin B, et al. The LIF cytokine: towards adulthood. *Eur Cytokine Netw.* 2009;20:51-62.
- 205.** Upadhyay A, Sharma G, Kivivuori S, et al. Role of a LIF antagonist in LIF and OSM induced MMP-1, MMP-3, and TIMP-1 expression by primary articular chondrocytes. *Cytokine.* 2009;46:332-338.
- 206.** Wang F, Trial J, Diwan A, et al. Regulation of cardiac fibroblast cellular function by leukemia inhibitory factor. *J Mol Cell Cardiol.* 2002;34:1309-1316.
- 207.** Gleissner CA, von Hundelshausen P, Ley K. Platelet chemokines in vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1920-1927.
- 208.** Ailawadi G, Moehle CW, Pei H, et al. Smooth muscle phenotypic modulation is an early event in aortic aneurysms. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;138:1392-1399.
- 209.** Leeman MF, Curran S, Murray GI. The structure, regulation, and function of human matrix metalloproteinase-13. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2002;37:149-166.
- 210.** Wang M, Sampson ER, Jin H, et al. MMP13 is a critical target gene during the progression of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2013;15:R5.
- 211.** Reeps C, Pelisek J, Seidl S, et al. Inflammatory infiltrates and neovessels are relevant sources of MMPs in abdominal aortic aneurysm wall. *Pathobiology.* 2009;76:243-252.
- 212.** Gouttenoire J, Valcourt U, Ronziere MC, Aubert-Foucher E, Mallein-Gerin F, Herbage D. Modulation of collagen synthesis in normal and osteoarthritic cartilage. *Biorheology.* 2004;41:535-542.
- 213.** Chapman KB, Prendes MJ, Sternberg H, et al. COL10A1 expression is elevated in diverse solid tumor types and is associated with tumor vasculature. *Future Oncol.* 2012;8:1031-1040.

214. Garcia-Ocana M, Vazquez F, Garcia-Pravia C, et al. Characterization of a novel mouse monoclonal antibody, clone 1E8.33, highly specific for human procollagen 11A1, a tumor-associated stromal component. *Int J Oncol.* 2012;40:1447-1454.
215. Toumpoulis IK, Oxford JT, Cowan DB, et al. Differential expression of collagen type V and XI alpha-1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. *Ann Thorac Surg.* 2009;88:506-513.
216. Komori T. Signaling networks in RUNX2-dependent bone development. *J Cell Biochem.* 2011;112:750-755.
217. Schutyser E, Richmond A, Van Damme J. Involvement of CC chemokine ligand 18 (CCL18) in normal and pathological processes. *J Leukoc Biol.* 2005;78:14-26.
218. Atamas SP, Luzina IG, Choi J, et al. Pulmonary and activation-regulated chemokine stimulates collagen production in lung fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003;29:743-749.
219. Higashi Y, Sukhanov S, Anwar A, Shai SY, Delafontaine P. Aging, atherosclerosis, and IGF-1. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2012;67:626-639.
220. Yeap BB, Chubb SA, McCaul KA, et al. Associations of IGF1 and its binding proteins with abdominal aortic aneurysm and aortic diameter in older men. *Eur J Endocrinol.* 2012;166:191-197.
221. Wang Y, Ait-Oufella H, Herbin O, et al. TGF-beta activity protects against inflammatory aortic aneurysm progression and complications in angiotensin II-infused mice. *J Clin Invest.* 2010;120:422-432.
222. Dai J, Losy F, Guinault AM, et al. Overexpression of transforming growth factor-beta1 stabilizes already-formed aortic aneurysms: a first approach to induction of functional healing by endovascular gene therapy. *Circulation.* 2005;112:1008-1015.
223. Wang Y, Krishna S, Walker PJ, Norman P, Golledge J. Transforming growth factor-beta and abdominal aortic aneurysms. *Cardiovasc Pathol.* 2012.
224. Treska V, Topolcan O, Kocova J, et al. [Plasmatic levels of proinflammatory cytokines in abdominal aortic aneurysms]. *Rozhl Chir.* 2011;90:37-41.
225. Kurihara N, Inoue Y, Iwai T, Umeda M, Huang Y, Ishikawa I. Detection and localization of periodontopathic bacteria in abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004;28:553-558.
226. Delbosc S, Alsac JM, Journe C, et al. *Porphyromonas gingivalis* participates in pathogenesis of human abdominal aortic aneurysm by neutrophil activation. Proof of concept in rats. *PLoS One.* 2011;6:e18679.
227. Aoyama N, Suzuki J, Wang D, et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes murine abdominal aortic aneurysms via matrix metalloproteinase-2 induction. *J Periodontal Res.* 2011;46:176-183.

- 228.** Nuenninghoff DM, Hunder GG, Christianson TJ, McClelland RL, Matteson EL. Mortality of large-artery complication (aortic aneurysm, aortic dissection, and/or large-artery stenosis) in patients with giant cell arteritis: a population-based study over 50 years. *Arthritis Rheum.* 2003;48:3532-3537.
- 229.** Harris PC, Torres VE. Polycystic kidney disease. *Annu Rev Med.* 2009;60:321-337.
- 230.** Bichet D, Peters D, Patel AJ, Delmas P, Honore E. Cardiovascular polycystins: insights from autosomal dominant polycystic kidney disease and transgenic animal models. *Trends Cardiovasc Med.* 2006;16:292-298.
- 231.** Hassane S, Leonhard WN, van der Wal A, et al. Elevated TGFbeta-Smad signalling in experimental Pkd1 models and human patients with polycystic kidney disease. *J Pathol.* 2010;222:21-31.
- 232.** Elberg D, Jayaraman S, Turman MA, Elberg G. Transforming growth factor-beta inhibits cystogenesis in human autosomal dominant polycystic kidney epithelial cells. *Exp Cell Res.* 2012;318:1508-1516.