



5^{ème} Journée de la recherche biomédicale Angers-Tours

Vendredi 10 décembre 2021

Greniers St-Jean, Angers

PROGRAMME

- 9h00 - 9h30 :** Allocation d'ouverture
- 9h30 - 10h45 :** Session orale 1
- 9h30 **L. Mainguéné** - Impact à 6 mois d'une hospitalisation de jour pluridisciplinaire spécifique de la chute chez les patients âgés de 70 ans et plus à risque de chute grave suivis au CHU d'Angers
 - 9h45 **A. Boissais** - Modèle diagnostique prédictif de la vascularite à IgA par une approche métabolomique
 - 10h00 **M. Nasarre** - Caractéristiques et survie des patients avec insuffisance cardiaque terminale traités par assistance mécanique monoventriculaire gauche ou transplantation cardiaque à travers une cohorte nationale française rétrospective
 - 10h15 **J. Bailleul** - Education thérapeutique de parents d'enfants diabétiques de type 1 par la simulation d'une situation d'urgence, l'hypoglycémie sévère avec coma et l'hyperglycémie avec cétose : impact sur la qualité de vie
 - 10h30 **A. Dugard** - Essais en soins primaires versus essais en soins secondaires ou tertiaires : une approche méta-épidémiologique
- 10h45 - 12h15** Session poster
- 12h15 - 13h45** Déjeuner
- 13h45 - 15h00** Session orale 2
- 13h45 **M.A. Durand** - EZH2 est une cible de l'antigène LT du polyomavirus à cellules de Merkel et promeut la survie cellulaire dans le carcinome à cellules de Merkel
 - 14h00 **A. Bachelot** - Impact pronostique des comorbidités et du profil mutationnel dans les leucémies aiguës myéloblastiques du sujet âgé
 - 14h15 **O. Le Tilly** - Pharmacocinétique de l'éculizumab : une non-linéarité à prendre en compte
 - 14h30 **C. Vayne** - La forme déglycosylée de 1E12, une IgG monoclonale anti-FP4, inhibe fortement l'activation cellulaire induite par les anticorps de thrombopénie thrombotique induite par la vaccination contre la COVID-19 (VITT)
 - 14h45 **D. Lanznaster** - Alterations in metabolites related to mitochondrial impairment and oxidative stress described in muscle of early-stage ALS patients: evidence for new biomarkers of diagnosis and prognosis
- 15h00 - 16h00** Conférence invitée - Dr Julien Lejeune, Unité d'onco-hématologie pédiatrique, CHRU de Tours
- 16h00 - 16h30** Remise des prix

Liste des présentations orales

N° de la présentation	Premier auteur	Titre	Page
O1	L. Mainguené	Impact à 6 mois d'une hospitalisation de jour pluridisciplinaire spécifique de la chute chez les patients âgés de 70 ans et plus à risque de chute grave suivis au CHU d'Angers	1
O2	A. Boissais	Modèle diagnostique prédictif de la vascularite à IgA par une approche métabolomique	2
O3	M. Nasarre	Caractéristiques et survie des patients avec insuffisance cardiaque terminale traités par assistance mécanique monoventriculaire gauche ou transplantation cardiaque à travers une cohorte nationale française rétrospective.	4
O4	J. Bailleul	Education thérapeutique de parents d'enfants diabétiques de type 1 par la simulation d'une situation d'urgence, l'hypoglycémie sévère avec coma et l'hyperglycémie avec cétose : impact sur la qualité de vie.	5
O5	A. Dugard	Essais en soins primaires versus essais en soins secondaires ou tertiaires : une approche méta-épidémiologique	6
O6	M.A. Durand	EZH2 est une cible de l'antigène LT du polyomavirus à cellules de Merkel et promeut la survie cellulaire dans le carcinome à cellules de Merkel	7
O7	A. Bachelot	Impact pronostique des comorbidités et du profil mutationnel dans les leucémies aiguës myéloblastiques du sujet âgé	9
O8	O. Le Tilly	Pharmacocinétique de l'éculizumab : une non-linéarité à prendre en compte	11
O9	C. Vayne	La forme déglycosylée de 1E12, une IgG monoclonale anti-FP4, inhibe fortement l'activation cellulaire induite par les anticorps de thrombopénie thrombotique induite par la vaccination contre la COVID-19 (VITT)	12
O10	D. Lanznaster	Alterations in metabolites related to mitochondrial impairment and oxidative stress described in muscle of early-stage ALS patients: evidence for new biomarkers of diagnosis and prognosis	13

Listes des présentations posters

N° de poster	Premier auteur	Titre	Page
P1	Lemoine S.	La thrombocytose triple négative et la thrombocytémie essentielle définie par les critères OMS ont une présentation et un pronostic similaires	15
P2	Romito O.	Canaux calciques et chimiorésistance des cellules tumorales ovariennes	16
P3	Kervarrec T.	Carcinomes sudoraux des extrémités : analyses moléculaires pour le diagnostic différentiel de l'adénocarcinome papillaire digital	17
P4	Papin M.	Ether-lipids promote SK3-dependent cancer cell migration, invasion and adhesion by regulating mirna	18
P5	Mazouz Z.	Etude comparative entre trois biocapteurs électrochimiques pour la détection de l'Antigène Spécifique de la Prostate (PSA)	20
P6	Ferreira M.	Etude longitudinale de la réponse immunitaire des patients avec un cancer bronchique métastatique sous ICI dans le sang et les expectorations (Étude RICEPS)	21
P7	Sicot M.	Hydrogel de nanocapsules lipidiques : un système d'administration locale et prolongée de médicaments ciblant spécifiquement le glioblastome	23
P8	Lopez-Charcas O.	Le canal sodique dépendant du voltage nav1.5 contrôle les propriétés invasives et le phénotype mésenchymateux dans le cancer du côlon	24
P9	Marchand A.	Les inhibiteurs de checkpoint immunitaires sont associés à une amélioration de la survie chez des patients atteints de carcinome de Merkel avancé ou métastatique : résultats d'une cohorte en vie réelle de 98 patients	25
P10	Fontaine A.	Lipophagie et cancer de la prostate	27
P11	Albert M.	Manifestations cliniques et prise en charge du granulome annulaire chez l'enfant : revue systématique de la littérature	28
P12	Lobet S.	Modélisation de la pharmacocinétique du cétuximab médiée par la cible EGFR dans le cancer colorectal métastatique : l'occupation de la cible est associée à l'efficacité du cétuximab	29
P13	Sicot M.	Nanocristaux d'acide ursolique contre la résistance au témozolomide dans la prise en charge du glioblastome	30
P14	Aubin L.	Profil mutationnel au diagnostic de SMP mutés CALR et architecture clonale	31

P15	Esnault C.	Une nouvelle approche thérapeutique ciblant le CD56 dans le carcinome à cellules de Merkel	32
P16	Rocour S.	Données de vie réelle sur la prescription des concentrés de C1-inhibiteur et de l'icatibant dans les angioedèmes bradykiniques â€“ Etude REPRECISION	33
P17	Sigg N.	Efficacité et tolérance à long terme du traitement topique par rapamycine des angiofibromes faciaux dans la sclérose tubéreuse de Bourneville	34
P18	Fuzeau A.	Epidémiologie, facteurs de risque et stratégie diagnostique en imagerie multimodale des thrombi intra ventriculaires gauches après infarctus du myocarde avec élévation du segment ST ; suivi monocentrique d'un an.	35
P19	Besse M.C.	Etude cas-témoins du déroulement de la grossesse chez des patientes ayant un antécédent de vascularite à iga	37
P20	Miquelestorena- Standley E.	Etude de la réponse immuno-inflammatoire après infarctus du myocarde et de son implication dans le remodelage fibreux dans un modèle in vitro	38
P21	Fillon A.	Mesure et prise en charge pharmacologique de l'hypertension artérielle chez les patients transplantés rénaux : perspectives des patients et des médecins	39
P22	Asfar M.	Métabolisme neuronal du cortex moteur primaire selon les variations de pressions artérielles lors de la station debout en population âgée	41
P23	Clogenson H.	Post TAVI Percutaneous Coronary Intervention: toward new recommendations	43
P24	Le Floch M.	Association entre vitamine D et Motoric Cognitive Risk (MCR) syndrome chez le sujet âgé : résultats de la cohorte Gait and Alzheimer Interaction Tracking (GAIT).	44
P25	Pamart D.	Hypercalcemia as a biomarker of poor prognosis in frail elderly patients with COVID-19	45
P26	Dubnitskiy-Robin S.	Le score Hospital Frailty Risk Score (HFRS) prédictif de la mortalité, de la réadmission et de l'allongement de la durée de séjour parmi la population âgée hospitalisée en France métropolitaine.	46
P27	Ravalet N.	Vieillesse humaine et hématopoïèse clonale : quantification des niveaux médullaires et sanguins de 49 cytokines hématopoïétiques	47
P28	Bacle G.	Acoustoélasticité dans les solides mous incompressibles transversalement	48

		isotropes : Application à la caractérisation des muscles striés squelettiques.	
P29	Eymieux S.	Analyse en MET des modifications ultrastructurales viro-induites, et des mécanismes de sortie du SARS-cov-2 en cellules Vero.	49
P30	Bonnet S.	Développement et validation d'une méthode de spectroscopie de diffusion par résonance magnétique pour des applications biomédicales	50
P31	Lebreton V.	In vivo fate of Incs FRET after intravenous administration in rat: pharmacokinetics population approach	51
P32	Chantrelle M.	Intérêt d'une caméra ultra rapide pour l'analyse cinématique de la marche	53
P33	Kaeokhamloed N.	Pharmacokinetics and oral absorption of different lipid nanocapsules using new quantitative FRET technique	54
P34	Gargot T.	« Ce n'est pas le robot qui apprend, c'est moi », traiter une dysgraphie sévère en utilisant une interaction enfant robot	55
P35	Léon-Janampa N.	Acute Hepatitis E infection in a new immunocompromised pig model using an individualized human immunosuppressive treatment	57
P36	Menager P.	Association entre prise régulière d'avk et diminution de la survie à 7 jours chez les patients âgés hospitalisés pour infection au COVID-19 : Étude de cohorte GERIA-COVID	58
P37	Domain R.	Cathepsin C-independent maturation of granzyme zymogens in cytotoxic lymphocytes	60
P38	Billy S.	Coopération entre les anticorps de thrombopénie induite par l'héparine : impact sur l'activation cellulaire et le risque thrombotique.	61
P39	Chesnay A.	Development of an animal model of Pneumocystis pneumonia	62
P40	Handala L.	Etat des lieux du diagnostic de l'infection par le VHD dans une série continue de patients porteurs chroniques du VHB	63
P41	Abid M.	Evaluation de la PCR quantitative Pseudomonas aeruginosa	64
P42	Gilbert C.	Expression liée à l'âge de l'ifn- γ -1 versus IFN-I et bêta-défensines dans la muqueuse nasopharyngée des sujets infectés par SARS-cov-2	65
P43	Jeroundi N.	Glycogen metabolism supports human macrophage functions	66
P44	Monnier M.	Impact de l'acétoacétate sur la polarisation fonctionnelle des macrophages humains	67
P45	Lefevre C.	Impact des mutations du promoteur basal du core/pré-core du virus de l'hépatite B sur	68

		le taux sérique de biomarqueurs de la fibrose hépatique	
P46	Bigot P.	Impact of human cathepsin S upregulation on the integrity of epithelial barriers in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)	69
P47	Maquart M.	Inactivation rapide du SARS-cov-2 par deux lampes UV-C sur différents matériaux de conditionnement	70
P48	Mergault C.	L'inhibition du complexe Arp2/3 réprime la différenciation des myofibroblastes pulmonaires humains et atténue la fibrose pulmonaire induite par la bléomycine	72
P49	Villoteau A.	Lien entre niveau de protéine C-réactive en début de COVID-19 et survie chez les patients âgés fragiles infectés par le SARS-COV2	73
P50	Poirier W.	Lower funneling pathway in Scedosporium species	74
P51	Moreau C.	Prédiction de risque personnalisée après une réponse virologique soutenue chez les patients infectés par le virus de l'hépatite C	76
P52	Wacquiez A.	Reprogrammation du succinylome de l'épithélium respiratoire lors de l'infection grippale	78
P53	Abid M.	Sensibilité des bacilles gram négatifs multi-résistants au céfidérocol.	79
P54	Jabbour N.	Srn024, un petit ARN impliqué dans l'adaptation du pathogène Streptococcus agalactiae à son environnement	80
P55	Denis M.	Amélioration du diagnostic des maladies mitochondriales par analyse de la distribution des variants de l'adnmt dans le sang et les urines	82
P56	Emeriau F.	Caractérisation pharmacologique de deux voies de signalisation de 7 variants du récepteur humain de la mélanocortine-4	83
P57	Ettori Ajasse I.	Création et évaluation d'un site web d'information sur les troubles alimentaires pédiatriques ou troubles de l'oralité alimentaire	85
P58	Benarbia R.	Double occurrence de variants pathogènes de l'adnmt : une cause de maladie mitochondriale sous-estimée.	86
P59	Moreau C.	Exploration des voies physiopathologiques dans la stomatodynie primaire (« Burning Mouth Syndrome ») par analyse comparative salivaire du métabolome, des cytokines pro-inflammatoires, des hormones stéroïdiennes et des médiateurs de l'inflammation neurogène : étude prospective cas/témoins	87

P60	Buchs B.	Impact de l'acetoacétate sur les dysfonctions mitochondriales induites par le choc septique	89
P61	Bailleul J.	Interventions non programmées des prestataires de santé chez les enfants atteints de diabète de type 1 suivis au CHU d'Angers : existe-t-il un profil de patients à risque ?	90
P62	Delépine C.	Rôle de l'il-34 dans physiologie pancréatique	91
P63	Roux M.	Tests non-invasifs de fibrose avancée moins discriminants chez les diabétiques : une différence par essence ou un biais de population ?	92
P64	Lanznaster D.	Profiling of plasma-derived exosomes: the search of biomarkers for early-stage als	94
P65	Cordovado A.	Des variations du gène SEMA6B sont responsables de déficience intellectuelle et altèrent la densité synaptique et le guidage axonal	95
P66	Desprez F.	Etude du rôle synaptique de DPYSL5, un gène impliqué dans la déficience intellectuelle	98
P67	Haouari S.	Identification of new genes of interest in amyotrophic lateral sclerosis by microarrays and NGS analyses: focus on the Ubiquitin/SUMO pathways	100
P68	Gerges P.	Identification of novel gene variants for Autism Spectrum Disorders in the Lebanese population using whole-exome sequencing	101
P69	Alarcan H.	Médiateurs de l'inflammation, lipoprotéines et apolipoprotéines au diagnostic de la sclérose latérale amyotrophique	102
P70	Hergesheimer R.	The identification of scfv's that bind to tdp-43 and prevent its induced aggregation as a potential therapy for als	103
P71	Boble M.	Influence du varus préopératoire sur la survie des prothèses de cheville	104
P72	Chantrelle M.	Intérêt de l'utilisation de la CIF-EA dans la prise en soin du Syndrome d'Ehlers-Danlos de type Hypermobile	105
P73	Lemoine L.	L'utilisation de Rituximab chez le sujet âgé pour une maladie auto-immune est à risque accru d'infection opportuniste	106
P74	Sos C.	Reconstruction isolée du ligament fémoro-patellaire médial par transfert actif du gracilis : résultats cliniques, radiologiques et amélioration de la technique en percutanée	107
P75	Rony L.	Produits de dégradation des prothèses de hanche alumine-alumine identifiés histochimiquement dans les tissus périprothétiques	108

P76	Le Vilain-Abraham F.	Analysis of time-to-event outcomes using restricted mean survival time in cluster randomised trials	109
P77	Duroi Q.	Chirurgie ambulatoire de la cataracte sans prise en charge anesthésique : Mythe ou réalité ?	110
P78	Perez Y.	Décubitus ventral chez le patient non intubé vigile dans l'insuffisance respiratoire aigue hypoxémique induite par le COVID-19	111
P79	Poitrin L.	Définir la délégation et la distribution dans les équipes en situation d'urgence. Etude qualitative de sciences de gestion.	112
P80	Bigoteau M.	Impact médico-économique d'un centre de chirurgie ambulatoire de la cataracte sans parcours anesthésique dans un territoire en tension	113
P81	Poupin P.	Management of non-completers in statistical analysis of Cluster Randomized Trial in Nursing Homes	114
P82	Ngo Ntjam N.	Risques systémiques des anti-VEGF par voie intra-vitréenne chez l'adulte en pratique clinique courante : revue systématique et méta-analyse des Études observationnelles	115

Impact à 6 mois d'une Hospitalisation De Jour Pluridisciplinaire spécifique de la chute chez des patients âgés de 70 ans et plus à risque de chute grave suivis au CHU d'Angers

Auteurs : L. Mainguéné (1), J. Gautier (1), C. Annweiler (1,2,3), G. Duval (1)

1 Department of Geriatric Medicine, Angers University Memory Clinic, Research Center on Autonomy and Longevity, Angers University Hospital, Angers, France

2 UPRES EA 4638, University of Angers, Angers, France. Cedric.Annweiler@chu-angers.fr

3 Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, The University of Western Ontario, London, ON, Canada. Cedric.Annweiler@chu-angers.fr

Introduction : La chute est un évènement fréquent, grave et complexe chez la personne âgée nécessitant une expertise dédiée. Ainsi, une unité d'Hospitalisation De Jour (HDJ) spécifique de la chute au sein du Service de Gériatrie du CHU d'Angers a été créée pour apporter une évaluation et une prise en charge pluri-professionnelle de la chute de la personne âgée. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité sur la fréquence et la gravité des chutes de patients âgés, à 6 mois d'une prise en charge par une évaluation pluridisciplinaire spécialisée de la chute en HDJ dans le service de gériatrie du CHU d'Angers.

Méthode : Les patients inclus sont ceux de l'HDJ dans le service de gériatrie du CHU d'Angers de juin 2018 à novembre 2020 (n=145, âge moyen 85,4±5,0 ans, 65,5% de femmes, nombre médian de chute avec interquartile à 1[1-2] et de chute grave à 1[1-1]). L'historique des chutes a été recueilli sur la base du dossier patient informatisé et par interrogatoire. l'âge, le genre, l'IMC, le mode de vie, le nombre de chutes et de chutes graves, leurs complications, la présence de mesures d'éviction du risque de récurrence de chute, les comorbidités, la concentration sanguine en albumine et en 25OH Vitamine D, le score au MMSE, le score IADL, les aides à domicile, le chaussage, le nombre et les classes de traitements, les résultats des analyses de marche et sensitivo-motrice, la présence d'une hypotension orthostatique et le nombre de facteurs de risque de chute modifiables ont été utilisés comme facteurs de confusion potentiels.

Résultats : La comparaison avant/après l'HDJ lors d'une réévaluation à 6 mois a montré une diminution significative du nombre de chute (médiane [IQ] : 1[1-2] vs 0[0-1], p <0.001), de chute grave (1[1-1] vs 0[0-0] p<0.001) ainsi que des complications de chute : fractures (p=0.002), traumatismes crâniens (p<0.001), incapacité à se relever du sol (p<0.001), hospitalisation (p<0.001).

Conclusion : La prise en charge spécialisée du risque de chute au cours d'une HDJ d'expertise pluri-professionnelle permet une réduction significative des chutes, des chutes graves ainsi que de leurs complications chez des patients âgés chuteurs ou à risque de chute.

Modèle diagnostique prédictif de la vascularite à IgA par une approche métabolomique

Auteurs : A. Boissais (1), H. Blasco (2), Patrick Emond (3), Antoine Lefèvre (2), Adrien Bigot (1), Denis Mulleman (4), François Maillot (1), Alexandra Audemard-Verger (1)

- (1) Service de médecine interne, CHRU de Tours
- (2) Service de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours
- (3) Service de médecine nucléaire *in vitro*, CHRU de Tours
- (4) Service de Rhumatologie, CHRU de Tours

Introduction : La vascularite à IgA est une maladie systémique rare qui met en jeu le pronostic vital principalement en raison de l'atteinte digestive ou rénale. A ce jour, il n'existe pas de marqueur diagnostique fiable. L'objectif était d'explorer le métabolome sérique de patients atteints de vascularite à IgA afin d'identifier d'éventuels biomarqueurs diagnostiques.

Méthode : Nous avons réalisé une étude comparant le métabolome sérique de patients atteints de vascularite à IgA, et de témoins atteints de spondylarthrite. L'analyse des échantillons sériques a été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse. Les données ont été analysées par analyse univariée et multivariée supervisée et non supervisée. En cas de modèle diagnostique performant, une validation sur population indépendante a été effectuée afin d'évaluer son intérêt en routine.

