

# Projet de thèse de doctorat : **Prévention de la sténose de l'œsophage après dissection sous-muqueuse circonférentielle par voie endoscopique: étude mécanistique chez la souris et essai thérapeutique sur modèle porcin**

Dr Maximilien Barret, Pr Frédéric Prat (directeur de recherche), Pr Frédéric Batteux (directeur du laboratoire)

Equipe Associée EA 1833 « Stress oxydant, prolifération cellulaire et inflammation », Faculté Paris Descartes Service d'hépatogastro-entérologie, unité d'endoscopie diagnostique et interventionnelle, Hôpital Cochin

Argumentaire: la prise en charge des cancers superficiels de l'œsophage voit apparaître, face au traitement de référence chirurgical, des possibilités thérapeutiques endoscopiques (dissection sous-muqueuse) mais associées à une morbi-mortalité significativement plus faible. Ces traitements donnent lieu à des sténoses œsophagiennes fibreuses cicatricielles, invalidantes, dont la prise en charge est longue et morbide. La diffusion de ces traitements endoscopiques requiert donc le développement de traitements prévenant la fibrose œsophagienne cicatricielle. **L'aspect mécanistique de la constitution de cette sténose n'a jamais été abordé: ainsi, les traitements essayés dans les essais publiés à ce jour l'ont été sans rationnel scientifique robuste, et n'ont pas permis d'obtenir de résultats acceptables.** L'expertise de l'EA1833 dans la fibrogénèse et le stress oxydant chez la souris, ainsi que les traitements préventifs de la fibrose sur divers modèles murins pro-fibrotiques (souris sclérodermiques) pourrait nous permettre de mieux décrire et prévenir la fibrose œsophagienne. L'hypothèse sur laquelle repose notre projet est que la constitution de la sténose œsophagienne post- endoscopique, ferait intervenir des mécanismes de stress oxydatif communs avec d'autres processus fibrotiques, notamment la sclérodermie systémique.

L'objectif de notre travail est d'identifier les voies métaboliques activées dans la fibrogénèse œsophagienne cicatricielle et d'évaluer l'efficacité d'inhibiteurs pharmacologiques du stress oxydant, initialement sur un modèle murin de sténose œsophagienne actuellement en cours de développement, puis sur un modèle préclinique porcin dont notre équipe a une grande expérience.

Le résultat attendu est l'absence de développement d'une sténose fibreuse et une réépithélialisation harmonieuse dans un délai d'environ 4 semaines après l'exérèse muqueuse, sans complication intercurrente, en particulier infectieuse.

## Plan expérimental :

- La première phase du projet, consistera en la mise au point du modèle murin de sténose œsophagienne cicatricielle. Nous prévoyons de faire cette mise au point sur 40 souris.
- La deuxième phase du projet visera à étudier les voies métaboliques de la fibrogénèse potentiellement activées dans la constitution d'une sténose (CB1/2, PDGFR et VEGFR, AT1R, ADAM17/ NOTCH, TGFβ1 et SMAD 2/3) à partir de prélèvements de sérum et de pièces histologiques d'œsophage. Nous utiliserons notamment des inhibiteurs pharmacologiques du stress oxydant (inhibiteurs de la voie cannabinoïde, sunitinib, irbesartan, DAPT, alicine, mimétique de SOD). Au total 10 groupes de 10 (+2) animaux sont prévus pour chaque traitement, avec un groupe traité et un groupe contrôle pour chacun des 5 traitements. Le taux de mortalité évalué à 20% permettra d'obtenir in fine des groupes d'étude de 10 animaux ce qui permettra de réaliser des tests d'ANOVA suivie de tests de comparaisons multiples.
- La troisième et dernière phase du travail, aura pour but de tester de façon randomisée et contrôlée sur le gros animal, le cas échéant, l'inhibiteur le plus convaincant de la fibrose œsophagienne. Deux groupes de 5 porcs seraient nécessaires.

Critère de jugement principal (pour les phases 2 et 3): Survenue de sténose œsophagienne symptomatique chez la souris et à J14 post-dissection sous muqueuse circonférentielle de l'œsophage chez le porc.

