



Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com/en



CLINICAL RESEARCH

Krox20 heterozygous mice: A model of aortic regurgitation associated with decreased expression of fibrillar collagen genes



La souris Krox20^{+/-} : un modèle d'insuffisance aortique associée à une diminution des collagènes fibrillaires

Alexis Théron^{a,b,c,1}, Gaëlle Odelin^{a,b,1},
Emilie Faure^{a,b}, Jean-François Avierinos^{a,b,d},
Stéphane Zaffran^{a,b,*}

^a Aix Marseille Université, GMGF UMR_S910, Faculté de Médecine, 27, boulevard Jean-Moulin, 13385 Marseille, France

^b Inserm, U910, Faculté de Médecine, 13385 Marseille, France

^c AP-HM, Hôpital de la Timone, Département de Chirurgie Cardiaque, 13005 Marseille, France

^d AP-HM, Hôpital de la Timone, Département de Cardiologie, 13005 Marseille, France

Received 11 May 2015; received in revised form 2 October 2015; accepted 5 October 2015
Available online 23 December 2015

KEYWORDS

Aortic valve
regurgitation;
Krox20;
Heart valve;
Extracellular matrix;
Collagens

Summary

Background. – The mechanism involved in the onset of aortic valve (AoV) disease remains unclear despite its poor prognosis and frequency. Recently, we reported that *Krox20* (*EGR2* in humans) is involved in AoV development and dysfunction.

Aim. – Analyze *Krox20* heterozygous mice (*Krox20*^{+/-}) to discover whether incomplete expression of *Krox20* can cause valvular diseases.

Methods. – Transcriptional levels of *Col1a2/COL1A2* and *Krox20/EGR2* in AoVs from *Krox20*^{+/-} mice and human patients operated on for severe aortic regurgitation were evaluated by

Abbreviations: AoV, aortic valve; ECM, extracellular matrix; LV, left ventricular; *oim*, osteogenesis imperfecta murine; Postn, Periostin; qRT-PCR, quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction; RNA, ribonucleic acid.

* Corresponding author at: Aix Marseille Université, Inserm, GMGF UMR_S910, Faculté de Médecine, 27, boulevard Jean-Moulin, 13385 Marseille, France.

E-mail address: stephane.zaffran@univ-amu.fr (S. Zaffran).

¹ Alexis Théron and Gaëlle Odelin contributed equally to this work.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.acvd.2015.10.002>

1875-2136/© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR). Human control valves were obtained from three transplanted patients without AoV disease. Twenty-one heterozygous *Krox20*^{+/-} mice were compared with 35 controls at different ages. Three independent measurements of valve thickness were performed on magnified tissue sections using Image J software. *In vivo* valve structure and function were evaluated using the high-frequency Vevo® 2100 echocardiogram.

Results. — qRT-PCR analysis using AoVs from patients with severe aortic regurgitation showed a decrease in *EGR2* expression associated with significant downregulation of *COL1A2* expression ($P < 0.05$). Similar results were observed in the AoVs of *Krox20*^{+/-} mice. Anatomical examination revealed that incomplete invalidation of *Krox20* caused significant thickening of the aortic leaflet compared with controls (145 ± 22 vs. 75 ± 24 μm ; $P = 0.01$). Within the mutant group, this thickening worsened significantly over time (*Krox20*^{+/-} mice aged > 7 vs. < 7 months: 136 ± 48 vs. 102 ± 41 μm ; $P < 0.001$). Moreover, the aortic leaflets of embryonic day 18.5 *Krox20*^{+/-} embryos were significantly more thickened than those from controls, suggesting that this disease begins during embryonic development. Echo-Doppler analysis showed a significant increase in AoV dysfunction in heterozygous versus control mice (53% vs. 17%; $P < 0.001$), suggesting a tight relationship between valve architecture and function. Morphometric analysis revealed that the most severe AoV dysfunction was always associated with the most thickened valves. Classic histological analysis revealed that mutant AoVs had extracellular matrix disorganization, with features of human myxomatous degeneration, including excess of proteoglycan deposition in spongiosa and reduction of collagen fibre in fibrosa, but no calcification.

Conclusion. — Decreased expression of *Krox20* in mice causes degeneration of the aortic leaflets and disorganization of the extracellular matrix, causing valvular dysfunction.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

MOTS CLÉS

Régurgitation
aortique ;
Krox20 ;
Valve cardiaque ;
Souris ;
Matrice
extracellulaire ;
Collagènes

Résumé

Contexte. — Les mécanismes impliqués dans la survenue des valvulopathies aortiques restent à ce jour non élucidés malgré leur fréquence et leur mauvais pronostic. Récemment, nous avons montré que *Krox20* (*EGR2* chez l'Homme) joue un rôle important dans la valvulogenèse aortique et la survenue de dysfonction valvulaire.

Objectif. — Notre objectif était de savoir si la perte d'un allèle de *Krox20* pouvait conduire à un défaut valvulaire.

Méthodes. — Nous avons mesuré par PCR quantitative en temps réel (QPCR) le niveau d'expression du gène *Col1a2*/*COL1A2* et de *Krox20*/*EGR2* au sein de valves aortiques provenant de souris hétérozygotes *Krox20*^{+/-} et de patients opérés d'insuffisance aortique sévère et sur des valves témoins issues de patients transplantés indemnes de valvulopathie aortique. Nous avons comparé un groupe de souris hétérozygotes *Krox20*^{+/-} ($n = 21$) à un groupe témoin ($n = 35$) à différents âges de vie. Les échocardiographies ont été réalisées à l'aide d'un échocardiogramme Vevo® 2100. Les coupes histologiques ont été obtenues après inclusion des échantillons de cœurs murins en paraffine et section au microtome. L'épaisseur valvulaire a été mesurée à trois reprises grâce au logiciel Image J software.

Résultats. — L'analyse par QPCR révèle une réduction de l'expression du gène *EGR2* associée à une diminution significative de *COL1A2* ($p < 0,05$) dans les valves aortiques de patients opérés de valvulopathie aortique concordant avec une diminution de *Col1a2* au sein de valves aortiques de souris mutantes. L'examen anatomique montre que l'invalidation incomplète de *Krox20* conduit à un épaississement valvulaire significatif par rapport au groupe témoin (145 ± 22 vs 75 ± 24 μm ; $p = 0,01$). L'épaississement de la valve aortique s'aggrave au cours du temps (âge > 7 mois versus < 7 mois, 136 ± 48 vs 102 ± 41 μm ; $p < 0,001$). De plus, les feuillets valvulaires d'embryons mutants sont significativement plus épais que les feuillets des embryons témoins à E18,5, suggérant une apparition de la dégénérescence valvulaire dès la vie embryonnaire. L'analyse échocardiographique montre une augmentation significative de valvulopathies aortiques chez les souris *Krox20*^{+/-} (53 % vs 17 % ; $p < 0,001$), suggérant une relation étroite entre architecture valvulaire et dysfonctionnement. L'analyse morphométrique des échantillons démontre que les valvulopathies les plus sévères sont associées aux épaississements valvulaires les plus importants. Enfin, les feuillets aortiques des souris *Krox20*^{+/-} présentent une désorganisation de la matrice extracellulaire évocatrice de dégénérescence myxoïde incluant un excès de

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2888661>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2888661>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)