Résultats : Nous avons comparé le métabolome de 55 patients atteints de vascularite à IgA et de celui de 77 témoins souffrant de spondylarthrite, appariés sur l'âge et le sexe.

L'âge médian des patients atteints de vascularite à IgA était de 53 ans [30 ; 61 ans]. Deux tiers des patients étaient des femmes (n= 32). Au diagnostic de la vascularite, la totalité des patients présentait une atteinte cutanée et une atteinte rénale était observée chez 69 % des patients (n= 38), une atteinte articulaire chez 56 % (n= 31) et une atteinte digestive chez 42% (n= 23).

L'analyse multivariée du métabolome permet de discriminer significativement la vascularite à IgA et la spondylarthrite avec une précision supérieure à 90 % (test de permutation ($p < 0,01$)). Ce modèle a révélé d'excellentes valeurs prédictives sur des cohortes indépendantes : sensibilité à 98 % ; spécificité à 98 %, valeur prédictive positive à 97 % et valeur prédictive négative à 98 %. Ces modèles ont mis en évidence 4 métabolites discriminants : le 1-méthyladénosine, l'acide L-glutamique, la sérotonine et la thymidine.

Conclusion : Cette étude a permis de mettre en évidence un excellent modèle prédictif diagnostique de la vascularite à IgA basé sur le métabolome sérique. Ces résultats devront

être confirmés au sein d'une plus large cohorte de vascularite à IgA, ainsi qu'avec avec d'autres populations témoins.

Caractéristiques et survie des patients avec insuffisance cardiaque terminale traités par assistance mécanique monoventriculaire gauche ou transplantation cardiaque à travers une cohorte nationale française rétrospective.

Auteurs : MN Mathieu Nasarre, TG Thibaud Genet

Cardiologie CHU Tours

Introduction : L'objectif de notre étude était de décrire pour la première fois dans une comparaison exhaustive à l'échelle nationale les caractéristiques et la survie des patients en insuffisance cardiaque avancée traités par assistance mécanique ventriculaire gauche ou transplantation cardiaque.

Méthodes : Les données analysées ont été issues du programme de médicalisation des systèmes d'information (PMSI) français entre 2012 et 2020. La première partie a consisté à analyser la survie selon la prise en charge avec la méthode de Kaplan-Meier et les facteurs prédictifs de mortalité avec un test de Cox multivarié. Un appariement avec un score de propension a été réalisé pour équilibrer les facteurs de risques de morbi-mortalité. La seconde partie de l'analyse s'est intéressée aux différentes populations d'assistance ventriculaire gauche en comparant la morbi-mortalité des patients implantés d'un Heartmate III aux autres générations de LVAD.

Résultats : Cette cohorte rétrospective a regroupé 4843 patients, 3326 transplantés cardiaques et 1517 patients sous assistance ventriculaire gauche. Les patients transplantés étaient plus jeunes (48 ans vs 58 ans), comportaient plus de femmes (28% vs 16%) et avaient moins de cardiopathie ischémique (51% vs 76%). La survie toute cause à 1 an était significativement plus élevée pour les patients ayant eu une transplantation cardiaque 81 % contre 63 % pour les patients implantés d'une assistance ventriculaire gauche (Hazard ratio [HR] après appariement par score de propension 1.92, IC 95% 1.68-2.20 p<0.001). L'incidence d'accident vasculaire cérébral, d'hémorragie majeure et de choc septique était significativement plus élevée pour les patients assistés (p<0.001). Les patients sous HeartMate III avaient une survie significativement meilleure (HR 0.62, IC 95% 0.51-0.76) et un taux d'accident vasculaire cérébral significativement moins élevé (HR 0.32, IC 95% : 0.16-0.64) par rapport aux autres types d'assistance.

Conclusion : En France, la transplantation cardiaque reste la référence pour le traitement de l'insuffisance cardiaque terminale chez les patients encore jeunes avec peu de comorbidités et est associée à de meilleurs résultats que l'assistance ventriculaire gauche en termes de survie et morbidité. Les taux de survie restent néanmoins inférieurs aux standards nord-américains. Il s'agit, à notre connaissance, de la première étude apportant une différence significative de survie entre le HeartMate III et les autres assistances ventriculaires gauche.

Education thérapeutique de parents d'enfants diabétiques de type 1 par la simulation d'une situation d'urgence, l'hypoglycémie sévère avec coma et l'hyperglycémie avec cétose : impact sur la qualité de vie.

Auteurs : JB Justine.Bailleul (1), JAJ Jessica.Amsellem-Jager (1), AD Aurélie.Donzeau (1), NBN Natacha.Bouhours-Nouet (1), EB Elisabeth.Bonnemaison (2), RC Régis.Coutant (1)

(1) Service d'Endocrinologie et Diabétologie pédiatriques, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

(2) Service d'Unités de Spécialités Pédiatriques, CHRU de Tours, 49 Bd Béranger, 37000 Tours, France

Introduction : Notre objectif était d'évaluer l'impact de l'éducation thérapeutique utilisant la simulation de l'hypoglycémie sévère et de l'acidocétose chez les parents d'enfants atteints de diabète de type 1 à l'aide de 5 questionnaires évaluant la crainte de l'hypoglycémie, la gestion d'une maladie chronique et l'anxiété.

Méthode : Des parents d'enfants diabétiques de type 1 ont participé à une session de simulation sur l'hypoglycémie sévère et l'acidocétose, similaire à celles utilisées dans l'enseignement médical. Les questionnaires validés en français Echelle d'anxiété-état STAI Y'1 (anxiété en situation aiguë), Hypoglycemia Fear Survey (HFS, crainte de l'hypoglycémie), Pediatric Inventory for Parents (PIP, stress parental lié à la prise en charge d'un enfant atteint d'une maladie chronique), Anxiété (BAI) et Dépression (BDI) de Beck ont été complétés par les parents avant et 3 mois après la simulation.

Résultats : Soixante-neuf parents (46 femmes, 23 hommes) âgés de $40 \pm 5,7$ ans ont participé. Leurs 50 enfants (26 garçons, 24 filles) étaient âgés de $8,9 \pm 3,0$ ans, avaient un diabète depuis $3,4 \pm 2,7$ ans et une HbA1c au moment de la session de simulation de $7,2 \pm 0,8$ %. Depuis la découverte de diabète, 28 % avaient eu au moins une hypoglycémie sévère et 10 % une acidocétose. Entre M0 et M3, le score total STAI Y'1 a significativement diminué, indiquant une diminution de l'anxiété en situation aiguë, et le score total HFS a montré une tendance à l'amélioration ($p = 0.07$), traduisant une tendance à la diminution de la crainte de l'hypoglycémie. De nombreux items du questionnaire PIP étaient significativement améliorés, ne conduisant pas à une amélioration du score total. Il n'y avait pas de modification des scores d'anxiété et de dépression.

Conclusion : L'éducation thérapeutique des parents par la simulation de l'hypoglycémie sévère et de l'acidocétose était associée à une amélioration significative de plusieurs scores de qualité de vie.

Essais en soins primaires versus essais en soins secondaires ou tertiaires : une approche méta-épidémiologique

Auteurs : A. Dugard (1), E. Tavernier (1)(2), A. Hoang (3), B. Giraudeau (1)(2), C. Dibao-Dina (1)(3)

(1) *Université de Tours, Université de Nantes, INSERM, SPHERE U1246, Tours, France*

(2) *INSERM CIC1415, CHRU de Tours, Tours, France*

(3) *DUMG, Université François Rabelais, Tours, France*

Introduction :

Les recommandations de bonne pratique destinées aux médecins généralistes sont très souvent établies à partir d'essais réalisés à l'hôpital. Aucune étude n'a comparé l'effet intervention estimé entre des essais réalisés en soins primaires et des essais réalisés en soins secondaires ou tertiaires. L'objectif était d'estimer l'effet intervention entre des essais avec inclusion de patients issus de soins primaires et des essais avec inclusion de patients issus de soins secondaires ou tertiaires par une approche méta-épidémiologique.

Méthode :

L'étude a été réalisée à partir de la Cochrane Database of Systematic Reviews. Toutes les méta-analyses (MA) avec un critère de jugement binaire comportant au moins un essai en soins primaires et un essai en soins secondaires ou tertiaires ont été incluses. Pour chaque MA nous avons estimé un ratio d'odds ratio (ROR). Un ROR < 1 indiquait un effet bénéfique de l'intervention en faveur des essais hospitaliers.

Résultats :

Parmi les 1765 revues identifiées, nous avons inclus 76 MA avec 230 essais en soins primaires et 384 essais hospitaliers. Aucune différence dans l'effet intervention estimé n'a été mise en évidence entre ces 2 types d'essais avec un ROR = 0,97 (95%CI 0,88 – 1,07). Les analyses en sous-groupes ont conclu aux mêmes résultats.

Conclusion :

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence de différence dans l'effet intervention estimé entre des essais en soins primaires et des essais en soins secondaires ou tertiaires. Cependant d'autres études semblent nécessaires pour confirmer ce résultat avec des pathologies plus fréquemment retrouvées en médecine générale.

EZH2 est une cible de l'antigène LT du Polyomavirus à cellules de Merkel et promeut la survie cellulaire dans le carcinome à cellules de Merkel

M.A Durand (1), A. Mouchard (1,2), C. Esnault (1), P. Berthon (1), A. Tallet (3), Y Le Corre (4), E. Hainault-Wierzbicka (5), A. Blom (6), P. Saiag (6), N. Beneto (7), G. Bens (8), C. Nardin (9), F. Aubin (9), M. Dinulescu (10), C. Collin (3), G. Fromont (11), S. Guyétant (11), R. Houben (12), D. Schrama (12), M. Samimi (1,2)*, A. Touzé (1)*, T. Kervarrec (1,11)*

- (1) ISP UMR 1282, INRAE, Université de Tours, Team « Biologie des Infections à Polyomavirus », 31 avenue Monge, 37200 Tours, France.
- (2) Service de dermatologie, Université de Tours, CHU de Tours, avenue de la république, 37170 Chambray-les-Tours, France
- (3) Platform of Somatic Tumor Molecular Genetics, Université de Tours, Centre Hospitalier Universitaire de Tours, 37044 Tours, France
- (4) Service de dermatologie, LUNAM Université, CHU Angers, 49933 Angers, France
- (5) Service de dermatologie, Université de Poitiers, CHU de Poitiers, 2 rue de la Milétrie, 86021 Poitiers, France
- (6) Service de dermatologie générale et oncologie, CARADERM network Ambroise-Paré hospital, APHP & Research unit EA 4340, university of Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, Paris-Saclay University, 92100, Boulogne-Billancourt France
- (7) Service de dermatologie, CHR Le Mans, 194 avenue Rubillard 72037 Le Mans Cedex 09, France
- (8) Service de dermatologie, CHR d'Orléans, 14 avenue de l'hôpital, 45100 Orléans, France
- (9) Service de dermatologie, Université de Franche Comté, CHU Besançon, EA3181, IFR133, 2 boulevard Fleming 25030 Besançon, France
- (10) Service de dermatologie, CHR Rennes, 2 rue Henri le Guilloux 35000 Rennes Cedex, France ; Institut Dermatologique du Grand Ouest (IDGO)
- (11) Service d'anatomo-cytopathologie, Université de Tours, CHU de Tours, avenue de la république, 37170, Chambray-les-Tours, France
- (12) Department of Dermatology, Venerology and Allergology, University hospital Würzburg, Josef-Schneider-Strasse 2, 97080 Würzburg, Germany

*AT, MS et TK ont contribué de manière équivalente à ce travail.

Introduction : Le carcinome à cellules de Merkel (CCM) est un cancer rare et agressif dont la survie à 5 ans est estimée à 40%. En 2008, l'intégration du Polyomavirus à cellules de Merkel (MCPyV) et l'expression de deux oncogènes viraux sT et LT ont été identifiés comme déterminants oncogéniques majeur de ce cancer. Plus récemment l'expression d'EZH2 (*Enhancer of zeste homolog 2*), une histone méthyltransférase impliquée dans l'agressivité tumorale de nombreux autres cancers solides, a été observée au sein de tumeurs de CCM. Dans ce contexte, notre hypothèse de travail est qu'EZH2 pourrait être induite par les oncogènes viraux et contribuer à la biologie tumorale.

Méthode : L'expression d'EZH2 et sa cible H3K27me3 ont été évaluées par immunohistochimie sur une cohorte multicentrique française de 132 tumeurs CCM et sur une seconde cohorte de 229 tumeurs cutanées non mélaniques. L'impact des oncogènes viraux sur l'expression d'EZH2 a été évalué, d'une part, par l'induction de l'expression ectopique des antigènes viraux dans des fibroblastes primaires (HuFD), et d'autre part, par le knockdown des oncogènes viraux dans deux lignées de CCM (WaGa et PeTa). L'impact de

l'inhibition d'EZH2 sur la biologie des lignées cellulaires de CCM a été évalué par inhibition pharmacologique (tazemetostat) ou par ARN interférence (shRNA).

Résultats : L'analyse de la cohorte a confirmé l'expression d'EZH2 dans la plupart des tumeurs de CCM (n=95, 72%), corrélée à des niveaux élevés de sa cible H3K27me3 ($p=0,009$), et plus fréquemment observée dans les tumeurs viro-positives que les tumeurs viro-négatives ($p=0,026$) suggérant une induction de l'expression d'EZH2 par les oncogènes viraux. Les modèles cellulaires, l'expression d'EZH2 était augmentée en cas d'expression ectopique des oncogènes viraux dans des fibroblastes et était diminuée en cas d'invalidation de l'expression des oncogènes viraux dans des lignées de CCM. L'inhibition d'EZH2 conduisait à une diminution de la prolifération cellulaire et à une mort cellulaire.

Conclusion : EZH2 est surexprimé par la majorité des tumeurs CCM, l'expression de l'antigène LT contribuant à cet effet via la séquestration de RB1. L'inhibition pharmacologique d'EZH2 par le tazemetostat induit la mort cellulaire des lignées de CCM in vitro et pourrait ainsi constituer une cible thérapeutique.

Impact pronostique des comorbidités et du profil mutationnel dans les leucémies aiguës myéloblastiques du sujet âgé

A. Bachelot^{1,2}, A. Bouvier^{1,2}, J. Riou³, S. Thepot^{2,4}, A. Giltat^{2,4}, C. Nunes Gomes^{2,4}, J. Paillassa^{2,4,5}, R. Jouanneau-Courville^{1,2}, M. Renard^{1,2}, A. Beucher^{1,2}, L. Cottin^{1,2,5}, B. Ribourtout^{1,2}, F. Geneviève^{1,2}, D. Luque Paz^{1,2,5}, A. Tanguy-Schmidt^{2,4,5}, V. Ugo^{1,2,5}, M. Hunault-Berger^{2,4,5}, O. Blanchet^{1,2,5,6}, C. Orvain^{2,4}.

(1) Laboratoire d'Hématologie, CHU d'Angers, Angers, France,

(2) Fédération Hospitalo-Universitaire 'Grand Ouest Against Leukemia' (FHU GOAL), Angers, France,

(3) MINT, UMR INSERM 1066, CNRS 6021, Université d'Angers,

(4) Maladies du Sang, CHU d'Angers, Angers, France,

(5) Université d'Angers, Université de Nantes, CHU d'Angers, Inserm, CRCINA, SFR ICAT, F-49000 Angers, France,

(6) Centre de Ressources Biologiques, BB-0033-00038, CHU d'Angers, Angers, France.

Introduction : Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont des hémopathies malignes survenant dans la majorité des cas après 60 ans. Le pronostic des patients âgés atteints de LAM dépend du risque cytogénétique et moléculaire et de leur capacité, impactée par leurs comorbidités, à tolérer un traitement intensif. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact pronostique des comorbidités et du profil mutationnel dans une cohorte de patients âgés de 60 ans ou plus traités intensivement pour une LAM.

Méthode : Cette étude rétrospective monocentrique a inclus 91 patients de ≥60 ans (âge médian = 66 ans) atteints de LAM (non-M3) ayant reçu une chimiothérapie d'induction de type LIA entre 2003 et 2017. Leur profil mutationnel a été obtenu par séquençage nouvelle génération de 77 gènes. Les comorbidités cliniques ont été appréciées au moyen de la leucocytose au diagnostic, du score OMS ECOG, du score de Ferrara et du score de Sorrow. Nous avons évalué l'impact du profil mutationnel et des comorbidités grâce à un modèle

multi-état. Les performances prédictives ont été comparées à l'aide de l'aire sous la courbe (AUC).

Résultats : Le séquençage a retrouvé 323 mutations avec un nombre médian de 4 mutations par patient. Les gènes les plus fréquemment mutés étaient *NPM1*, *FLT3*, *TET2* et *DNMT3A*. Un modèle multi-états a permis d'identifier des mutations de bon pronostic : celles des gènes *IDH1*, *IDH2* et *TET2*. A l'inverse, ce modèle identifiait les mutations de *RUNX1*, *STAG2*, *SRSF2* et *TP53* comme associées à un pronostic péjoratif dans notre cohorte. La leucocytose et le score ECOG étaient les meilleurs prédicteurs du décès à court terme, tandis que la classification ELN 2017 prédisait mieux le décès à long terme. La classification de Patel présentait les meilleures performances sur la totalité de la période de suivi (5 ans).

Conclusion : La leucocytose et le score ECOG sont des indicateurs pronostiques simples associés à la survie à court terme chez les patients âgés traités intensivement. Les données génomiques confirment le pronostic péjoratif des mutations de type secondaire (*SRSF2* et *STAG2*) chez les patients âgés.

Pharmacocinétique de l'éculizumab : une non-linéarité à prendre en compte

Auteurs : O. Le Tilly (1), P. Gatault (2), G. Paintaud (1), J.-M. Halimi (2), D. Ternant (1)

- (1) Service de Pharmacologie médicale, CHRU de Tours, EA4245 Transplantation Immunologie Inflammation, Tours, France
- (2) Service de Néphrologie – hypertension artérielle – dialyses – transplantation rénale, CHRU de Tours, EA4245 Transplantation Immunologie Inflammation, Tours, France

Introduction : L'éculizumab est un anticorps monoclonal ciblant la protéine C5 du complément, utilisé dans le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) à la posologie de 1200 mg toutes les deux semaines. Toutefois, son coût élevé (418 713 € par an et par patient) justifie le recours à un schéma d'administration « sur mesure » afin de maintenir des concentrations plasmatiques efficaces tout en minimisant le nombre d'injections pour chaque patient. Une compréhension satisfaisante de la pharmacocinétique (PK) de l'éculizumab est donc nécessaire pour estimer la faisabilité d'une diminution de posologie.

Méthode : À partir de 44 patients atteints de SHUa, nous avons effectué une analyse pharmacocinétique de l'éculizumab par approche de population. Nous avons par la suite simulé cent fois différents schémas d'administration (1200 mg toutes les 2 à 5 semaines) sur 1000 patients et estimé la proportion de patients présentant une exposition au traitement satisfaisante.

Résultats : La pharmacocinétique de l'éculizumab est non linéaire et a pu être décrite par une élimination de premier ordre ($CL = 1,318 \text{ mL/jour/kg}$) et de Michaelis-Menten ($V_{\max} = 26,07 \text{ mg/jour}$, $K_m = 24,06 \text{ mg/L}$). La concentration critique (c'est-à-dire le début de la non-linéarité) variait de 144,7 à 759,7 mg/L et diminuait avec le poids corporel ($p = 0,013$). Une administration d'éculizumab toutes les trois semaines serait suffisante chez 85% et 76% des patients simulés de 50 kg ou 90 kg, respectivement. Avec une administration toutes les cinq semaines, une exposition satisfaisante au traitement resterait atteinte chez 29% et 11% des patients de 50 kg ou 90 kg, respectivement.

Conclusion : Comme la non-linéarité survient à des concentrations thérapeutiques, notre modèle permet de meilleures prédictions que les modèles linéaires habituels, qui ont tendance à surestimer les faibles concentrations, ce qui est capital afin d'estimer la faisabilité d'une diminution de posologie pour un patient. Nos résultats seront utilisés pour optimiser le régime posologique dans un futur essai clinique étudiant la qualité de vie des patients avec un espacement progressif des injections d'éculizumab (NCT04859608).