Critères de jugement secondaires (pour les phases 2 et 3):

- cliniques : tolérance du traitement préventif administré, poids et type d'alimentation toléré ;

- Biologiques (activité évaluée par RT PCR de l'activité des gènes suivants: collagène I, Collagène III, VEGF, TGFbeta, TNF $\alpha$ , Il1b, MCP1, INF $\gamma$ , IL10, IL 4 ou 11, IL13, ainsi qu'une évaluation de l'expression de l'alfa SMA, de pERK, ERK, et SMAD 3 par western blot)
- Histologiques: diamètre de la zone sténosée, et index de sténose (largeur de la zone sténosée/largeur de l'œsophage sain sous-jacent), épaisseur en microns du tissu de granulation et de la fibrose sur coloration HE et rouge picro sirius, longueur du néoépithélium, densité myofibroblastique et typage de l'activité collagénique (marquage immunohistochimique par  $\alpha$ -SMA, anticorps anti collagène I et III)

### Travaux antérieurs de l'équipe

#### **Sur la prévention de la sténose œsophagienne**

Barret M, Pratico C, Beuvon F, Mangialavori L, Chryssostalis A, Camus M, Chaussade S, Prat F. Esophageal circumferential en bloc endoscopic submucosal dissection of the esophagus: assessment of a new technique. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech, sous presse

Barret M, Batteux F, Beuvon F, Mangialavori L, Chryssostalis A, Pratico C, Chaussade S, Prat F. N-acetylcysteine for the prevention of stricture after circumferential endoscopic submucosal dissection of the esophagus: a randomized trial in a porcine model. Fibrogenesis Tissue Repair. 2012 May 28;5(1):8

Barret M, Camus M, Pratico C, Jarraya M, Beuvon F, Chaussade S, Batteux F, Prat F. Prévention de la sténose œsophagienne après dissection sous-muqueuse endoscopique circonférentielle: évaluation de la membrane amniotique humaine. Communication orale CO.04, Journées Francophones d'Hépatogastro-entérologie et d'Oncologie Digestive, 2012

#### **Sur la prévention de la fibrose tissulaire par l'inhibition de voies du stress oxydant**

Marut W, Kavian N, Servettaz A, Nicco C, Chéreau C, Weill B, Dinh-Xuan AT, Batteux F. Angiotensin II receptor blockade ameliorates systemic fibrosis in the mouse. Arthritis Rheum. 2013 Jan 17.

Kavian N, Marut W, Servettaz A, Nicco C, Chéreau C, Lemaréchal H, Borderie D, Dupin N, Weill B, Batteux F. Reactive oxygen species-mediated killing of activated fibroblasts by arsenic trioxide ameliorates fibrosis in a murine model of systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 2012 Oct; 64(10):3430-40.

Kavian N, Marut W, Servettaz A, Laude H, Nicco C, Chéreau C, Weill B, Batteux F. Arsenic trioxide prevents murine sclerodermatous graft-versus-host disease. J Immunol. 2012 May 15; 188(10):5142-9.

Marut WK, Kavian N, Servettaz A, Nicco C, Ba LA, Doering M, Chéreau C, Jacob C, Weill B, Batteux F. The organotelluride catalyst (PHTE) NQ prevents HOCl-induced systemic sclerosis in mouse. J Invest Dermatol. 2012 Apr; 132(4):1125-32.

Kavian N, Servettaz A, Marut W, Nicco C, Chéreau C, Weill B, Batteux F. Sunitinib inhibits the phosphorylation of platelet-derived growth factor receptor  $\beta$  in the skin of mice with scleroderma-like features and prevents the development of the disease. Arthritis Rheum. 2012 Jun; 64(6):1990-2000.

Kavian N, Servettaz A, Mongaret C, Wang A, Nicco C, Chéreau C, Grange P, Vuiblet V, Birembaut P, Diebold MD, Weill B, Dupin N, Batteux F. Targeting ADAM-17/notch signaling abrogates the development of systemic sclerosis in a murine model. Arthritis Rheum. 2010 Nov; 62(11):3477-87.

Servettaz A, Kavian N, Nicco C, Deveaux V, Chéreau C, Wang A, Zimmer A, Lotersztajn S, Weill B, Batteux F. Targeting the cannabinoid pathway limits the development of fibrosis and autoimmunity in a mouse model of systemic sclerosis. Am J Pathol. 2010 Jul; 177(1):187-96.