La forme déglycosylée de 1E12, une IgG monoclonale anti-FP4, inhibe fortement l'activation cellulaire induite par les anticorps de thrombopénie thrombotique induite par la vaccination contre la COVID-19 (VITT)

C. Vayne (1,2), R. Palankar (3), S. Billy (2), S. Handtke (3), T. Thiele (3), C. Pouplard (1,2), A. Greinacher (3), Y. Gruel (1,2), J. Rollin (1,2)

(1) CHRU de Tours, Service d'Hématologie-Hémostase, Tours, France

(2) Université de Tours, EA7501 GICC, Tours, France

(3) Université de Greifswald, Institut d'Immunologie et Médecine Transfusionnelle, Greifswald, Allemagne

Introduction : Afin d'améliorer la sécurité des vaccins contre la COVID-19, il est primordial de comprendre la physiopathologie des thrombopénies thrombotiques induites par la vaccination (VITT), une complication très rare mais grave des vaccins à vecteur adénovirus, due à la présence d'IgG dirigés contre le facteur plaquettaire 4 (anti-FP4) ¹.

Objectifs et Méthode : Nous avons récemment développé une IgG1 chimérique anti-FP4, nommé 1E12 ², et avons évalué s'il pouvait mimer les anticorps de VITT en termes de spécificité et d'effets cellulaires. Nous avons ensuite évalué la capacité de DG-1E12, une forme déglycosylée de 1E12 incapable de se lier au FcγR, à inhiber l'activation cellulaire induite par les anticorps de VITT.

Résultats : De la même façon que les anticorps humains de VITT, 1E12 active très fortement les plaquettes en présence de FP4 et en l'absence d'héparine. Cet effet est totalement inhibé en présence de IV.3, un anticorps monoclonal bloquant FcγRIIa, ou d'IdeS, une protéase bactérienne qui clive les IgG et inhibe fortement leur liaison à FcγRIIa. Comme les anticorps humains de VITT, 1E12 incubé avec des polynucléaires neutrophiles, des plaquettes et du FP4, induit la génération de « Neutrophil Extracellular Traps » (NETs), et dans un modèle microfluidique de thromboses sur sang total, il entraîne la formation d'agrégats leuco-plaquettaires de grande taille, contenant de la fibrine (et/ou du fibrinogène). En revanche, la forme déglycosylée de 1E12 (DG-1E12), qui se lie toujours au FP4 mais n'interagit plus avec les récepteurs FcγR, inhibe l'activation des plaquettes, des neutrophiles et les thromboses induites par les anticorps humains de VITT *in vitro*.

Conclusion : 1E12 mime parfaitement les effets des anticorps humains de VITT *in vitro*, et s'avère donc un outil essentiel pour étudier la physiopathologie de ces complications, notamment avec des modèles murins. Il pourrait aussi aider à standardiser les tests biologiques utilisés pour le diagnostic des VITT. Enfin, le DG-1E12 peut contribuer au développement d'un nouveau médicament neutralisant l'effet pathogène des auto-anticorps anti-FP4, tels que ceux décrits au cours des VITT.

¹ Vayne C et al. PF4 Immunoassays in Vaccine-Induced Thrombotic Thrombocytopenia. N Engl J Med. 2021 Jul 22;385(4):376-378.

² Vayne C, et al. Characterization of New Monoclonal PF4-Specific Antibodies as Useful Tools for Studies on Typical and Autoimmune Heparin-Induced Thrombocytopenia. Thromb Haemost. 2021 Mar;121(3):322-331.

Alterations in metabolites related to mitochondrial impairment and oxidative stress described in muscle of early-stage ALS patients: evidence for new biomarkers of diagnosis and prognosis

D Lanznaster*(1), C Bruno*(1,2), J Bourgeais(3), P Emond(1,4), I Zemmoura(1,5), A Lefèvre(1), P Reynier(6,7), S Eymieux(8,9), E Blanchard(8,9), P Vourc'h(1,2), CR Andres(1,2), O Herault(3), L Favard(11), P Corcia(1,11), H Blasco(1,2). * equal author contribution

- (1) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, INSERM, Tours, France
- (2) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Tours, France
- (3) CNRS ERL7001, EA 7501 GICC, Université de Tours, France.
- (4) Service de Médecine Nucléaire in vitro, CHU de Tours, Tours, France
- (5) Service de Neurochirurgie, CHU de Tours, Tours, France
- (6) Service de Biochimie et biologie moléculaire, CHU d'Angers, France
- (7) Mitovasc-Mitolab, UMR CNRS6015-INSERM1083, Angers, France
- (8) Plateforme IBiSA de Microscopie Electronique, Université de Tours et CHU de Tours, France
Service d'anatomie et cytologie pathologique, CHU, Tours, France
- (9) INSERM U1259, Université de Tours, France
- (10) Service de chirurgie orthopédique et traumatique, CHU de Tours, France
- (11) Service de Neurologie, CHU de Tours, France

Introduction : Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is the most common motor neuron disease. The objective of this study was to explore the metabolomics profile of muscle and serum in ALS and controls, and to correlate these findings with clinical and pathological alterations.

Méthode & Résultats: Seventeen ALS patients and 20 controls were recruited. Disease duration was 9.4 ± 6.8 months and diagnosis delay was 9.0 ± 4.7 months for our ALS cohort. Multivariate metabolomics analysis identified distinct serum metabolome for ALS and controls (p -CV-ANOVA <0.035) and revealed excellent discriminant profiles from muscle metabolome (p -CV-ANOVA <0.0012). Citramalate was a metabolite discriminant for both muscle and serum. High lauroylcarnitine muscle levels were associated with low Forced Vital Capacity in ALS patients. The genetic profile of key antioxidant enzymes showed an upregulation of SOD3 ($p=0.0017$) and GLRX2(1) ($p=0.0022$) in ALS muscle. Analysis of mitochondrial enzymatic activity in muscle revealed higher complex II/CS ratio in ALS than in controls ($p=0.04$), while LDH activity was lower in ALS ($p=0.03$). Mitochondria dysfunction was accompanied by a discrete mitochondrial accumulation in the subsarcolemmal compartment in ALS samples.

Conclusion : Our study showed for the first time metabolic alterations in serum and muscle that correlate with pathological findings, namely specific actors of oxidative stress and mitochondria dysfunction. The dysfunction in the energetic metabolism and associated mechanisms was observed in the early stages of ALS disease in both serum and muscle, through a multiparametric exploration based on emergent complementary technologies. Finally, we identified novel metabolites to be employed as biomarkers for diagnosis and

prognosis of ALS patients. Inclusion of such metabolites in a panel of biomarkers will help to improve patients' management in the clinical practice.

La thrombocytose triple négative et la thrombocytémie essentielle définie par les critères OMS ont une présentation et un pronostic similaires.

S. Lemoine (1,2,3), C. Mornet (3,4), C. Orvain (3,5,6), C. Caillon (5), B. Burrioni (7), L. Dubouis,(8), I. Quintin-Roué (9), M.C. Rousselet (10), E. Genin (11), M. Renard (1,3), V. Le Brun (4), L. Cottin (1,2,3,6), J.C. Ianotto (3,12,13), F. Boyer (3,5), R. Jouanneau-Courville (1,3), O. Blanchet (1,2,3,6), M. Hunault-Berger (2,3,5,6), V. Ugo (1,2,3,6), D. Luque Paz (1,2,3,6)*, E. Lippert (3,4,13)*

(1) Laboratoire d'Hématologie, CHU Angers, Angers, France; (2) Unité de Formation et de Recherche (UFR) Santé, Université d'Angers, Angers, France; (3) Fédération Hospitalo-Universitaire "Grand Ouest Against Leukemia" (FHU GOAL), France; (4) Laboratoire d'Hématologie, CHRU Brest, Brest, France; (5) Service des Maladies du Sang, CHU Angers, Angers, France; (6) Université d'Angers, Inserm, CRCINA, Angers, France; (7) Service de pathologie AP-HP, Hôpital Cochin, Paris, France; (8) Laboratoire de Biopathologie, CHRU Nancy, France; (9) Département de Pathologie Cellulaire et Tissulaire, CHRU Brest, Brest, France; (10) Département de Pathologie Cellulaire et Tissulaire, CHU Angers, Angers, France; (11) Inserm UMR1078, Génétique, Génomique fonctionnelle et Biotechnologies; (12) Service d'Hématologie Clinique, CHRU Brest, Brest, France; (13) Faculté de Médecine, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France. * Egale contribution.

Introduction: La thrombocytémie essentielle (TE) est un syndrome myéloprolifératif (SMP) d'évolution indolente. Le diagnostic repose en partie sur la mise en évidence de mutations acquises, dites promotrices (JAK2V617F, MPW515K/L ou CALR) et l'analyse parfois délicate de la biopsie de moelle osseuse (BOM). Dans 15% des cas, aucune mutation promotrice n'est trouvée, et ces cas triple-négatifs (TN), peuvent être de diagnostic difficile.

Patients et Méthode: Cent trente patients (93F/37M, 53 ans [18-84]), suivis au CHU d'Angers ou de Brest pour TE TN (77/130) ou une thrombocytose TN (53/130), ont été inclus. La BOM a été examinée par un groupe d'experts pathologistes français (GEBOM), et un NGS ciblé (panel de 24 gènes) a été réalisé; afin d'en évaluer l'intérêt diagnostique. Nous avons également évalué si la classification basée sur des caractéristiques génétiques et/ou histologiques était plus prédictive de l'évolution de ces patients.

Résultats : Après relecture des BOM, 24 patients (18%) ont changé de catégorie (13 initialement en faveur d'un SMP ont été reclassés non-SMP ; 6 non-SMP en SMP. Cinquante-sept variants ont été détectés chez 38 (29%) patients, et aucun variant chez 92 (71%) patients. Les gènes les plus fréquemment mutés étaient *MPL*, *ASXL1*, *SH2B3*, *JAK2*, *TET2* et *DNMT3A*. La présence de mutations pathologiques a modifié le diagnostic de 9 patients en SMP. Cependant, Il n'existe pas de différence significative sur la survie globale et la survenue d'événements entre le groupe SMP et non-SMP, quel que soit la classification diagnostique utilisée (basée sur la relecture de la BOM ou le NGS). La présence de variants pathologiques semble être associée à nombre d'événements plus important (différence non significative). Les patients réassignés TE après relecture de la BOM ou les résultats du NGS, étaient significativement plus exposés aux événements thrombotiques/hémorragiques par rapport aux patients avec un diagnostic initial de TE et de non-SMP. Douze variants constitutionnels ont été détectés dans les gènes *JAK2* et *MPL*, souvent associées des caractéristiques de la BOM comparable au SMP, en faveur d'un probable diagnostic de thrombocytose constitutionnelle.

Conclusion : Ces résultats montrent que la caractérisation de la thrombocytose TN repose sur les données cliniques, biologiques, histologiques et génétiques approfondies des patients.

Canaux calciques et chimiorésistance des cellules tumorales ovariennes

Auteur(s) O. Romito¹, O. Champion¹, Aude Lemettré¹, L. Ouldamer¹⁻², M. Trebak³, C. Goupille¹⁻², M. Potier-Cartereau¹.

¹Inserm UMR 1069, Université de Tours, Tours

²CHRU de Tours, hôpital Bretonneau, Tours

³Département de physiologie cellulaire et moléculaire, Université de Médecine de Pennsylvanie, Hershey, Pennsylvanie, USA

Introduction : Dans le cancer épithélial de l'ovaire, 75% des patientes sont diagnostiquées à un stade avancé. Le traitement de première ligne est à base de carboplatine et de taxol®. Cependant, le taux de survie des patientes est de 20 à 30% et une chimiorésistance est observée dans 70% des cas de cancers de l'ovaire récurrents.

Notre laboratoire a documenté le rôle de certains canaux calciques comme activateur de la migration de cellules cancéreuses et de la formation de métastases. De ce fait, les canaux calciques apparaissent comme de potentielles cibles thérapeutiques. Alors que ces canaux sont peu explorés dans le cancer de l'ovaire, l'objectif est d'étudier le rôle de la signalisation calcique dans la chimiorésistance de lignées cancéreuses de l'ovaire.

Méthode : Une lignée tumorale (COV 504) a été sélectionnée et rendue résistante par l'application répétée de carboplatine ou de taxol®. Des tests de survie et de prolifération sur 7 jours (MTT) ainsi que des tests de migration cellulaire (sur 24h) ont été réalisés afin de comparer les cellules sensibles des cellules résistantes. Les flux calciques membranaires et mitochondriaux ont été évalués par spectrofluorescence et l'expression des canaux calciques a été analysée par RTqPCR.

Résultats : Après 15 semaines de traitement, la dose efficace 50 est augmentée de 3 fois pour le carboplatine et de 6 fois pour le taxol®. Dans les cellules résistantes au taxol®, la migration est augmentée de 50% et la transcription de certains canaux est fortement augmentée : TRPC3 (x3), TRPC6 (x500) et TRPC4 (x1600) mais la signalisation calcique membranaire et mitochondriale n'est pas modifiée. Dans les cellules résistantes au carboplatine, les capacités migratoires sont inchangées mais une diminution significative de la transcription des canaux ORAI (x4), SK2 (x13) et MCU est observée et est associée à une diminution significative des flux calciques membranaires et mitochondriaux.

Conclusion : Les 2 agents thérapeutiques conduisent à des régulations transcriptionnelles différentes des canaux impliqués dans les flux calciques. L'invalidation de ces canaux par siARN ou l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques devraient permettre d'évaluer leur contribution à la chimiorésistance.

Carcinomes sudoraux des extrémités : analyses moléculaires pour le diagnostic différentiel de l'adénocarcinome papillaire digital

T. KERVARREC^{1,2}, M. TALLEGAS^{1,3}, A. TALLET³, C. COLLIN³, A. NICOLAS⁴, L. MORTIER⁵, T. JOUARY⁶, N. MACAGNO⁷, ML. JULLIE⁸, P. SOHIER⁹, A. CARLOTTI⁹, B. CAVELIER BALLOY^{10,11}, A. SERIS⁶, P. GABORIAUD², A. TOUZE², B. CRIBIER¹², M. BATTISTELLA¹¹

1 : Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Tours, France

2 : Equipe Biologie des infections à Polyomavirus, INRAE, UMR1282, Université de Tours France

3 : Plateforme de génétique moléculaire des cancers, Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Tours, France

4 : Institut Curie, Centre National de la Recherche Scientifique UMR3244, Sorbonne Universités, Paris, France

5 : Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France

6 : Service de Dermatologie, Centre Hospitalier de Pau, Pau, France

7 : Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital de la Timone, Marseille, France

8 : Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux, Pessac, France, CARADERM network

9 : Service de Pathologie, Hôpital Cochin, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, AP-HP.Centre-Université de Paris, Paris, France.

10 : Cabinet Mathurin Moreau, Paris, France

11 : Service d'anatomie et cytologie pathologiques, AHP Hôpital Saint Louis, Université Paris 7, Paris, France

12 : Clinique dermatologique, Hôpitaux Universitaires & Université de Strasbourg, Hôpital Civil, Strasbourg, France

Introduction : L'adénocarcinome papillaire digital (APD) est une tumeur sudorale agressive survenant exclusivement en peau acrale. La reconnaissance de cette entité est souvent difficile avec de nombreux diagnostics différentiels (hidradénomes, adénomes tubuleux, cystadénomes...). Alors que des anomalies génétiques récurrentes ont été identifiées dans plusieurs de ces entités (transcrits de fusion *CRTC1-MAML2* dans les hidradénomes, mutation de *BRAF* dans les adénomes tubuleux), les déterminants génétiques conduisant au développement des APD étaient jusqu'à récemment inconnus. En 2019, Thomas Wiesner et coll. ont rapporté la détection d'intégrations génomiques du papillomavirus humain de type 42 (HPV42) au sein d'une petite cohorte d'APD. Dans ce contexte, l'objectif principal de la présente étude était d'évaluer les performances diagnostiques d'un panel d'outils moléculaires intégrant la détection de l'HPV42 pour distinguer les APD d'autres tumeurs sudorales survenant dans les mêmes sites anatomiques.

Méthodes : Les cas de tumeurs sudorales survenant en peau acrale ont été extraits de la base de données du réseau CARADERM. Après relecture histologique par deux experts du réseau (*gold standard* de l'étude), la présence d'altérations génétiques récurrentes précédemment rapportées dans les tumeurs sudorales non APD (réarrangements de *MAML2*, mutation *BRAF* V600E) a été recherchée par séquençage ciblé. La détection du génome de l'HPV42 a été réalisée par PCR en temps réel sur l'ensemble de la cohorte. Enfin, afin de confirmer l'intégration génomique de l'HPV42 au sein de nos échantillons, les cas identifiés comme APD ainsi que 13 autres tumeurs sélectionnées, comme contrôles (tirage au sort) ont été analysés par séquençage de nouvelle génération de type HPV-Capture.

Résultats : Dix cas d'APD ont été comparés à 68 autres tumeurs sudorales de localisation acrale. Un réarrangement *CRTC1-MAML2* a été détecté uniquement dans les hidradénomes (n=18/24, 75%). Une mutation *BRAF* V600E a été observée dans tous les cas d'adénomes tubuleux (n=4/4, 100%) et dans un cas d'interprétation difficile. Le génome de l'HPV42 a été détecté par PCR en temps réel dans tous les cas d'APD, à l'exception d'un seul, et dans un seul carcinome annexiel SAI (sans autre indication) parmi les échantillons non APD. L'intégration génomique de l'HPV42 a été prouvée dans 3 cas d'APD, tandis que la forme épisomale du virus a été observée dans tous les autres cas d'APD, sauf un.

Conclusion : notre étude confirme la présence du génome de l'HPV42 dans la grande majorité des APD et son absence au sein des autres types de tumeurs sudorales survenant sur les mêmes sites. Par conséquent, la détection du génome HPV42 apparaît comme un outil pertinent pour le diagnostic des APD. Cet outil devrait être intégré dans le panel de marqueurs moléculaires utilisés pour la classification des tumeurs sudorales des extrémités.

Ether-lipids promote SK3-dependent cancer cell migration, invasion and adhesion by regulating miRNA

M. Papin^{1#}, D. Fontaine^{1#}, C. Goupille^{1,3}, S. Figiel¹, I. Domingo¹, M. Pinault¹, C. Guimaraes¹, R. Guibon³, N. Guyon², P.F. Cartron², P. Emond^{3,4}, A. Lebevre⁴, L. Ouldamer^{1,3}, K. Maheo¹, G. Fromont^{1,3}, M. Potier-Cartereau¹, P. Bougnoux¹, A. Chantôme^{1*}, C. Vandier^{1*}.

¹Université de Tours, Inserm, N2C, UMR1069, Tours. ²CRCINA-INSERM 1232, Equipe « Apoptose et Progression tumorale », Nantes. ³CHRU Bretonneau, Tours. ⁴Université de Tours, Inserm, iBrain, UMR 1253, Tours, France. ^{#*}These authors contributed equally to this work.

Introduction : Nous avons montré que l'expression anormale du canal SK3 dans les cellules cancéreuses de sein, favorisait la migration, l'invasion et l'adhésion ainsi que le développement de métastases osseuses. Tous ces résultats nous ont amené à développer des éther-lipides de synthèse modulateurs de SK3 dont un inhibiteur capable de prévenir le développement de métastases. Ces résultats nous ont conduit à rechercher le rôle des EL endogènes dans la régulation de SK3

Méthode : 1. confronter l'expression de SK3 avec l'enzyme clef de la synthèse des EL, l'alkylglycerone phosphate synthase (AGPS), dans 2 cohortes de tissus tumoraux de sein (immunohistochimie et RT-QPCR). 2. Identifier l'effet de l'inactivation (siRNA) des enzymes clés à la synthèse des EL sur l'expression de SK3 ainsi que sur la migration, invasion et adhésion cellulaire contrôlées par SK3. 3. Identifier les miRNA impliqués dans le mécanisme moléculaire impliqué : q-PCR, cross-linking IP, mimic. Identification des espèces moléculaires d'EL présents dans les cellules cancéreuses par la technique de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

Résultats : Une corrélation positive entre SK3 et l'AGPS a été retrouvée dans les 2 cohortes. L'inactivation de l'AGPS montre que les EL favorisent l'expression de SK3 en inhibant l'expression de miRs dégradant les ARNm SK3. Ces miRs sont par ailleurs inversement corrélés avec les ARNm SK3 et AGPS dans les tissus tumoraux. L'inactivation de l'AGPS diminue aussi bien les alkyls que les alkenyl-EL, les 2 familles d'EL. La part des alkenyl-EL dans la régulation de SK3 a ensuite été recherchée en invalidant la plasmanyléthanolamine désaturase (Peds), enzyme en aval de l'AGPS qui désature la liaison éther des alkyl-EL formant ainsi les alkenyl-EL. La réduction de l'expression de PEDS diminue drastiquement l'expression de SK3 en augmentant les miRs ciblant SK3. De plus, la migration, l'invasion et l'adhésion cellulaires sont inhibées après l'inactivation du canal SK3 ou de l'enzyme Peds.

Conclusion : Nous avons montré pour la première fois que ces lipides encore très méconnus étaient, par l'intermédiaire de miRNA, des régulateurs du canal SK3, cible anti-métastatique

prometteuse. Deux familles d'EL existent : les alkyl et les alkényl-EL. Les alkényls-EL semblent responsables de cette régulation. La production de nanoparticules d'alkényl-EL est en cours afin d'enrichir en alkényl-EL les cellules n'exprimant plus l'enzyme Peds et de déterminer si cet enrichissement permet ou non de restaurer l'expression de SK3 ainsi que les fonctions biologiques qui lui sont associées.

Etude comparative entre trois biocapteurs électrochimiques pour la détection de l'Antigène Spécifique de la Prostate (PSA)

Z. Mazouz ^(1,2), M. Mokni ^(3,4), N. Blel ⁽²⁾, G. Attia ⁽⁵⁾, A. Othmane ⁽²⁾, A. Omezzine ⁽⁴⁾,
N. Yaakoubi ⁽⁵⁾, C. Zerrouki ⁽³⁾, N. Fourati ⁽³⁾

(1) INRAP, Laboratoire Méthodes et Techniques d'Analyse, BiotechPole, 2020, Sidi-Thabet, Tunisia

(2) Université de Monastir, Faculté de Médecine de Monastir, LIMA, Av. Avicenne, 5019, Monastir, Tunisia

(3) Cnam, SATIE, UMR CNRS 8029, 292 rue Saint Martin, 75003, Paris, France.

(4) Hôpital Universitaire Sahloul, Service de Biochimie, 4011, Sousse, Tunisia

(5) Le Mans Université, LAUM, UMR CNRS 6613, Avenue Olivier Messiaen, 72085 Le Mans, France

Introduction : Le cancer de la prostate est parmi les cancers masculins les plus diagnostiqués en Europe. Diverses études ont mis en évidence le fait que plus le diagnostic est précoce, plus les chances de guérison du patient sont élevées. D'où l'intérêt de développer des dispositifs fiables, robustes, sensibles et permettant d'atteindre de faibles limites de détection. Les biocapteurs électrochimiques permettent de répondre à l'ensemble de ces exigences et ont été donc sélectionnés, dans le cadre de ce travail, pour la détection du PSA, un biomarqueur du cancer de la prostate.

Méthode : Trois biocapteurs ont été réalisés pour le dosage du PSA : deux immunocapteurs et un dispositif fonctionnalisé avec un polymère à empreintes moléculaires (MIP).

Résultats : Un comparatif des performances métrologiques des trois biocapteurs est présenté dans le tableau 1. Il en ressort que les immunocapteurs, et notamment celui fonctionnalisé avec des nanoparticules de fer, sont plus sensibles que le capteur fonctionnalisé avec un MIP. Cependant ce dernier a une plus faible limite de détection et une meilleure affinité vis-à-vis de la protéine d'intérêt. C'est donc ce dernier qui a été retenu pour faire des tests à l'aveugle, pour déterminer la concentration de PSA dans 35 sérum de patients. Les résultats obtenus à partir des capteurs réalisés ont été trouvés en parfait accord avec la technique immunologique de référence, ELISA (pour Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Tableau 1. Performances métrologiques des trois biocapteurs

	Immunocapteurs		Capteur MIP
	Sans IONPs	Avec IONPs	
LOD (fg/ml)	10	10	0,01
S ($\mu\text{A}/\text{fg}\cdot\text{ml}^{-1}$)	18,00 \pm 1,95	45,15 \pm 1,61	8,91 \pm 0,19

Conclusion : Les résultats obtenus montrent que les trois biocapteurs réalisés sont robustes, sélectifs et très sensibles. Cependant, le choix de la technique de fonctionnalisation reste un compromis entre plusieurs paramètres dont le nombre d'étapes de fonctionnalisation, la sensibilité, la limite de détection, la gamme dynamique, et le coût des produits utilisés.

Etude longitudinale de la réponse immunitaire des patients avec un cancer bronchique métastatique sous ICI dans le sang et les expectorations (étude RICEPS)

Marion Ferreira^{1,2,3}, Thomas Secher^{1,2}, Damien Sizaret^{2,4}, Eric Tartour^{5,6} and Nathalie Heuzé-Vourc'h^{1,2}

1. INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, U1100, Tours, France

2. Université François Rabelais de Tours, Tours, France

3. CHRU de Tours, Département de Pneumologie et d'exploration respiratoire fonctionnelle, Tours, France

4. Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours, F-37044Tours, France

5. INSERM U970, PARCC (Paris Centre de Recherche Cardiovasculaire), Université Paris Descartes, Paris, France

6. Hôpital Européen Georges Pompidou, Service d'Immunologie Biologique, Paris, France.

Introduction : Les inhibiteurs de checkpoints immunitaires (ICI) ont permis d'améliorer le pronostic des cancers bronchiques métastatiques, mais avec seulement 20% de réponse. La sélection des patients se fait sur l'expression de PD-L1 par la tumeur, dont l'analyse pose plusieurs problèmes : 1/ son hétérogénéité spatiale, 2/ sa variabilité temporelle, 3/ son absence de spécificité pour identifier les patients répondeurs et 4/ sa détermination à partir de biopsies au diagnostic, ne pouvant être facilement répétée. Les fluides biologiques constituent une ressource intéressante et accessible pour le suivi longitudinal des patients en cours de traitement. L'étude de l'évolution et de la modification de la réponse immunitaire sous ICI pourrait permettre d'identifier des biomarqueurs de réponse. Dans ce projet, nous proposons d'analyser certaines populations de cellules immunitaires dans le sang et les expectorations de patients sous ICI.

Méthodes : L'objectif est de décrire la réponse immunitaire antitumorale locale et systémique de patients répondeurs ou non aux ICI. Les patients avec un adénocarcinome bronchique, naïfs de traitement, sont inclus lors de la 1^{ère} perfusion d'ICI. A chaque cure d'ICI +/- chimiothérapie, des prélèvements sanguins et des expectorations sont collectés afin de quantifier les populations cellulaires impliquées dans la réponse aux ICI. Les cellules mononucléées du sang et des expectorations sont quantifiées par cytométrie en flux. Un intérêt particulier est porté sur les lymphocytes T non conventionnels dans le sang et lymphocytes T résidents mémoires dans les expectorations.

Conclusion : L'analyse des 1ers échantillons a permis de démontrer la faisabilité de l'approche, en particulier l'intérêt des expectorations pour suivre la réponse immunitaire des patients atteints d'un adénocarcinome sous ICI. Les résultats permettront de déterminer s'il existe une réponse immunitaire, systémique et/ou locale, spécifique des patients selon leur profil de réponse.

Hydrogel de nanocapsules lipidiques : un système d'administration locale et prolongée de médicaments ciblant spécifiquement le glioblastome

M Sicot (1), E Bozzato (2), C Gazaille (1), U Farooq (1), A Mellinger (1), P Saulnier (1) J Eyer (1),
V Préat (2), G Bastiat (1)

(1) Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

(2) Univ Louvain, LDRI, ADDB, Brussels, Belgium

Introduction : Le traitement standard du glioblastome (GBM), tumeur maligne du cerveau, consiste en une résection de la tumeur, souvent non totale, suivie du protocole de Stupp (chimiothérapie et/ou radiothérapie). Ce protocole non spécifique et non curatif a permis une légère augmentation de la médiane de survie, mais sans prévenir les récurrences tumorales qui entraînent le décès des patients. L'un des facteurs associés aux récurrences est le délai entre la chirurgie et le protocole de Stupp : 4 à 6 semaines, pourtant nécessaire à la récupération du patient. L'objectif de ce projet est de développer un hydrogel thérapeutique implantable, spécifique des cellules de GBM résiduelles après chirurgie, qui comblera ce vide pour assurer la continuité du traitement des patients atteints de GBM.

Méthode : Un hydrogel de nanocapsules lipidiques (NCLs) auto-associées, sans matrice polymère, encapsulant un actif thérapeutique à base de gemcitabine (GemC12), a été développé et les NCLs ont été combinées à un peptide de ciblage du GBM : le NFL-TBS.40-63 (NFL). L'efficacité de l'hydrogel et des NCLs libérées a été évaluée *in vitro* sur des modèles cellulaires et *in vivo* sur un modèle murin de résection de GBM.

Résultats : L'hydrogel permet la libération progressive des NCLs chargées en GemC12 et des résultats prometteurs montrent l'efficacité thérapeutique *in vivo* de cet implant dans des modèles murins de résection de GBM (Bastiancich, *J. Control. Release*, 2016 et 2017). Cependant, les NCLs libérées ne sont pas spécifiques des cellules de GBM d'où l'intérêt de l'utilisation d'un agent de ciblage tel que le peptide NFL (Balzeau, *Biomaterials*, 2013). Celui-ci est totalement et instantanément adsorbé à la surface des NCLs, sans modifier les propriétés mécaniques de l'hydrogel, et reste totalement associé aux NCLs après la dissolution de l'hydrogel. Les études *in vitro* sur des lignées cellulaires de GBM montrent une internalisation plus rapide des NCLs en présence du peptide NFL et une cytotoxicité améliorée. Enfin, les études *in vivo* sur le modèle murin de résection de GBM prouvent la meilleure spécificité des implants dans lesquels le NFL est adsorbé à la surface des NCLs.

Conclusion : Les implants développés montrent des résultats prometteurs et pourront servir de plateforme d'actifs thérapeutiques, complémentaires du protocole de Stupp, pour remettre le patient dans une démarche thérapeutique proactive plutôt que l'approche passive actuelle.

Le canal sodique dépendant du voltage $Na_v1.5$ contrôle les propriétés invasives et le phénotype mésenchymateux dans le cancer du côlon

O. Lopez-Charcas ⁽¹⁾, L. Poisson ⁽¹⁾, R. Lemoine ⁽¹⁾, O. Benouna ⁽¹⁾, A. Petereau ⁽¹⁾, W. Lahlou ⁽¹⁾, M. Ouaiïssi ^(1,2), D. Shilpa ⁽⁴⁾, S.E. Velu ⁽⁴⁾, S. Guyétant ⁽⁵⁾, P. Besson ⁽¹⁾, D. Moussata ^(1,3), S. Roger ⁽¹⁾

- (1) Université de Tours, EA4245 Transplantation, Immunologie et Inflammation, 37032 Tours, France
- (2) Service de Chirurgie viscérale et oncologique, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37000 Tours, France
- (3) Service d'hépatogastroentérologie et de cancérologie digestive, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37000 Tours, France
- (4) Department of Chemistry, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL 35294-1240, USA
- (5) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37000 Tours, France

Introduction : Le cancer colorectal est la deuxième cause de mortalité dans le monde, avec plus de 250 000 décès par an. Le stade métastatique de la maladie est identifié dans 20 % des cas lors du premier diagnostic et affecte fortement la survie des patients. La détection et la résection précoces des lésions pré-néoplasiques et des tumeurs de bas grade de l'épithélium intestinal sont essentielles pour améliorer les chances de survie des patients. Les canaux sodiques dépendants du voltage (Na_v), à la fois les sous-unités principales $Na_v\alpha$ que les sous-unités auxiliaires $Na_v\beta$, sont anormalement régulés dans plusieurs carcinomes et sont fortement associés au comportement métastatique des cellules cancéreuses.

Méthode : Dans cette étude, nous avons évalué les niveaux d'expression (ARNm et protéine) et d'activité (courant ionique) des sous-unités $Na_v\alpha$ dans plusieurs lignées cellulaires humaines de cancer du côlon ainsi que leur participation dans les capacités invasives en utilisant des tests d'invasion en 2 et 3 dimensions.

Résultats : Dans toutes les lignées de cellules cancéreuses testées, les transcrits de *SCN5A* (codant pour $Na_v1.5$) et *SCN8A* (codant pour $Na_v1.6$) étaient les isoformes les plus abondamment exprimées. De plus, des courants médiés par $Na_v1.5$ ont été enregistrés au niveau de la membrane plasmique des cellules cancéreuses. L'inhibition de l'expression de *SCN5A*, ou l'inhibition de l'activité de $Na_v1.5$ à l'aide de la térodotoxine, réduit l'expression des marqueurs mésenchymateux et augmente l'expression de marqueurs épithéliaux, suggérant son implication dans la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM). $Na_v1.5$ contribue au potentiel invasif des cellules cancéreuses du côlon par l'activation allostérique de l'échangeur Na^+-H^+ de type 1 (NHE1) et l'efflux de protons. Celui-ci est par ailleurs surexprimé dans les biopsies de patients atteints de cancer colorectal, par rapport aux tissus non cancéreux appariés. En outre, de petites molécules chimiques nouvellement synthétisées pour bloquer $Na_v1.5$ montrent une inhibition efficace des courants sodiques, de l'invasivité et la TEM dans les cellules cancéreuses du côlon.

Conclusion : Le canal $Na_v1.5$ favorise un phénotype mésenchymateux agressif et son inhibition diminue le pouvoir invasif des cellules cancéreuses. Ceci suggère l'intérêt de son ciblage moléculaire pour de nouvelles thérapies anticancéreuses.

Les inhibiteurs de checkpoint immunitaires sont associés à une amélioration de la survie chez des patients atteints de carcinome de Merkel avancé ou métastatique : résultats d'une cohorte en vie réelle de 98 patients

Auteurs : A. Marchand (1, 2), B. Dreno (2, 3, 4, 5), J. Cassecuel (3, 4, 5), Y. Le Corre (6), A. Caille (7, 8), C. Pottier (1, 2), F. Aubin (9), E. Wierzbicka Hainault (10), G. Bens (11), N. Beneton (12), M. Samimi (1, 2, 13, 14)

- (1) Dermatologie, CHRU TOURS
- (2) Institut de Dermatologie du Grand Ouest, IDGO
- (3) Dermatologie, CHU Nantes
- (4) CIC 1413
- (5) CRCINA INSERM 1232, Nantes
- (6) Dermatologie, CHU Angers, Angers
- (7) INSERM CIC 1415
- (8) INSERM SPHERE U1246, TOURS
- (9) Dermatologie, CHU Besançon
- (10) Dermatologie, CHU Poitiers
- (11) Dermatologie, CHR Orléans
- (12) Dermatologie, CHR le Mans
- (13) BIP ISP 1282 INRA
- (14) Université de Tours

Introduction : Le carcinome de Merkel (CCM) est un cancer neuroendocrine cutané rare, agressif. Le traitement conventionnel du CCM métastatique est la chimiothérapie à base de sels de platine. Récemment, l'immunothérapie par inhibiteurs de checkpoints immunitaires (ICI) a montré des résultats encourageants chez les patients ayant un CCM. Sa place dans la stratégie thérapeutique reste cependant discutée en l'absence d'essais comparatifs. Notre objectif était d'évaluer l'efficacité des ICI en comparaison aux autres traitements systémiques, en vie réelle, chez les patients atteints de CCM avancé ou métastatique.

Méthode : Nous avons extrait les données de 98 patients ayant eu un traitement systémique pour un CCM avancé ou métastatique, à partir d'une cohorte historico-prospective de 413 patients inclus dans 10 hôpitaux français de 1998 à 2021. Les patients étaient classés selon le type de traitement systémique reçu au cours de la maladie métastatique : au moins une ligne d'ICI ; absence d'ICI mais au moins une ligne de chimiothérapie ; absence d'ICI ou de chimiothérapie mais au moins une ligne d'un autre traitement. Le critère de jugement principal était la survie globale. Les critères de jugement secondaires étaient la survie spécifique liée au cancer, la meilleure réponse observée, le délai d'obtention de la première réponse, la durée de traitement, les arrêts dus à une toxicité.

Résultats : Le temps de suivi médian était de 34,2 mois (IC95% 22,4 – 41,0). Cinquante-deux patients ont reçu au moins une ligne d'ICI. Parmi les 46 patients restants, 29 ont eu au moins une ligne de chimiothérapie et 17 n'ont reçu que d'autres traitements (analogues de la somatostatine et inhibiteurs de tyrosine kinase). La survie médiane dans le groupe « ICI » était de 48,6 mois (IC95% 13,3 – 59,3), contre 4,3 mois (IC95% 4,1 – 5,6) dans le groupe « chimiothérapie » et 4,8 mois (IC95% 2,6-13,6) dans le groupe « autres traitements » ($p < 0,0001$). La durée de traitement était plus longue dans le groupe « immunothérapie » (médiane 4,9 mois, IC95% 3,5-12,5) que dans le groupe « chimiothérapie » (médiane 2,8 mois, IC95% 2,2 – 3,3) et « autres traitements » (médiane 2,0 mois, IC95% 1,1 – 2,7) ($p < 0,0001$). Il y avait moins d'arrêt pour toxicité dans le groupe « ICI » (NS).

Conclusion : Dans cette cohorte en vie réelle de 98 patients atteints de carcinome de Merkel avancé ou métastatique, l'immunothérapie par ICI était associée à une survie allongée en comparaison aux autres modalités thérapeutiques, avec une bonne tolérance. Ces résultats sont en faveur du recours à l'immunothérapie dans le carcinome de Merkel avancé ou métastatique.

Lipophagie et cancer de la prostate

A. Fontaine¹, L. Brisson², D. Bellanger², F. Bruyère³, G. Fromont^{1,2}

(1) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Hôpital Bretonneau, CHU-Tours, 2 Bd Tonnellé, 37000 TOURS

(2) INSERM U1069-1 Nutrition Croissance Cancer, faculté de Médecine de Tours, Bd Tonnellé 37000 TOURS

(3) Service d'Urologie, Hôpital Bretonneau, CHU-Tours, 2 Bd Tonnellé, 37000 TOURS

Introduction : La progression du cancer de prostate (CaP) est marquée par l'infiltration du tissu adipeux périprostatique (TAPP), constitué d'adipocytes, par les cellules tumorales. La lipophagie, autophagie spécifique de lipides, pourrait permettre d'approvisionner ces cellules en énergie et favoriser leur progression. L'objectif est d'identifier des marqueurs de lipophagie dans le CaP, de les corrélés aux marqueurs d'agressivité, et d'évaluer l'influence des adipocytes du TAPP sur la lipophagie.

Matériel-Méthodes : Nous avons analysé par immunohistochimie sur un total de 438 CaP l'expression de marqueurs de l'autophagie (p62, LC3), des gouttelettes lipidiques (GL) (PLIN), du récepteur aux androgènes (RA), de prolifération (Ki67) et de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) (Zeb1). Les GL ont également été évaluées par l'huile rouge sur coupes congelées. Des co-cultures d'adipocytes et de lignées de CaP ont recherché l'influence du TAPP sur la lipophagie.

Résultats : Il existe une corrélation entre marqueurs des GL et de l'autophagie dans le CaP. Ces marqueurs sont associés aux marqueurs d'agressivité du CaP (ISUP, pTNM, prolifération, TEM) et à l'expression du RA. Dans les cancers pT3, ces marqueurs sont plus exprimés dans les zones extraprostatiques. Il existe in vitro une diminution de l'activité de l'autophagie et une augmentation de la lipophagie et des GL dans les cellules de CaP au contact d'adipocytes.

Conclusion : Il existe une lipophagie fonctionnelle dans le CaP, en lien avec l'agressivité de la maladie. Nous retrouvons une influence du TAPP sur l'activité de la lipophagie et de l'autophagie, pouvant refléter l'adaptation et la survie des cellules tumorales.

Manifestations cliniques et prise en charge du granulome annulaire chez l'enfant : revue systématique de la littérature

Auteurs : MA Marie. Albert (1,2), AM Annabel. Maruani (1,2,3), SL Sophie. Leducq (1,2,3)

- (1) Département de Dermatologie et Centre de référence des maladies rares et malformations vasculaires, CHRU Tours, France
- (2) Unité de Dermatologie Pédiatrique, CHRU Tours, France
- (3) Université de Tours et Nantes, INSERM 1246–SPHERE, 37000 Tours, France

Introduction : Le granulome annulaire (GA) est une dermatose inflammatoire affectant principalement l'enfant. L'étiologie du GA reste inconnue et la prise en charge thérapeutique nécessite d'être clarifiée. L'objectif de cette étude était de décrire les caractéristiques cliniques, la prise en charge thérapeutique et l'évolution du granulome annulaire dans la population pédiatrique.

Méthode

La recherche documentaire a été faite en janvier 2021. Était éligible toute publication avec un diagnostic de granulome annulaire dans la population pédiatrique (patients âgés de 0 à 18 ans).

Résultats : La recherche initiale a identifié 2440 articles ; pour 371 d'entre eux le texte intégral a été analysé. Nous avons finalement inclus 202 publications (836 patients) : 165 cas cliniques et 37 séries de cas. L'âge moyen était de 5,7 ans (\pm 3,8) avec un ratio F:H de 1,3. Les formes localisées (n=384, 46,8%) et sous-cutanées (n=353, 43,0%) étaient les plus fréquentes. La principale localisation du GA était les membres inférieurs (47,9% soit 272/568 patients). Les facteurs de risque présumés les plus fréquents étaient les traumatismes locaux. Vingt-deux patients (2,6%) étaient atteints d'un diabète. Un taux élevé de rémission spontanée était observé (91,1%, n=163/179) avec un délai médian de 9 mois. Différents traitements ont été utilisés mais on observait principalement l'utilisation de la chirurgie et des dermocorticoïdes. Une récurrence était observée dans 38,0% des cas (161/441 patients) quel que soit la stratégie thérapeutique.

Conclusion : Une régression spontanée est fréquemment observée dans le GA pédiatrique avec cependant un taux de récurrence élevé. Par conséquent, les traitements invasifs ne devraient pas être recommandés en 1^{ère} ligne dans les GA asymptomatiques.

Modélisation de la pharmacocinétique du cétuximab médiée par la cible EGFR dans le cancer colorectal métastatique : L'occupation de la cible est associée à l'efficacité du cétuximab

Auteurs : S. Lobet (1), G. Paintaud (2,3), N. Azzopardi (4), C. Passot (5), M. Caulet (6), R. Chautard (1,6), C. Desvignes (2,3), O. Capitain (5), D. Tougeron (7), D. Ternant (2,3), T. Lecomte (1,6)

- (1) Inserm UMR 1069, Nutrition Croissance et Cancer (N2C), Tours, France
- (2) EA4245 Transplantation, Immunologie, Inflammation (T2i), Tours, France.
- (3) Département de Pharmacologie, CHRU Tours, France.
- (4) EA7501 GICC, Team PATCH, Tours, France.
- (5) INSERM U892, Institut de Cancérologie d'Angers, France.
- (6) Département de gastroenterologie et oncologie digestive, CHRU Tours, France
- (7) Département de gastroenterologie, CHU Poitiers, France

Introduction : Le cétuximab (CTX) est un anticorps monoclonal (AcM) utilisé dans le traitement du cancer colorectal métastatique (CCRM). Il se lie à sa cible (EGFR) avec une grande affinité conduisant à la formation de complexes CTX-EGFR qui sont éliminés par plusieurs mécanismes. L'augmentation de l'élimination médiée par la cible est due à un renouvellement élevé de la cible et/ou à une élimination rapide des complexes conduisant à une élimination dite non linéaire. La cinétique conjointe de l'AcM et de sa cible sont décrites à l'aide de modèles pharmacocinétiques (PK) de disposition médiée par la cible (TMDD). De plus, il a été rapporté qu'une clairance globale accrue était associée à une survie sans progression (SSP) plus courte chez les patients. Cela suggère qu'une survie plus courte est associée à une plus grande consommation de CTX, et donc à des quantités d'EGFR plus élevées. Par conséquent, l'efficacité du CTX peut être associée à l'occupation de la cible (TO) plus qu'à son exposition. Les objectifs étaient de développer un modèle TMDD permettant la description de la cinétique de l'EGFR suite au traitement par CTX et d'étudier sa relation avec la survie des patients.

Méthode : Ce travail était une réanalyse d'une étude ancillaire multicentrique de phase II chez des patients atteints de CCRM. 91 patients ont reçu une dose de charge de 400mg/m² suivie de perfusions hebdomadaires de 250 mg/m² de CTX. La PK du CTX a été décrite par un modèle TMDD à deux compartiments selon l'approximation de quasi-stationnarité (QSS) à l'aide d'une approche de population. La relation entre plusieurs métriques décrivant TO et la SSP des patients a été étudiée en utilisant un modèle de risque proportionnel de Cox. Les concentrations de CTX (C) et d'EGFR libre (R) ont été simulés pour plusieurs schémas posologiques (250mg/m² une fois par semaine (250 QW), 500mg/m² toutes les deux semaines (500 Q2W) et 750mg/m² toutes les trois semaines (750 Q3W)).

Résultats : La PK du CTX a été décrite de manière satisfaisante par le modèle TMDD. Il a été mis en évidence qu'une concentration EGFR libre $R_{42\text{jours}}$ élevée était associée à une survie plus faible (HR [IC90%] =2.2 [1.4-3.6] ; P=0.0011). La SSP médiane était presque triplée chez les patients dont $R_{42\text{jours}} \leq 0.014$ nM par rapport aux autres (respectivement 9.0 vs. 3.3 mois). Les simulations ont mis en évidence que la valeur médiane $R_{42\text{jours}}$ varie très peu alors que la dispersion interindividuelle augmente fortement entre les posologies 250 QW et 750 Q3W.

Conclusion : Il s'agit de la première étude décrivant la PK du CTX à l'aide d'un modèle TMDD. Notre modèle a permis de quantifier la cinétique de l'EGFR, qui est associée à la SSP. La quantité estimée de récepteur libre pourrait être un meilleur prédicteur d'efficacité que l'exposition au cétuximab. L'augmentation de la dispersion de l'occupation de la cible est un facteur d'incertitude d'efficacité chez certains patients. L'augmentation du délai entre deux administrations pourrait ne pas convenir aux patients dont le R_0 est élevé.

Nanocristaux d'acide ursolique contre la résistance au témozolomide dans la prise en charge du glioblastome

Auteurs : M. Sicot (1), P. Saulnier (1), G. Bastiat (1)

(1) Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

Introduction : Le glioblastome (GBM) est aujourd'hui pris en charge en suivant le protocole de Stupp qui consiste en une résection chirurgicale suivie d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie au témozolomide (TMZ) : un agent alkylant. L'une des causes de résistance au traitement est l'expression de la 6O-méthylguanine-ADN-méthyltransférase (MGMT) que l'on retrouve chez environ 45% des patients atteints de GBM [1]. La MGMT est une voie de réparation de l'ADN, qui retire naturellement les groupements méthyles de celui-ci [2], diminuant ainsi l'effet du TMZ. L'objectif de cette étude est de formuler des nanocristaux à l'aide d'un inhibiteur de la MGMT : l'acide ursolique (UA) [3], qui pourront être utilisés pour restaurer la sensibilité au TMZ dans la prise en charge du GBM.

Méthode : L'effet de l'inhibition de la MGMT par l'UA a été étudié sur deux lignées cellulaires de GBM : T98 (MGMT-positives) et U-87 MG (MGMT-négatives). Les nanocristaux d'UA (NC-UA) ont été formulés (précipitation par effet antisolvant) et caractérisés. Leur internalisation dans les lignées cellulaires a été étudiée, ainsi que la possibilité de visualiser leur déstabilisation à l'aide d'un signal FRET.

Résultats : L'UA a permis d'observer une diminution des transcrits de la MGMT et de l'expression de la protéine dans les cellules MGMT-positives. Les NC-UA ont été formulés avec une taille d'environ 200 nm, qui varie peu suivant les conditions de formulation. La technique FRET permet d'observer la déstabilisation des NC-UA et ils ont pu être internalisés dans les cellules exprimant la MGMT après 6h de contact.

Conclusion : L'UA permettant l'inhibition de l'expression de la MGMT et les NC-UA étant internalisés, ces résultats sont prometteurs pour le traitement des GBM résistants au TMZ, en combinant les NC-UA et l'agent alkylant.

Références :

[1] Hegi ME. et al. (2005), MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma, *New England Journal of Medicine* 352 (10) 997-1003

[2] Tiwari S. and Chand Mishra P. (2009), A quantum chemical study of repair of O6-methylguanine to guanine by tyrosine: Evaluation of the winged helix-turn-helix model, *Journal of Molecular Modeling* 15 (11) 1407-1415

[3] Zhu Z. et al. (2016), Ursolic acid attenuates temozolomide resistance in glioblastoma cells by downregulating O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) expression, *American Journal of Translational Research* 8 (7) 3299-3308

Profil mutationnel au diagnostic de SMP mutés *CALR* et architecture clonale

Auteurs : L. Aubin (1), F. Boyer (2), JC. Ianotto (3), K. Laribi (4), C. Bescond (5), M. Truchan-Graczyk (6), C. Orvain (2), L. Sureau (1), C. Lamy (1), R. Jouanneau-Courville (1), M. Renard (1), J. Riou (7), Y. Delneste (8), JM. Chrétien (9), A. Schmidt (2), M. Hunault-Berger (2), O. Blanchet (10), E. Lippert (11), D. Luque Paz (8), V. Ugo (8) et L. Cottin (8)

- (1) CHU Angers, Laboratoire d'Hématologie, Angers, France
- (2) CHU Angers, Maladies du Sang, Angers, France
- (3) CHRU Brest, Service d'Hématologie Clinique, Brest, France
- (4) CH Le Mans, Hématologie clinique, Le Mans, France
- (5) CH Cholet, Hématologie clinique, Cholet, France
- (6) CH de Saumur, Hématologie clinique, Saumur, France
- (7) INSERM, UMR 1066, CNRS 6021, MINT, Université d'Angers, Angers, France
- (8) Univ Angers, Université de Nantes, CHU Angers, Inserm, CRCINA, SFR ICAT, F-49000 Angers, France
- (9) CHU Angers, DRCI Cellule de Gestion des Données et Evaluation, Angers, France
- (10) CHU Angers, Centre de Ressources Biologiques, BB-0033-00038, Angers, France
- (11) CHRU Brest, Laboratoire d'Hématologie, Brest, France

Introduction : La thrombocytémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP) sont des hémopathies myéloïdes appartenant au groupe des syndromes myéloprolifératifs (SMP). Il existe un continuum entre ces maladies avec la définition récente d'une nouvelle entité : la pré-myélofibrose (pré-MF). Les mutations du gène *CALR*, découvertes en 2014, sont retrouvées chez environ un tiers de ces patients et constituent un élément indispensable au diagnostic. D'autres mutations somatiques, dites additionnelles, peuvent également être détectées et pourraient influencer le pronostic de ces maladies. L'objectif de ce travail était d'étudier, au diagnostic, la charge allélique des mutations de *CALR* et le profil mutationnel étendu selon le type de SMP avec mutation de *CALR*.

Patients et Méthodes : La charge allélique des mutations de *CALR* et la présence de mutations additionnelles recherchées par séquençage de nouvelle génération (NGS) ont été évaluées au diagnostic par analyse de fragments pour 140 patients atteints de TE, de MFP ou de pré-myélofibroses. Pour 13 patients en cours de suivi, une analyse de l'architecture clonale à partir de culture de progéniteurs érythroblastiques a été réalisée.

Résultats : L'analyse a porté sur 85 TE, 38 MFP et 17 pré-MF. Les MFP avaient une charge allélique plus élevée que les TE (médiane = 44.4% [36.9 ; 46.8] vs 30.0% [20.9 ; 39.0], $p < 0.001$), sans différence selon le type de mutation de *CALR*. Dans la pré-MF, la charge allélique était intermédiaire avec une médiane des charges alléliques de 34.7% [29.8 ; 41.1], sans différence significative avec les 2 autres groupes. L'analyse du NGS a montré que la présence de mutations additionnelles décrites de pronostic défavorable entraînait une diminution de la survie globale. L'analyse du statut mutationnel de *CALR* dans les colonies érythroblastiques retrouvait des colonies homozygotes pour 2 patients qui avaient présentés une évolution hématologique péjorative durant le suivi.

Conclusion : La charge allélique de *CALR* au diagnostic semble être différente selon le type de SMP. L'impact pronostique péjoratif des mutations de « haut risque » semble présent dans ce groupe de patients avec mutation de *CALR*.

Une nouvelle approche thérapeutique ciblant le CD56 dans le carcinome à cellules de Merkel

CE Clara. Esnault (1-2), VL Valérie. Leblond (1), RH Roland. Houben (2), DS David. Schrama (2), AD Audrey. Desgranges (3), SG Serge. Guyétant (1-4), AT Antoine. Touzé (1), MS Mahtab. Samimi (1-5), TK Thibault. Kervarrec (1-4).

- (1) Biologie des infections à polyomavirus UMR INRAE ISP 1282 - Tours (France).
- (2) Department of dermatology, venereology and allergology, University Hospital Würzburg, - Würzburg (Allemagne).
- (3) McSAF - Tours (France).
- (4) Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Université de Tours, CHRU de Tours - Tours (France).
- (5) Service de dermatologie, Université de Tours, CHRU de Tours - Tours (France).

Introduction : Le carcinome à cellules de Merkel (CCM) est un cancer cutané neuroendocrine rare mais agressif. Les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire ont révolutionné le traitement des patients atteints de CCM de stade IV, la moitié des cas ne répondent pas à cette thérapie. L'expression du CD56 a été observée dans 66% des CCM confirmant la pertinence de cette cible thérapeutique. Le but de cette étude est d'évaluer les performances thérapeutiques d'un nouvel immunoconjugué, Adcitmer[®], ciblant le CD56 dans un modèle préclinique de CCM.

Méthode : Tout d'abord, l'expression du CD56 a été évaluée dans une cohorte de CCM (immunohistochimie sur 90 échantillons de tumeurs) et sur les lignées de CCM. L'interaction entre l'immunoconjugué et les cellules de CCM exprimant le CD56 a été évaluée par immunohistochimie et par imagerie couplée à la cytométrie en flux. La toxicité de l'immunoconjugué a été évaluée *in vitro* sur les lignées de CCM et *in vivo* sur un modèle de xénogreffe de CCM.

Résultats : La reconnaissance spécifique du CD56 et l'internalisation de l'immunoconjugué a été démontrée. L'évaluation *in vitro* a confirmé un effet cytotoxique de l'immunoconjugué sur les lignées de CCM et l'effet sur le cycle cellulaire a été démontré. Pour finir, l'impact sur la croissance tumorale a été mis en évidence dans un modèle de xénogreffe de CCM.

Conclusion : L'immunoconjugué présente une cytotoxicité spécifique dans un modèle préclinique de CCM. Cette molécule est une option thérapeutique prometteuse pour les patients atteints de CCM en échec de traitement ou en combinaison avec les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire.

Données de vie réelle sur la prescription des concentrés de C1-inhibiteur et de l'icatibant dans les angioedèmes bradykiniques – Etude REPRECISION

Auteurs : S. Rocour (1), B. Cochard (2), L. Martin (1), M. Corvaisier (2)

(1) Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France

(2) Service de Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France

Introduction : Les concentrés de C1-inhibiteur et l'icatibant sont indiqués dans le traitement de l'angioedème héréditaire par déficit en C1-inhibiteur (AOH-C1INH). Cependant, en l'absence de recommandations précises, ces médicaments sont également souvent prescrits hors AMM dans d'autres types d'angioedème bradykinique, en particulier dans l'angioedème lié aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion (AO-IEC), et dans les angioedèmes de mécanisme indéterminé.

Méthode : Nous avons réalisé une étude rétrospective des prescriptions intra-hospitalières de concentrés de C1-inhibiteur et d'icatibant entre 2016 et 2020, au CHU d'Angers, afin d'étudier les indications thérapeutiques réelles de ces médicaments. Le critère de jugement principal était la proportion de prescriptions avec une indication explicite. Ensuite, nous avons déterminé la validité des indications par rapport aux AMM et aux recommandations françaises de prise en charge de l'angioedème. Enfin, nous avons estimé le coût économique des prescriptions jugées inappropriées.

Résultats : L'indication était explicite dans 90,4% des prescriptions (n = 66/73). Seulement 17,8% étaient pour un AOH-C1INH, alors que 31,5% étaient pour un AO-IEC et 28,7% pour un angioedème de mécanisme indéterminé. Les prescriptions conformes à l'AMM représentaient 17,8% des prescriptions. La plupart des prescriptions hors AMM étaient conformes aux recommandations (73,3%). Nous avons estimé que 13% des dépenses en médicaments de l'AOH étaient potentiellement excessives.

Conclusion : La prédominance de prescriptions hors AMM peut s'expliquer par la rareté de l'AOH-C1INH et l'absence de traitement validé dans les autres types d'angioedème. La plupart des poussées d'angioedème étaient liées aux IEC. On notait une sous-utilisation de l'adrénaline dans les poussées d'angioedème indéterminé. En raison du coût de ces médicaments et de l'absence d'alternative dans les angioedèmes non liés à un déficit héréditaire en C1-inhibiteur, nous suggérons la mise en place d'un algorithme de prise en charge de l'angioedème au CHU d'Angers et d'interventions de pharmacie clinique afin d'améliorer la prescription hors AMM.

Efficacité et tolérance à long terme du traitement topique par rapamycine des angiofibromes faciaux dans la sclérose tubéreuse de Bourneville

N.Sigg (1), J.Fouquet (1), D.Morin (1), D.Farges (1), S. Vrignaud (2), L.Martin (1)

1 : Service de Dermatologie, CRMR MAGEC Nord, CHU Angers

2 : Pharmacie, CHU Angers

Introduction

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie génétique autosomique dominante liée à la mutation de deux gènes suppresseurs de tumeurs inhibant la voie mTOR. La principale manifestation dermatologique de la STB est la survenue d'angiofibromes (AF), papules érythémateuses centro-faciales affichantes, survenant à l'âge scolaire. La rapamycine topique est un traitement efficace des AF. En l'absence de spécialité commerciale, de nombreuses formulations existent mais elles n'ont été évaluées qu'à court terme. Notre étude s'intéresse à l'efficacité et la tolérance à long terme d'une crème comprenant de la rapamycine (0,1 ou 0,25%), du Transcutol° et de l'Excipial Hydrocrème°.

Matériel et méthodes

Un questionnaire de 14 questions était adressé à tous les patients traités dans le cadre d'une STB. Il s'intéressait à l'utilisation (arrêts / reprises / rythme d'application), l'efficacité et la tolérance (effets secondaires) tout au long de l'application de cette préparation hospitalière.

Résultats

Sur 113 patients concernés, 79 étaient inclus avec un âge moyen de 30 ans (5-74). Le temps de traitement moyen était de 33 mois (1-60). 62 patients continuaient d'appliquer la crème lors de l'enquête. Sur les 17 arrêts, 5 étaient liés à une efficacité insuffisante et un à une mauvaise tolérance. Après un arrêt temporaire ou définitif, 67% des patients avaient noté une réapparition de leurs AF. L'évaluation de la tolérance et de l'efficacité était faite sur des échelles allant de 0 à 10. 67,1% des patients évaluaient l'efficacité supérieure ou égale à 8/10 et 84,8% des patients la tolérance supérieure ou égale à 8/10. Les effets secondaires rapportés étaient des picotements lors de l'application de la crème.

Conclusion

Comme rapporté dans la littérature, notre étude confirme la bonne efficacité, bien que suspensive, de la rapamycine topique sur les AF de la STB. La crème est plus efficace chez les enfants, qui présentent des AF moins fibreux. Cette efficacité s'associe à une très bonne tolérance. Aucun effet indésirable grave n'a été notifié dans une cohorte conséquente de 79 patients. L'intérêt de notre étude était de confirmer l'efficacité et la tolérance de cette molécule sur une étude de long terme avec un suivi moyen de 33 mois.

Épidémiologie, facteurs de risque et stratégie diagnostique en imagerie multimodale des thrombi intra ventriculaires gauches après infarctus du myocarde avec élévation du segment ST ; suivi monocentrique d'un an.

A. FUZEAU (interne CHRU Tours), A. BERNARD (PUPH CHRU Tours)

Introduction : Évaluer la prévalence de thrombus intra Ventriculaire Gauche (VG) après un syndrome coronarien aigu avec élévation du segment ST (SCA ST+) par Echographie TransThoracique (ETT) et Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), identifier les patients à risque et proposer grâce à cela la meilleure stratégie diagnostique.

Méthode : 330 patients ont été inclus dans trois études prospectives au CHRU de Tours (CARIM, COVERT MI et HIBISCUS) nécessitant chacune une ETT et une IRM dans les suites immédiates d'un SCA ST+. 136 patients ont finalement eu ces deux examens et un suivi prospectif d'un an. Les données cliniques, biologiques, échographiques et radiologiques de ces patients ont ensuite été analysées rétrospectivement.

Résultats : 12 patients (8.8%) ont présenté un thrombus intra VG dont 5 détectés uniquement par IRM et un uniquement par ETT. La sensibilité ETT vs IRM est de 54%. Chez les 5 patients sur 12 avec un thrombus non vu en ETT mais vu en IRM, l'examen en coupe a été réalisé en moyenne à J10 de l'ETT vs J5 pour les patients dont le thrombus a été objectivé dans les deux modalités. Les facteurs de risque identifiés comme plus fréquents chez les patients porteurs de thrombus sont : un SCA ST+ antérieur (100% vs 47% ; $p<0.001$), intéressant l'Interventriculaire Antérieure (100% vs 46% ; $p<0.001$), une FEVG plus basse à l'admission (35% vs 46% ; $p<0.001$) et après revascularisation (45% vs 52% ; $p<0.001$), une akinésie antérieure (75% vs 20% ; $p<0.001$), et/ou apicale (92% vs 31% ; $p<0.001$), un anévrysme VG (42% vs 2% ; $p<0.001$), des volumes télédiastolique et télésystolique VG plus élevés (65 vs 55 ml/m² ; $p=0.04$ et 38 vs 27 mL/m² ; $p<0.01$), une ITV sous-aortique plus basse (17 vs 19 cm/s ; $p<0.01$), un Strain Global Longitudinal plus bas (-10 vs -14% ; $p=0.02$), la présence de fièvre au cours de l'hospitalisation (33% vs 12% ; $p=0.04$), un débit de filtration glomérulaire plus élevé (110 vs 95 ml/min/m² ; $p=0.01$), un taux de créatinine plus bas (65 vs 76 $\mu\text{mol/L}$; $p=0.04$), un pic de Créatine Phospho Kinase plus élevé (5773 vs 2776 UI/L ; $p<0.001$).

Conclusion : Le thrombus intra VG reste fréquent en post SCA ST+, surtout si infarctus antérieur, avec FEVG altérée et/ou VG dilaté. Il apparaît profitable aux patients de bénéficier d'une IRM systématique en cours d'hospitalisation en cas de facteurs de risque mais aussi

de poursuivre la recherche de thrombus intra VG au décours de la sortie chez ces mêmes patients.

Etude cas-témoins du déroulement de la grossesse chez des patientes ayant un antécédent de vascularite à IgA

Auteurs : MC. BESSE (1), F. PERROTIN (2), N. FERREIRA-MALDENT (1), F. MAILLOT (1), A. AUDEMARD-VERGER (1)

(1) Médecine interne immunologie clinique, CHRU de Tours, Tours

(2) Gynécologie Obstétrique, CHRU de Tours, Tours

Introduction : A ce jour, les données disponibles sur le déroulement de la grossesse chez des patientes ayant un antécédent de vascularite à IgA (V-IgA) sont parcellaires et peu robustes. L'objectif de cette étude était double : de déterminer l'influence de la V-IgA sur la grossesse et l'impact de cette dernière sur la vascularite.

Méthode : Nous avons conduit une étude française cas-témoin multicentrique. Ont été inclus, des patientes ayant un antécédent de V-IgA et ayant conduit une grossesse après ou pendant la V-IgA (cas), des patientes ayant un antécédent de V-IgA et ayant conduit une grossesse avant le diagnostic (témoins 1), et des patientes sans antécédent médicaux ayant accouché au CHRU de Tours (témoins 2).

Résultats : Quatre-vingt-treize grossesses ont été incluses (cas n=26, témoins1 n= 15 et témoins 2 n= 52). La seule différence en termes de comorbidités au moment de la grossesse était la proportion plus importante de néphropathie chronique dans le groupe des cas en lien avec la V-IgA ($p<0.01$). Il y avait plus d'hypertension artérielle gravidique (24% vs 0 vs 0, $p<0.01$), de pré-éclampsie (12% vs 7% vs 0% ; $p=0.04$) et de césarienne (27% vs 0 vs 10%, $p=0.04$) chez les cas par rapport aux deux groupes témoins. Les complications obstétricales hypertensives étaient observées plus fréquemment chez les patientes ayant une néphropathie chronique. Aucune prématurité ou mort fœtale n'a été observée. Un diagnostic de V-IgA a été posé en cours de grossesse, aucune nouvelle poussée n'est survenue. Une rémission a été observée.

Conclusion : Les patientes présentant un antécédent de V-IgA ont un risque plus important d'hypertension artérielle gravidique, de pré-éclampsie et de césarienne. Les complications hypertensives semblent liées à l'existence d'une néphropathie chronique séquellaire de la vascularite. Il ne semble pas y avoir de risque de poussée de la maladie au cours de la grossesse.

Etude de la réponse immuno-inflammatoire après infarctus du myocarde et de son implication dans le remodelage fibreux dans un modèle *in vitro*

E. Miquelestorena-Standley (1,2), A. V. Vinhais da Silva (1), S. Chadet (1), A. Héraud (1), R. Lemoine (1), F. Ivanès (1,3), D. Angoulvant (1,3)

(1) Université de Tours, EA4245 Transplantation, Immunologie, Inflammation, Tours, France

(2) CHRU de Tours, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Tours, France

(3) CHRU de Tours, Service de Cardiologie, Tours, France

Introduction : Lors de l'infarctus du myocarde (IDM), la nécrose des cardiomyocytes est à l'origine d'une inflammation aiguë suivie d'une phase de réparation aboutissant au développement d'une cicatrice fibreuse source de remodelage du myocarde. Chez certains patients, une inflammation persistante et/ou trop intense pourrait favoriser l'extension de cette fibrose. Les facteurs responsables de cette réponse inflammatoire sont mal connus mais pourraient impliquer certains récepteurs purinergiques, en particulier P2Y11, et une polarisation particulière de la réponse lymphocytaire T CD4. L'objectif de notre travail était de caractériser le profil immuno-inflammatoire de patients au décours d'un IDM et de mettre au point un modèle de co-culture *in vitro* impliquant les cellules immunitaires des patients et des fibroblastes cardiaques humains.

Méthode : Le sang de 182 patients ayant eu un IDM avec sus-décalage du segment ST revascularisé dans les 12 heures (cohorte Hibiscus-STEMI) a été collecté à différents temps après l'IDM et comparé à du sang de 27 donneurs sains. Les concentrations des chimiokines plasmatiques ont été mesurées par cytométrie en flux multiplex. Après isolement des cellules mononucléées circulantes (PBMC), les niveaux d'expression de *P2Y11R* et de gènes impliqués dans la tolérogénicité des cellules dendritiques (*HO1*, *CD39*, *STAT3*, *IDO*) et dans la polarisation des lymphocytes T (*CD3*, *CD4*, *CD8*, *TBX2*, *GATA3*, *RORC*, *FOXP3*) ont été étudiés par RT-qPCR. La répartition des différentes sous-populations de PBMC et le niveau d'expression protéique de P2RY11 ont été évalués par cytométrie en flux. Les PBMC de patients et de donneurs sains ont également été mises en co-culture avec une culture primaire de fibroblastes cardiaques humains pendant 1 jour (5 PBMC/1 fibroblaste). Les profils phénotypique et sécrétoire des fibroblastes ont ensuite été analysés par RT-qPCR (*ACTA2/VIM*, *COL1A1*), cytométrie en flux (α -SMA/vimentine), technique colorimétrique Sircol (collagène soluble) et ELISA (IL-6, TGF β).

Résultats : Dans les 48 heures après l'IDM, on observe une augmentation de la concentration des chimiokines CXCL10, CXCL9, CXCL8, CXCL1, CCL3 et CCL20 dans le plasma, des niveaux d'expression des gènes *P2Y11R*, *HO1*, *CD39*, *STAT3*, *CD4*, et de l'expression protéique de P2RY11 dans les PBMC. A l'inverse, on observe une diminution du niveau d'expression des gènes *IDO*, *CD3* et *CD8*, du ratio *TBX2/GATA3* (Th1/Th2) et du pourcentage de lymphocytes T CD3+. *In vitro*, nous avons mis en évidence une augmentation du ratio *ACTA2/VIM* et de *COL1A1* en présence de PBMC respectivement collectées à H24, M1, M6 et à H24, H48, M12 post-IDM. Nous montrons une augmentation du ratio α -SMA/vimentine dans les fibroblastes en présence de PBMC collectées à H48 et M12. Les PBMC à M1 post-IDM induisent une augmentation de la concentration en collagène et en IL-6 dans les surnageants de co-culture.

Conclusion : Nos résultats, obtenus sur une cohorte d'IDM de bon pronostic, montrent un profil réparateur dans les PBMC de patients collectées dans les 48 premières heures après l'IDM associant une surexpression du récepteur P2Y11, de gènes impliqués dans la tolérogénicité des cellules dendritiques (CD39 et STAT3) et une diminution du ratio Th1/Th2 de lymphocytes T CD4. *In vitro*, les PBMC prélevées à des temps tardifs semblent être responsables d'une transformation des fibroblastes vers un profil myofibroblastique, sécréteur de collagène.

Mesure et prise en charge pharmacologique de l'hypertension artérielle chez les patients transplantés rénaux : perspectives des patients et des médecins

A. Fillon¹, P. Gatault^{1,2}, M. Buchler^{1,2}, H. Longuet¹, C. Barbet¹, J.M. Halimi^{1,2,3}, B. Sautenet^{1,2,3,4}.

1 Service de Néphrologie-Hypertension, Transplantation Rénale, Dialyses, CHRU de Tours, Tours, France

2 Université François-Rabelais, Tours

3 FCRIN INI-CRCT Cardiovascular and Renal Clinical Trialists, Nancy, France

4 SPHERE-INSERM 1246, University of Tours and Nantes, Tours, France

Introduction : La mortalité cardiovasculaire est la première cause de décès chez les patients transplantés rénaux. L'hypertension artérielle (HTA), dont la prévalence est proche de 80% chez ces patients, est le premier facteur de risque cardiovasculaire modifiable. Les pratiques concernant la prise en charge de l'HTA chez les patients transplantés rénaux sont variées et les données scientifiques manquantes. L'objectif de cette étude est de décrire les pratiques concernant la mesure de l'HTA et sa prise en charge pharmacologique par les professionnels de santé, et de confronter les résultats aux données recueillies auprès des patients transplantés rénaux.

Méthode : Un questionnaire a été diffusé aux médecins assurant le suivi de patients transplantés rénaux en France et aux patients transplantés rénaux. Les questions concernaient la mesure de la pression artérielle (PA), sa prise en charge thérapeutique et l'observance.

Résultats : Nous avons obtenu les réponses de 78 néphrologues et 86 patients. Pour la prise en charge thérapeutique médicamenteuse de l'HTA, les professionnels de santé privilégient les inhibiteurs calciques puis les inhibiteurs du système rénine angiotensine en première intention (58 % et 37%). Dès lors qu'une trithérapie anti hypertensive est nécessaire, les néphrologues introduisent les diurétiques non épargneurs de potassium dans plus de la moitié des cas (51%), en l'absence de protéinurie. Concernant la mesure de la PA, les réponses des praticiens et des patients sont similaires pour 8 questions, mais 8 questions comportent des différences significatives, notamment au sujet des mesures ambulatoires de PA. Une majorité de patients ressentent une amélioration de leur qualité de vie liée au traitement de l'HTA (80,2%) et 71,4 % déclarent être observant.

Conclusion : La prise en charge thérapeutique de l'HTA est majoritairement faite en adéquation avec les recommandations KDIGO. La mesure de la PA ambulatoire est insuffisante et pourtant indispensable dans cette population à haut risque d'HTA résistante, d'HTA masquée et d'HTA nocturne. La mise en place d'études interventionnelles sur l'usage

de la mesure ambulatoire de PA chez les patients transplantés rénaux semble indispensable.

Métabolisme neuronal du cortex moteur primaire selon les variations de pressions artérielles lors de la station debout en population âgée

Auteurs : M. Asfar (1,2), M. Guenet (1), M. Labriffe (3,4), P. Ali (3,5), M. A. Custaud (3,6), M. Dinomais (3,5), C. Annweiler (1,2,7,8,9)

- (1) Département de Médecine Gériatrique, Centre de Recherche en Autonomie et Longévité, CHU Angers, France
- (2) Faculté de Médecine, Université d'Angers, France
- (3) UNIV ANGERS, Laboratoire Angevin de Recherche en Ingénierie des Systèmes, EA 7315, Université d'Angers, France
- (4) Département de Radiologie, CHU d'Angers, France
- (5) Département de Médecine Physique et Réadaptative, CHU d'Angers, France
- (6) Centre de Recherche Clinique, CHU d'Angers France
- (7) UNIV ANGERS, Laboratoire de Psychologie des Pays de la Loire, UPRES EA 4638, Université d'Angers, France
- (8) Gérontopôle Autonomie Longévité des Pays de la Loire, Nantes, France
- (9) Roberts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction : L'hypotension orthostatique (HO) est un phénomène commun chez les personnes âgées et responsables de multiples effets indésirables comme les chutes par altération du contrôle moteur. De précédentes études ont rapporté l'association entre HO et déclin cognitif avec un profil dysexécutif. Comprendre les mécanismes physiopathologiques entre variation de la pression artérielle en position debout et retentissement cérébral permettrait de mieux appréhender les effets de l'HO sur le fonctionnement neurocognitif. L'objectif de cette étude était de déterminer chez des adultes âgés si les variations de pression artérielle en position debout induisaient des modifications du métabolisme cérébral au niveau du cortex moteur primaire.

Méthode : Patients recrutés au sein de la cohorte « IRMarche » entre février 2015 et Mai 2017 au CHU d'Angers. Chaque participant a bénéficié d'une IRM cérébrale avec analyse spectrométrique (ratio N-acetyl-aspartate sur créatine NAA/Cr et ratio Choline sur créatine Cho/Cr), de mesures de pression artérielle en position allongée au repos et debout afin de calculer des pourcentages de variation de pression. L'association entre variation de pression et métabolisme cérébral a été évaluée grâce à une régression logistique ajustée sur des covariables d'intérêts.

Résultats : 29 participants (8% de femmes), la pression artérielle moyenne de la population était de 94.7 ± 10.8 mmHg. Le ratio NAA/Cr moyen du cortex moteur primaire était de

1.28±0.15, celui du ratio Cho/Cr était de 0.94±0.12. Aucune association entre variation de pression artérielle systolique ou diastolique et ratio de NAA/Cr ou Cho/Cr n'a été retrouvée dans notre population.

Conclusion : Les résultats de cette analyse ne retrouvent aucune association entre modification métabolique neuronale du cortex moteur primaire et variation de pression artérielle lors du passage de la position allongée à debout.

Post TAVI Percutaneous Coronary Intervention: toward new recommendations

H. Clogenson(1), M. Gourraud (2), C. Saint-Etienne (2)

(1) CIC-IT Inserm 1415, CHRU de Tour, France

(2) Département Cardiologie Interventionnelle, CHRU Tours, France

Introduction : Till the 2000s, aortic stenosis patients who could not undergo surgical repair due to extreme or high surgical risk were left without option of treatment. An endovascular approach was developed for this high-risk patient population where a stent-graft is implanted percutaneously without removing the sick valve: the Transcatheter Aortic Valve Implantation (TAVI). Since then, the results of numbers of trials have broadened TAVI indications to younger and lower surgical risk subjects as well. With younger patients, increasingly more post TAVI coronary angiography and/or angioplasty are being and will be performed (e.g., acute coronary syndrome or myocardial infarction). However, with a stent-graft in place, the meshes cover the access toward the coronary ostia and the procedure can be a real challenge. This means an increased fluoroscopy and procedure times, which can be detrimental for the patient. And hence the need for the development of specific techniques/devices to overcome these issues.

Methods: Building on conventional angiography/angioplasty interventions performed on lambda and TAVI patients, a number of catheters were pre-selected for specific in-vitro tests. A transparent silicone model has been made available, in which stent-valve are placed, in close to life condition thanks to a pulsative pump. Fluoroscopy images as well as videos of the tools in the transparent models enable tests and training, and simple and worse-case situations were simulated.

Results: High-position stent valve are the most complicated cases for cannulation of the coronary's arteries after TAVI. On average, the right coronaries are more challenging to reach thought the stent compared to the left coronaries. In addition, the anatomy of the patients has to be considered as well as the alignment of the stent-valve. Following these tests, a first protocol has been put forward for cannulation of the target vessel using conventional instruments.

Conclusion : Guide-catheters and selective coronary catheters were identified as the tools for easier cannulation after TAVI. They are now the starting point for more detailed geometry work, and the identification of the new dedicated tools. Furthermore, more challenging situations will have to be addressed later in this project, such as cannulation of the coronaries with a patient that underwent two TAVI, with "valve in valve" situations.

Association entre vitamine D et Motoric Cognitive Risk (MCR) syndrome chez le sujet âgé : résultats de la cohorte Gait and Alzheimer Interaction Tracking (GAIT).

Auteurs : MLF Maxime Le Floch (1) (2), JG Jennifer Gautier (1), CA Cédric Annweiler (1) (2) (3)

1 : Department of Geriatric Medicine, Angers University Hospital; Angers University Memory Clinic; Research Center on Autonomy and Longevity; UPRES EA 4638, University of Angers, UNAM, Angers, France; 2: School of Medicine; Health Faculty; University of Angers, France; 3: Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction: Le Motoric Cognitive Risk (MCR) syndrome associe plaintes cognitives et vitesse de marche lente. Il est récemment décrit comme un stade prodromal des troubles neurocognitifs majeurs ou démence. La vitamine D est une hormone connue pour être impliquée dans la physiologie de la marche et de la cognition. L'hypothèse principale est celle de la présence d'une hypovitaminose D chez les participants atteints de MCR syndrome comparativement à des participants sains. L'objectif de cette étude transversale était de mettre en évidence une association entre hypovitaminose D et MCR syndrome au sein des participants de la cohorte Gait and Alzheimer Interactions Tracking (GAIT

Méthode : Les participants non déments de la cohorte GAIT ont été classés en 2 groupes, un groupe sain et un groupe MCR. La concentration en 25-hydroxyvitamine D (25OHD) a été mesurée pour chacun des participants. L'âge, le sexe, le niveau d'éducation, l'indice de masse corporel (IMC), le score à la Batterie Rapide d'Efficiency Frontale (BREF), le score au Mini Mental Short Examination (MMSE), l'utilisation de psychotropes et le nombre de comorbidités ont été utilisés comme covariables. L'Hypovitaminose était retenue en cas de concentration inférieure au dernier quartile de 25OHD.

Résultats : Parmi les 244 participants de la cohorte GAIT (âge 71.4±3.7 ans, 40.6% de femme), 66 était classés dans la groupe MCR (36.9%) et 178 dans le groupe sain (63.1%). Une concentration en 25OHD inférieure au dernier quartile était associée au statut MCR (OR non ajusté=2.85, P=0.003/ OR ajusté =2.61, P=0.025). L'IMC (OR ajusté=6.65, P<0.001), le score MMSE (OR ajusté=0.74, P=0.009), le score BREF (OR ajusté=0.51, P<0.001), le nombre de comorbidités (OR ajusté=1.29, P=0.043) et l'usage de psychotropes (OR ajusté=2.55, P=0.044) étaient aussi associés au groupe MCR.

Conclusion : L'hypovitaminose D était associée au MCR syndrome chez des sujets âgés non déments.

Hypercalcemia as a Biomarker of Poor Prognosis in Frail Elderly Patients with COVID-19

Auteurs : D. Pamart (1,2), M. Otekpo (1,2), M. Asfar (1,2), G. Duval (2), J. Gautier (2), C. Annweiler (1,2, 3, 4, 5), pour le compte du groupe de travail GERIA-COVID 1

- (1) UFR médecine, Faculté de santé, Université d'Angers, Angers, France
- (2) Département de médecine gériatrique, Centre de recherche autonomie et longévité, CHU d'Angers, Angers, France
- (3) UPRES EA 4638, Université d'Angers, Angers, France
- (4) Gérontopôle Autonomie Longévité des Pays de la Loire, France;
- (5) Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, ON, Canada

Introduction : L'objectif de cette étude de cohorte est de déterminer si l'hypercalcémie au début de l'infection à la COVID-19 est associée à une mortalité à 3 mois chez les patients âgés fragiles.

Méthode : Les concentrations en calcium et albumine à l'admission hospitalière et à 3 mois mortalité toutes causes sont évaluées chez des patients atteints de la COVID-19 présentant des concentrations en calcium supérieures à la normale et hospitalisés dans le service de Gériatrie. L'hypercalcémie est définie comme calcium corrigé > 2.5 mmol/L. Les potentiels facteurs confondants sont âge, sexe, capacité fonctionnelle, cancer, hypertension, cardiomyopathie, nombre de pathologies aiguës intercurrentes, utilisation d'antibiotiques et de traitements respiratoires.

Résultats : Quarante-quatorze participants (moyenne ± SD 88.0 ± 5.5 years; 47.9% de femmes; 22.3% avec hypercalcémie; 0% avec hypocalcémie) sont inclus. Les soixante-cinq participants en vie après 3 mois présentent moins d'hypercalcémie que les autres (13.9% versus 41.4%, P=0.003). L'hypercalcémie est associée à une mortalité à 3 mois (HR ajusté=3.03, P=0.009) avec une spécificité=0.86 et une sensibilité=0.41. Ceux présentant une hypercalcémie ont une survie plus courte que ceux avec une normocalcémie (log-rank P=0.002).

Conclusion : L'hypercalcémie est associée à une diminution de la survie chez les patients âgés et fragiles hospitalisés pour une infection à la COVID-19.

Le score Hospital Frailty Risk Score (HFRS) prédictif de la mortalité, de la réadmission et de l'allongement de la durée de séjour parmi la population âgée hospitalisée en France métropolitaine.

Auteurs : S.Dubnitskiy-Robin (1), E.Laurent (2)(3), J.Herbert (2), B.Fougère (1)(3), L.Guillon-Grammatico (2)(4)

(1) Service de gériatrie, CHRU de Tours, France

(2) Unité EpiDcliC, CHRU de Tours, France

(3) EA 7505 « Éducation, Éthique et Santé », Université de Tours, France

(4) MAVIVH, INSERM U1259, Université de Tours, France

Introduction : Le score de fragilité « Hospital Frailty Risk Score » (HFRS) a été développé à partir des données médico-administratives issues du National Health Service (NHS) et notamment suite à un passage aux urgences. Or en France, les politiques publiques encouragent l'admission directe des personnes âgées. Ainsi, l'objectif de l'étude était de mesurer l'association entre le score de fragilité et la mortalité à 30 jours, la réadmission hospitalière à 30 jours et l'allongement de la durée de séjour > 10 jours parmi les personnes âgées hospitalisées (≥ 75 ans) soit après passage aux urgences ou admission directe.

Méthode : Une étude rétrospective a été réalisée à partir du système national des données de santé (SNDS). Les patients âgés de 75 ans et plus hospitalisés en France métropolitaine entre le 1er janvier et le 31 décembre 2017 ont été inclus. Seules les hospitalisations dans un service de soins aigus (MCO) par admission directe ou après passage aux urgences ont été considérées. Afin de tester la robustesse des résultats, des analyses de sensibilité ont été réalisées.

Résultats : 1 111 090 personnes âgées ont été incluses. La moyenne d'âge était de 84.0 ans (ET \pm 5.8). 76.9% des personnes avaient un risque faible (HFRS <5 points), 16.3% un risque intermédiaire (HFRS= 5–15 points), et 6.8% un risque élevé (HFRS >15 points). La mortalité à 30 jours était significativement associée au score HFRS (OR ajusté (ORa) = 1.91 [1.87-1.95] pour un risque HFRS intermédiaire et ORa= 2.57 [2.50-2.64] pour un risque HFRS élevé). L'allongement de la durée de séjour augmentait de manière significative en fonction du score de fragilité HFRS : respectivement ORa = 1.36 [1.34-1.38] et 1.51 [1.48-1.54]. La réadmission hospitalière à 30 jours était associée à un score HFRS élevé (ORa = 1,06 [1,04-1,08]). Les résultats demeuraient robustes aux analyses de sensibilité.

Conclusion : L'utilisation du SNDS confirme le pouvoir prédictif du score HFRS. Afin de réduire les risques liés à l'hospitalisation, l'évaluation pluridisciplinaire et le repérage de la fragilité sont des leviers indispensables.

Vieillesse humaine et hématoïèse clonale : quantification des niveaux médullaires et sanguins de 49 cytokines hématoïétiques

N. Ravalet (1,2)*, H. Guermouche (3)*, P. Hirsch (3)*, F. Picou (1,2), A. Foucault (1,2), N. Gallay (1,2), J.A. Martignoles (3), J. Beaud (3), L. Suner (3), C. Deswarte (3), S. Lachot (2), E. Rault (2), L. Largeaud (3), V. Gissot (4), M.C. Bene (5), E. Gyan (1,6), F. Delhommeau (3,7,8)#, O. Herault (1,2,7,8)#

- (1) CNRS ERL7001 LNOx "Leukemic niche and redox metabolism", EA7501 GICC, 37000 Tours, France
- (2) CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, Tours, France
- (3) Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine, CRSA, AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, 75012, Paris, France
- (4) INSERM CIC 1415, CHRU de Tours, 37000 Tours, France
- (5) CHU de Nantes, Service d'Hématologie Biologique, 44000 Nantes, France
- (6) CHRU de Tours, Service d'Hématologie et Thérapie Cellulaire, Tours, France
- (7) Institut Carnot OPALE, 75000 Paris, France
- (8) CNRS GDR3697 Micronit "Microenvironnement des niches tumorales", 37000 Tours, France

*# : Ces auteurs ont également contribué à ce travail

Introduction : Les variations physiologiques des niveaux de cytokines au cours du vieillissement sont très mal connues chez l'homme, notamment en cas d'hématoïèse clonale (HC) de signification indéterminée, dont l'incidence augmente avec l'âge et qui est associée à un risque accru d'hémopathie maligne et de maladie cardiovasculaire (MCV). Les MCV et les cancers, causes majeures de morbi-mortalité chez les personnes âgées, ont en commun certains mécanismes contribuant à leur pathogénèse notamment l'inflammation. L'objectif de notre étude est donc de quantifier les niveaux intramédullaire et sanguin de 49 cytokines au cours du vieillissement physiologique, avec ou sans HC.

Méthode : Des prélèvements médullaires et sanguins ont été effectués chez 100 donneurs volontaires sains âgés de 18,6 à 80,1 ans (protocole HEALTHOX, ClinicalTrials.gov # NCT02789839). L'HC a été caractérisée au niveau médullaire et sanguin sur cette cohorte (Guermouche *et al.*, Blood Adv 2020;4:3550) et 49 cytokines ont été quantifiées dans les plasmas médullaires et sanguins. Les analyses statistiques ont été effectuées avec les tests de Wilcoxon, Kruskal-Wallis et Dunn, ainsi qu'avec les méthodes de Pearson and Spearman.

Résultats : Avec le vieillissement, 7 cytokines augmentent dans la MO (FLT3L, CXCL9, HGF, FGF-2, CTACK, IL-16, IL-18) et 12 dans le sang (CXCL9, FLT3L, CCL27, CXCL10, HGF, CCL11, IL-16, IL-6, IL-1 beta, CCL2, IL-13 et IL-18). A l'inverse, 8 diminuent dans la MO (G-CSF, TNF, IL-2, IL-15, IL-17a, IL-4, CCL27, IL-10). La présence d'une HC est caractérisée au niveau médullaire par une augmentation de MIF et IL-1b et une diminution d'IL-9 et IL-5. Concomitamment, il est retrouvé dans le sang une augmentation des cytokines suivantes : IL-15, VEGF-A, IL-2, IL-8, CXCL1 et G-CSF.

Conclusion : Cette étude a permis d'établir des valeurs de références des concentrations médullaires et sanguines de 49 cytokines en fonction de l'âge et de la présence d'HC. Des études complémentaires devront préciser le rôle de MIF, IL-1b, IL-9 et IL-5 dans l'hématoïèse clonale.

Acoustoélasticité dans les solides mous incompressibles transversalement isotropes : Application à la caractérisation des muscles striés squelettiques.

Auteurs : Guillaume Bacle(1,3), Frédéric Patat (2), Jean-Pierre Remeniéras (3)

(1) Service d'orthopédie et traumatologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours, France.

(2) Inserm CIC-IT 1415, Tours, France.

(3) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France.

L'abstract doit être écrit en Arial 11, interligne 1.5, corps du texte justifié et ne doit pas excéder une page A4. Effacer ces deux phrases avant soumission.

Introduction : En utilisant une expansion du troisième ordre de l'énergie de déformation W en puissance de E , le tenseur de déformation de Green-Lagrange, nous avons développé une théorie d'acoustoélasticité pour la propagation d'une onde plane de cisaillement dans un solide homogène transversalement isotrope incompressible soumis à une contrainte uniaxiale. Cette théorie a été comparée avec la théorie disponible pour les solides isotropes avec les simplifications adaptées.

Méthode : En utilisant des méthodes de spectroscopie et d'élastographie des ondes de cisaillement, nous avons mesuré l'évolution de la vitesse de l'onde de cisaillement en fonction de la contrainte produite par un muscle strié pendant une contraction isométrique volontaire. Pour isoler le comportement d'un muscle individuel afin de ne pas être biaisé par les actions complémentaire ou antagoniste de deux muscles différents, nous choisissons l'*extensor digiti minimi* qui étend le 5^e doigt de la main. Les mesures du module élastique apparent de cisaillement parallèle et transversalement par rapport à l'axe du muscle ont été effectuées sur huit volontaires en bonne santé d'âges différents.

Résultats : Nos résultats montrent que les changements apparents du module d'élasticité parallèle et perpendiculaire aux fibres sont linéaires avec la contrainte et sont très différents pour les huit sujets. Dans le sens de la fibre, la pente d'évolution du module d'élasticité est inversement proportionnelle à la contraction volontaire maximale produite.

Conclusion : Nous proposons une interprétation de nos résultats en introduisant la nature de type (S) ou (F) des fibres qui durcissent le muscle différemment et produisent une contraction maximale volontaire correspondante.

Analyse en MET des modifications ultrastructurales viro-induites, et des mécanismes de sortie du SARS-CoV-2 en cellules Vero.

Auteurs : S.Eymieux^{1,2}, R.Uzbekov^{2,3}, Y.Rouillé⁴, E.Blanchard^{1,2}, C.Hourieux^{1,2}, J.Dubuisson⁴, S.Belouzard⁴ and P.Roingeard^{1,2,*}

1 INSERM U1259 MAVIVH, Université de Tours and CHRU de Tours, 37032 Tours, France; sebastien.eymieux@univ-tours.fr (S.E.); emmanuelle.blanchard@univ-tours.fr (E.B.); christophe.hourieux@univ-tours.fr (C.H.)

2 Plate-Forme IBiSA de Microscopie Electronique, Université de Tours and CHRU de Tours, 37032 Tours, France; rustem.uzbekov@univ-tours.fr

3 Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow State University, 119992 Moscow, Russia

4 U1019-UMR 9017-CIIL-Center for Infection and Immunity of Lille, Institut Pasteur de Lille, Université de Lille, CNRS, INSERM, CHU de Lille, 59000 Lille, France

Introduction : En 2019, l'émergence d'un nouveau coronavirus, le SARS-CoV-2 a conduit à une pandémie mondiale. Le premier objectif de nos travaux est de décrire en détail les caractéristiques ultrastructurales du réseau membranaire de réplication du SARS-CoV-2, par une analyse cinétique de cellules Vero infectées *in vitro*, en microscopie électronique à transmission. Le second objectif est de mieux comprendre les mécanismes de sortie de ce virus, par la réalisation de coupes sériées, permettant une analyse 3D des cellules.

Méthode : Des cellules Vero-81 ont été infectées avec des particules virales générées *in vitro*, à partir d'une souche de SARS-CoV-2 isolée chez une patiente ayant contractée la COVID-19 en janvier 2020. Les cellules ont été fixées à différents temps post-infection (4h, 6h, 8h, 10h, 12h, 24h p.i.), et observées au microscope électronique à transmission JEOL 1011. Des coupes sériées de 80 nm d'épaisseur ont été réalisées à partir de cellules fixées à 10 h post-infection, permettant d'imager 16 domaines subcellulaires provenant de cinq cellules différentes.

Résultats : A 6 h p.i., les cellules infectées semblent particulièrement pourvues en pores nucléaires accumulés au sein de membranes, ou « annulate lamellae ». A partir de 8 h p.i., un véritable réseau de vésicules à double membrane (DMVs) se met en place, associé aux premières images de bourgeonnement de particules virales à partir des membranes de l'appareil de Golgi et du ERGIC. A 24 h p.i., on observe également l'accumulation de nombreuses particules virales dépourvues de spike au sein de grandes vacuoles intracellulaires. L'analyse des coupes sériées a permis de mettre en évidence des particules virales isolées au sein de petites vésicules de sécrétion, avec des images évocatrices de vésicules libérant des particules virales dans le milieu extracellulaire. Les particules virales sont le plus souvent relarguées au niveau d'invaginations cytoplasmiques comportant de nombreuses microvillosités.

Conclusion : Ces observations apportent des éléments originaux de compréhension du cycle du SARS-CoV-2 en modèle cellulaire, en particulier concernant les mécanismes de sortie, et pourront être confrontées à de futures analyses réalisées en lignées primaire respiratoires.

Développement et validation d'une méthode de spectroscopie de diffusion par résonance magnétique pour des applications biomédicales

Auteurs : S. Bonnet (1), F. Franconi (1)(2), L. Lemaire (1)(2), M. Musse (3), G. Collewet (3), F. Mariette (3), F. Noury (4), P.A. Eliat (4)

(1) Université d'Angers, PRISM, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

(2) Université d'Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

(3) PRISM, INRAE, Rennes, France

(4) PRISM, Université de Rennes 1, Rennes, France

Introduction : La spectroscopie de diffusion par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique couramment employée dans les domaines de la chimie et du biomédical, notamment pour des caractérisations *in vitro*. Malheureusement, les spectromètres RMN ne sont pas adaptés pour mener des études *in vivo*. A l'inverse, les imageurs par résonance magnétique (IRM), avec leur large tunnel et leur capacité à localiser le signal, sont très employés dans le cadre d'études pré-clinique et clinique. Toutefois, il n'existe actuellement pas de séquence dédiée pour réaliser de la spectroscopie localisée de diffusion sur les imageurs. Cet outil ouvrirait pourtant de nouvelles perspectives pour mesurer le coefficient de diffusion de signaux autres que celui de l'eau (molécules endogènes, médicaments, etc...), tout particulièrement lors d'études *in vivo* chez le petit animal.

Méthode : Une méthode de diffusométrie par spectroscopie localisée, basée sur une séquence de spectroscopie localisée PRESS¹ à laquelle un motif de pondération en diffusion a été ajouté, a été développée sur les deux imageurs Bruker Biospec de la plateforme PRISM (imageurs 7T à Angers et 4.7T à Rennes). Elle a été testée sur des solutions de polyéthylène glycol (PEG) de différentes masses moléculaires avec un contrôle de la température. Les coefficients de diffusion ont été comparés aux valeurs de références obtenues sur un spectromètre RMN Bruker 500 MHz (Plateforme PRISM, Rennes).

Résultats : Cette séquence a permis de caractériser et mesurer correctement les coefficients de diffusion des PEGs *in vitro*. Il a été mis en évidence que la concentration des PEGs et leur taille avait une influence sur leur coefficient de diffusion respectif.

Conclusion : Une méthode de diffusométrie par spectroscopie localisée a été développée et validée sur deux imageurs à champs magnétiques différents. Cette méthode innovante est en mesure d'évaluer des coefficients de diffusion de signaux autres que ceux de l'eau, comme ceux des PEGs, très employés dans le secteur pharmaceutique. Cette méthode peut permettre aussi de caractériser d'autres molécules, comme les lipides. Ces résultats ouvrent la voie à la transposition de cette méthode pour des études *in vivo* pour l'étude de l'intégrité de nanomédicaments post-administration.

1. Bottomley P.A., Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy. US Patent #4,480,228 (1984)

***In vivo* fate of LNCs FRET after intravenous administration in rat: pharmacokinetics population approach**

V. Lebreton^{1,2}, N. Kaeokhamloed¹, F. Gattacceca³, J. Bejaud¹, P. Saulnier^{1,2}, E. Roger¹, F. Lagarce^{1,2}, S. Legeay¹

¹ University of Angers, MINT Inserm U1066 CNRS6021, Angers, France

² CHU Angers, 4 rue Larrey, 49033 Angers, France

³ University of Aix-Marseille, SMARTc Inserm U1068, CRCM, Marseille, France

Background: Nanomedicines drug product which obtained the market authorization are scarce mainly because of a lack of relevant pharmacokinetic (PK) evaluations. Indeed, PK population (PKpop) modeling mostly deals with the fate of free drug and not the intact nanocarrier itself. Thus, this study estimates the population PK parameters of Lipid Nanocapsules (LNCs) after two IV injections in rats separated by 7 days using Förster Resonance Energy Transfer (FRET).

Methods: Sprague Dawley male were used according to the ethical approved protocol APAFIS#[27335-2020092411444021](#). Six different types of FRET LNCs have been studied: 3 types of coating (classical, surface PEGylded and coated with stearylamine) and 2 sizes (50 and 85 nm). Quantification of intact LNCs has been performed with the use of the FRET technology by interpolation of the calibration curve. The injected dose was fixed for all formulation ($2 \cdot 10^{14}$ particles/100g of rat and the same dose was injected 7 days after). Population PK parameters were estimated by nonlinear mixed-effects modeling in Monolix®. Models were evaluated using the residual standard error (RSE) of each PK parameters, goodness-of-fit plots, visual predictive check and estimation of maximum likelihood estimator.

Results: A total of 355 blood samples were analyzed from 39 rats. The LNCs FRET concentration data were best described by a one-compartment model with linear elimination and proportional residual error. The final model included both volume of distribution (Vd) and clearance (CL) based on all covariables: size, types of LNC coating and repetition dose. Goodness-of-fit plots indicated that the model fit the data adequately, with minor model mis-specifications. Parameters were estimated with good precision (RSE < 30%) and low residual error (< 10%): size of LNC PEGylded FRET affects the CL which is significantly higher for 50 nm ($CL_{LNC50PEG} = 0.014$ mL/min) than 85 nm ($CL_{LNC85PEG} = 0.009$ mL/min). Then, Vd seems to be lower for 85nm LNCs FRET ($\approx 50\%$). The final model validates distribution hypotheses and is very stable regarding to initial estimates.

Conclusions: Reinjection of LNCs FRET did not affect the PK profile of LNCs in contrast to size, which affects Vd and to pegylation which significantly modifies CL. This is the first PK modeling of nanocarrier itself using the quantitative FRET method which opens a new

promising modeling of both drug and nanocarrierand

Intérêt d'une caméra ultra rapide pour l'analyse cinématique de la marche

Auteurs : Dr Marie CHANTRELLE (1), Mlle Mayalis POULET (2, 3), Mr Jean-Baptistite FASQUEL (2), Mr Ouadi BEYA (2), Mr Nicolas PEYROT (4), Mr Sylvain DURAND (4), Pr Mickaël DINOMAS (1, 2)

- (1) Département de Médecine Physique et de Réadaptation, Les Capucins, Angers, France
- (2) Univ Angers, [CHU Angers], LARIS, SFR MATHSTIC, F-49000 Angers, France
- (3) Département Génie Mécanique, Institut National des Sciences Appliquées, Toulouse, France
- (4) Le Mans Université, Mouvement - Interactions - Performance, MIP, EA 4334, F-72000, Le Mans, France

Introduction : En clinique, le mouvement est généralement évalué par une observation simple mais de plus en plus de bilans sont filmés pour être ensuite analysés. Désormais, se développent des caméras ultra-rapides, légères, portatives et accessibles financièrement, permettant un enregistrement slow motion (environ 1000 fps à haute résolution). L'objectif de ce travail est de questionner l'intérêt de ce type de caméra par rapport à un enregistrement vidéo standard lors d'un bilan filmé d'une activité, ici la marche.

Méthodes : la marche de dix sujets sains a été enregistrée via l'utilisation d'une caméra ultra rapide dans trois conditions (pieds nus et deux orthèses suropédieuses) et à deux vitesses différentes. Après sous échantillonnage de la vidéo à 30 fps, 60 fps, 129 fps et 900 fps, les amplitudes articulaires de hanche, de genou et de cheville au cours du cycle de marche ont été relevées.

Résultats : l'analyse visuelle ne met pas de différence entre une prise vidéo à 30 fps et une prise vidéo à 900 fps que ce soit au niveau des articulations de hanche, de genou ou de cheville.

Conclusion : la haute fréquence d'acquisition ne semble pas apporter de donner supplémentaire pour l'analyse de la marche dans le plan sagittal. Cependant, ce type d'outils pourrait avoir un intérêt pour des mouvements plus fins ou plus rapides (mobilité exacte du pied et de la cheville à un moment précis de la marche, « micro-mouvement » d'une emboiture chez un patient amputé). Ce travail rentre dans le cadre d'un projet financé par le réseau SAM (Sarthe – Anjou – Mayenne et Santé – Activité Physique – Métiers de l'ingénierie et des sciences humaines).

Pharmacokinetics and oral absorption of different lipid nanocapsules using new quantitative FRET technique

Authors : [N. Kaeokhamloed](#) (1), V. Lebreton (1), J. Béjaud (1), E. Roger (1), S. Legeay (1)

(1) MINT, INSERM U1066, CNRS UMR 6021, SFR ICAT, University of Angers, F-49000 Angers, France

Introduction : Nanomedicine has recently gained attention for its application as a drug delivery system. Lipid nanocapsules (LNCs) are one of the promising nanocarriers that have been proved to enhance the delivery of several drugs. However, little has been known about its pharmacokinetics. Recent development in Förster Resonance Energy Transfer (FRET) technology made possible the way to follow intact lipid nanocapsules (LNCs) *in vivo* and *in vitro* fate.

Method : The present research studied the pharmacokinetics and the *in vivo* oral absorption of intact LNCs particles in rats using a new quantitative FRET technique. We formulated and quantified the particle concentration of six LNCs formulations differing by sizes (50- and 85-nm) and surface modifications (pre-insertion DSPE-mPEG-2000 (DPEG)), stearylamine (SA), and control). Then, the six formulations were intravenously injected or orally given to rats with the dose of 2×10^{14} particles/100 g rat. In addition, the *in vitro* absorption of the formulations was studied in the Caco-2/HMEC-1 Transwell model.

Results : FRET assay revealed pharmacokinetics of intact LNCs having a size effect regardless of surface modification. 85 nm LNCs had a half-life up to 4.5 hr, twice longer than 50-nm LNCs. Surface- adding DPEG did not significantly increase the half-life for 85-nm LNC-DPEG and even decreased it to 45 minutes for 50- nm LNC-PEG, making this formulation having the highest clearance rate. In contrast, surface-adding SA did not change any pharmacokinetics parameters. However, the biodistribution should be further investigated by future experiments. Moreover, we investigated the oral bioavailability of intact LNCs. The results show <1% *in vitro* absorption in the new Caco-2/HMEC-1 Transwell model and 0% *in vivo* bioavailability in rats, despite previously being reported to increase the oral bioavailability of LNCs encapsulated drugs.

Conclusion : Summarily, we successfully elucidated a distinct characteristic of pharmacokinetics and oral bioavailability of intact LNCs using a new quantitative FRET technique. Larger size has a strong effect of prolonging the half-life of LNCs, while pre-insertion pegylation could surprisingly decrease the half-life. Besides, an increase in oral bioavailability of LNCs encapsulated drugs previously reported may not involve intact LNCs crossing the intestinal barrier.

"It Is Not the Robot Who Learns, It Is Me."

Treating Severe Dysgraphia Using Child-Robot Interaction

Auteurs :

T. Gargot (1, 2, 3), T. Asselborn (4), I. Zammouri (1), J. Brunelle (1), W. Johal (5), P. Dillenbourg (4), D. Archambault (2), M. Chetouani (3), D. Cohen (1,3), S. M Anzalone (2)

1 Child and Adolescent Psychiatry Department, APHP, Sorbonne Université, Hôpital de la Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France.

2 CHART EA 4004, THIM, Paris 8 University, Saint Denis, France.

3 ISIR, Sorbonne Université, CNRS UMR 7222, Paris, France.

4 Computer Human Interaction in Learning and Instruction Lab, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Route Cantonale, Lausanne, Switzerland.

5 Department of computer Science and Engineering, University of New South Wales, Sydney, NSW, Australia.

Introduction :

Writing disorders are frequent and impairing. New technologies allow to measure movement difficulties in Neurodevelopmental disorders, in particular in ASD (Gargot et al., in press) Electronic tablets allow to characterize the dynamic of writing with new features. They precisely allow to automatize diagnostic (Asselborn et al, 2018) and identify new clusters (Gargot et al, 2020). Social robots may help to improve children's motivation and to propose enjoyable and tailored activities.

Method : Here, we have used the *Co-writer* scenario in which a child is asked to teach a robot how to write via demonstration on a tablet, combined with a series of games we developed to train specifically pressure, tilt, speed, and letter liaison controls.

Results : This setup was proposed to a 10-year-old boy with a complex neurodevelopmental disorder combining phonological disorder, attention deficit/hyperactivity disorder, dyslexia, and developmental coordination disorder with severe dysgraphia. Writing impairments were severe and limited his participation in classroom activities despite 2 years of specific support in school and professional speech and motor remediation. We implemented the setup during his occupational therapy for 20 consecutive weekly sessions. We found that his motivation was restored; avoidance behaviors disappeared both during sessions and at school; handwriting quality and posture improved dramatically.

Conclusion : Treating dysgraphia using child-robot interaction is feasible and improves writing. Larger clinical studies are required to confirm that children with dysgraphia could benefit from this setup.

Acute Hepatitis E infection in a new immunocompromised pig model using an individualized human immunosuppressive treatment

Nancy León-Janampa¹, Céline Barc², François Darrouzain³, Philippe Gatault⁴, Mickaël Riou², Anne Pinard², Jérémy Pezant², Ignacio Caballero-Posadas⁵, Christelle Rossignol⁵, Catherine Gaudy-Graffin¹, Denys Brand¹, Julien Marlet¹

(1) INSERM U1259, Université de Tours, France

(2) INRAE, UE-1277 Plateforme d'Infectiologie expérimentale, Centre Val de Loire, F-37380, Nouzilly, France

(3) Service de Pharmacologie médicale, CHRU de Tours, France

(4) Transplantation rénale – Immunologie clinique, CHRU de Tours, France

(5) INRAE, Université de Tours, UMR ISP, Centre Val de Loire, F-37380, Nouzilly, France

Introduction: Hepatitis E virus (HEV) infection in immunocompromised patients is at risk of chronicity and cirrhosis. There is a pressing need for relevant animal models of this disease. Our objective was to validate a new immunocompromised pig model of HEV infection.

Methods: Six pigs were separated into two negative control pigs, two pigs treated with immunosuppressive drugs (tacrolimus, mycophenolate mofetil and prednisolone) and two pigs treated with the same drugs and infected with HEV. Tacrolimus through concentrations, HEV viral loads, blood count, liver and kidney markers were monitored for 4 weeks. After necropsy, HEV RNA was quantified in biopsies of liver, small intestine, colon, spleen, kidney and in the fluids of intestinal tract.

Results: Tacrolimus dosing was adapted according to tacrolimus through concentration. One out of 4 pigs from the treated and uninfected group was euthanized early due to a tacrolimus overdose. Significant replication of HEV (>4 log IU/mL) was observed throughout the study. The infection peak was observed two weeks post-infection with HEV viral loads of 7 and 4 log IU/mL, in serum and feces, respectively. HEV viral loads were stable from week 2 to the end of study (4 weeks). No significant differences were observed between pigs groups regarding blood count, liver and kidney markers. HEV RNA levels were 7 log IU/mL in the liver, between 4 and 6 log IU/mL in the small intestine and spleen, between 7 and 8 log IU/mL in intestinal fluids and 7 log IU/mL in the colon.

Conclusion: We validated the acute hepatitis E infection for 4 weeks in this pig model, using the same individualized immunosuppressive treatment as in kidney transplant patients. This is the first pig model of HEV infection validated with this strategy. Our results evidence a possible active HEV replication in extra-hepatic organs such as the small intestine and the colon, which could be involved in the physiopathology of this disease. This model contributes to the understanding of the physiopathology of the acute phase of HEV infection in immunosuppressed patients. In addition, this model will be used to study the chronic phase of HEV infection in immunosuppressed patients. Finally, it will contribute to the development of effective therapies against hepatitis E, especially for immunocompromised patients.

Association entre prise régulière d'AVK et diminution de la survie à 7 jours chez les patients âgés hospitalisés pour infection au COVID-19 : étude de cohorte GERIA-COVID

Auteurs : PM Pierre Ménager (1) et (2), OB Olivier Brière (2), JG Jennifer Gautier (2), JR Jérémie Riou (3), GS Guillaume Sacco (2), AB Antoine Brangier (2), CA Cédric Annweiler (2), (4), (5), (6) et (7)

- (1) Department de gériatrie, Le Mans Hospital, Le Mans, France;
- (2) Département de Médecine Gériatrique, Centre de Recherche en Autonomie et Longévité, CHU Angers, France
- (3) INSERM, Université d'Angers, France
- (4) Faculté de Médecine, Université d'Angers, France
- (5) UNIV ANGERS, Laboratoire de Psychologie des Pays de la Loire, UPRES EA 4638, Université d'Angers, France
- (6) Gérontopôle Autonomie Longévité des Pays de la Loire, Nantes, France
- (7) Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Objectif : Les concentrations de vitamine K sont inversement associées à la gravité clinique de l'infection au SARS-Cov-2. L'objectif de cette étude de cohorte était de déterminer si l'utilisation régulière d'antivitamine K (AVK) avant l'infection au COVID-19 était associée à une mortalité plus importante à court terme chez les personnes âgées hospitalisées pour COVID-19.

Méthodes : Quatre-vingt-deux patients hospitalisés pour COVID-19 dans une unité de court séjour de gériatrie ont été inclus au sein de l'étude. L'association entre l'utilisation régulière d'AVK avant l'infection au COVID-19 avec la survie après 7 jours du début de l'infection a été examinée à l'aide d'un modèle de Cox pondéré par un score de propension tenant compte de l'âge, du sexe, de la dénutrition sévère, du diabète sucré, de l'hypertension artérielle, antécédent d'infarctus du myocarde, insuffisance cardiaque congestive, AVC antérieur et /ou accident ischémique transitoire, score CHA2DS2-VASc, score HAS-BLED et eGFR.

Résultats : Parmi 82 patients (moyenne \pm écart-type d'âge $88,8 \pm 4,5$ ans; 48% de femmes), 73 ont survécu au COVID-19 à J7 de l'infection tandis que 9 sont décédés. Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes au départ, malgré une tendance à une utilisation plus fréquente d'AVK chez ceux qui n'ont pas survécu après 7 jours d'infection (33,3% contre 8,2%, $p = 0,056$). En considérant «sans AVK» comme référence (hazard ratio (HR) = 1), le HR pour la mortalité à 7 jours chez les personnes utilisant régulièrement l'AVK était de 5,68 [IC à 95%: 1,17; 27,53]. De manière constante, les patients COVID-19 utilisant des AVK sur une base régulière avaient une durée de survie diminuée par rapport aux autres ($P = 0,031$).

Conclusion : La prise régulière d'AVK a été associée à une mortalité accrue après 7 jours chez les patients âgés hospitalisés pour infection au COVID-19.

Cathepsin C-independent maturation of granzyme zymogens in cytotoxic lymphocytes

Auteurs : R. Domain (1), T. Baranek (2), C. Paget (2), B. Korkmaz (1)

- (1) INSERM U1100, Centres d'étude des pathologies respiratoires, Equipe 2: Mécanismes protéolytiques dans l'inflammation.
- (2) INSERM U1100, Centres d'étude des pathologies respiratoires, Equipe 1: Infection respiratoire et immunité.

Introduction: Granzymes are serine proteinases present in cytotoxic lymphocytes and involved in elimination of virus infected and cancerous cells. As other related immune cell serine proteinases, granzymes are matured by a cysteine proteinase called, cathepsin C (CatC). However, biochemical characterization of granzymes A and B in cytotoxic lymphocytes from Papillon-Lefèvre syndrome (PLS) patients with CatC deficiency allowed the highlighting of a CatC independent processing and maturing pathway. In neutrophil precursors a CatC-like proteinase is able to mature proNSPs (Neutrophil Serine Proteinases) (Seren *et al.*, *in preparation*). We hypothesized that, as in neutrophils, CatC-like proteinase can mature granzyme zymogens. The presence of CatC-like proteinase(s) might provide a molecular explanation for the persisting cytotoxic T-cell activity in patients with PLS.

Method: To investigate the maturation of granzyme zymogens, lymphocytes from healthy blood donors and PLS patients were activated into lymphokine activated killer (LAK) cells in the presence or in the absence of a CatC inhibitor. Activity of CatC and granzymes were measured in LAK cells lysates.

Results: Our results confirm that patients with PLS retained significant granzyme activities (~50-60%) in cytotoxic lymphocytes. These results suggested that CatC is not the unique proteinase involved in the maturation of pro-granzymes in human lymphocytes. However, we suspect that the CatC-like proteinase present in neutrophils, is not the proteinase which mature granzyme zymogens. To resume we need to further investigate to find out which proteinase(s) is responsible for the maturation of granzyme zymogens in cytotoxic lymphocytes. Also, we will test if pharmacological CatC inhibitor impair cytotoxic lymphocytes killing activity.

Coopération entre les anticorps de thrombopénie induite par l'héparine : impact sur l'activation cellulaire et le risque thrombotique.

Auteurs : S. Billy (1), C. Vayne (1,2), N. Charuel (1), L. Coënon (1), M. Atsouawe (1) C. Pouplard (1,2), Y. Gruel (1,2), J. Rollin (1,2).

(1) Université de Tours, EA 7501 GICC, équipe FRAME, France

(2) CHRU de Tours, hôpital Trousseau, Service d'Hématologie-Hémostase, France

Introduction : Les thrombopénies induites par l'héparine ou TIH, sont des complications des traitements hépariniques grave car elles sont fréquemment associées à des thromboses. Les TIH sont dues au développement d'anticorps dirigés contre le facteur plaquettaire 4 modifié par l'héparine (Ac anti-FP4/H) qui activent en présence d'héparine les plaquettes, les monocytes et les neutrophiles via le récepteur Fc γ R1IA. Les patients développent classiquement des Ac anti-PF4/H mais certains d'entre eux présentent de faible quantité d'anticorps capables de reconnaître le FP4 non-modifié par l'héparine (Ac anti-FP4). Cependant, le rôle des Ac anti-PF4 dans la physiopathologie des TIH est encore peu connu. Dans ce contexte, nous avons évalué si une coopération entre les Ac anti-FP4/H et anti-FP4 favorise l'activation cellulaire et la formation de thrombose.

Méthode : Deux anticorps monoclonaux anti-FP4/H (5B9) et anti-FP4 (1E12) qui miment les anticorps développés chez les patients atteints de TIH ont été utilisés. L'activation et l'agrégation des plaquettes ont été étudiées par le test de libération de sérotonine et par impédancemétrie, respectivement. De plus, la formation de thrombose induite par ces anticorps a été évalué *in vitro* en condition de flux en utilisant des capillaires préalablement sensibilisés avec du facteur de Willebrand.

Résultats : L'incubation simultanée de 5B9 (anti-FP4/H) et 1E12 (anti-FP4) avec des plaquettes isolées de sujets sains induit une activation plaquettaire en l'absence d'héparine alors que ces anticorps incubés séparément n'ont aucun effet. Cet effet coopérateur a également été observé sur l'agrégation des plaquettes en sang total et est dépendant du récepteur Fc γ R1IA. De plus, la co-incubation en absence d'héparine de 5B9 (100 μ g/ml) et 1E12 (2 μ g/ml) dans du sang de sujets sains, induit la formation d'agrégats fibrino-plaquettaires en conditions de flux similaire à ceux observés avec 5B9 incubé en présence d'héparine.

Conclusion : L'ensemble de ces résultats montrent pour la première fois une coopération fonctionnelle entre les différents types d'anticorps de TIH. Bien que les mécanismes moléculaires de cette synergie restent encore inconnus, la présence concomitante de ces deux types d'anticorps pourrait augmenter le risque de complication thrombotique.

Development of an animal model of *Pneumocystis pneumonia*

Auteurs : A. Chesnay^{1,2}, T. Baranek¹, G. Desoubeaux^{1,2}

- (1) Unité INSERM U1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Université de Tours
- (2) CHRU de Tours, Service de Parasitologie-Mycologie-Médecine tropicale *Souligner l'auteur qui présentera la communication*

Introduction: *Pneumocystis pneumonia* is a severe lung infection, caused by the ubiquitous fungus *Pneumocystis jirovecii*, that occurs especially in largely immunocompromised patients (HIV, solid organ transplantation, malignancies...). Worldwide, *Pneumocystis pneumonia* affects more than 500,000 patients annually. Few treatment options exist and the mortality is still significant with almost 250,000 deaths each year. To develop new strategies of diagnosis and treatment, it appears critical to improve the scientific knowledge about the *Pneumocystis* agent and the course of the disease. In the absence of in vitro continuous culture system, in vivo animal studies represent a crucial cornerstone in the study of *Pneumocystis pneumonia* and constitute an essential complement to clinical studies. We have developed our own animal model of *Pneumocystis pneumonia* to study the immune response of the infected host.

Méthode: Female C57BL/6 mice were placed on steroids immunosuppressive regimen, administered in the drinking water. After seven days of immunosuppression, mouse lung suspensions containing or not *Pneumocystis murina* asci were administered by intranasal instillation to the immunosuppressed animals. After establishment of infection, the immunosuppression regimen was suspended. At day 1, day 7 and day 14 after cessation of the immunosuppressive regimen, lung fungal load (by microscopy and qPCR) and immune response analysis (by flow cytometry and cytokine ELISA on lungs and BAL) were performed.

Résultats: After confirmation of *Pneumocystis pneumonia* establishment, we were able to assess the immune response after cessation of the immunosuppressive regimen. It was marked on the first and seventh day after the end of immunosuppression by a major recruitment of neutrophils, CD4+T cells CD8+T and inflammatory dendritic cells in the lung. The proinflammatory cytokines IL-6 and TNF- α were present in BAL on the first and seventh day after cessation of the immunosuppressive regimen.

Conclusion: This model will allow to further study the immune response after the establishment of *Pneumocystis pneumonia*, and in particular the role of certain cells such as unconventional T cells, involved in the rapid mucosal response to microorganisms, including fungi that are able to produce ligands specific to these cells.

Etat des lieux du diagnostic de l'infection par le VHD dans une série continue de patients porteurs chroniques du VHB

L. Handala (1)(2), J. Li (1), L. Escuer (1), R. Hetru (1), J. Marlet (1)(2), L. D'Alteroche (3), C. Gaudy-Graffin (1)(2)

(1) Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Hygiène Hospitalière du CHRU de Tours

(2) Equipe INSERM U1259, MAVIVH (Morphogénèse et antigénicité du VIH et des virus des hépatites

(3) Service d'hépatogastroentérologie du CHRU de Tours

Introduction : Le virus de l'hépatite D (VHD) est un virus défectif dont le cycle viral dépend de celui du virus de l'hépatite B (VHB) et en particulier de son antigène HBs (AgHBs). Le VHB est la principale cause infectieuse de cirrhose du foie et de carcinome hépatocellulaire. Cependant, une co-infection par le VHB et par le VHD entraîne une forme plus grave d'hépatite avec une évolution plus souvent défavorable. 12 à 72 millions de personnes seraient co-infectées dans le monde. Une telle variabilité est le fait de plusieurs facteurs : le faible nombre d'études sur le sujet, le manque de dépistage systématique... Sous-diagnostiquée, l'infection par le VHD est un problème de santé publique qui présente depuis peu un traitement efficace. Dans ce travail, un état des lieux du diagnostic de l'infection par le VHD a été réalisé chez des patients chroniquement infectés par le VHB, dépistés et/ou suivis au CHRU de Tours de 2018 à 2020.

Méthode : Sur ces 3 années, l'AgHbs a été retrouvé positif chez 496 sujets consultants ou hospitalisés. Les données disponibles dans le dossier médical relatives au statut vis-à-vis de l'infection par le VHD ont été recueillies et les données manquantes complétées par la réalisation du test HDV IgG. En cas de positivité, une recherche de l'ARN du VHD a été effectuée. Un échantillonnage de souches virales a été séquencé afin d'en déterminer le génotype.

Résultats : Au total, 7,7% patients (38/496) sont co-infectés par le VHD et 63,5% sont séronégatifs. Les 143 patients restants n'ont pas bénéficié du dépistage de l'infection VHD selon les données de leur dossier médical. La réalisation des examens complémentaires pour le statut VHD sur 130 sérums disponibles révèle 7 patients séropositifs dont 3 virémiques. Notre étude rétrospective sur 3 années, visant à étudier exhaustivement le statut VHD montre donc que la séoprévalence du VHD sur la population étudiée est estimée à 9,1% (45/496). En France, selon une étude réalisée en 2015 par le Centre de référence de l'hépatite D, la séoprévalence du VHD était de 4%.

Conclusion : Comme 2 méta-analyses récentes le soulignent, cela montre le sous-diagnostic de l'infection par le VHD et la nécessité de réaliser un dépistage chez tous les patients porteurs du VHB, afin d'adapter au mieux leur prise en charge.

Evaluation de la PCR quantitative *Pseudomonas aeruginosa*

Auteurs : M.Abid (1), A.S. Valentin (1),L.Cosson.(2) M.F.Lartigue (1,3)

(1) Unité de bactériologie et hygiène hospitalière, Hôpital Trousseau, Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHRU Tours

(2) CRCM pédiatrique de TOURS, Hôpital Clocheville, CHRU Tours

(3) Université de Tours, INRAE, ISP, F-37000

Introduction : Diagnostiquer une colonisation pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose est primordial pour leur prise en charge. La méthode de référence est la culture mais la PCR spécifique réalisée à partir des prélèvements peut permettre une détection plus précoce. Depuis septembre 2019 au CHRU de Tours, nous avons mis en place un protocole de PCR quantitatives (Hery-Arnaud et al, 2017).

L'objectif de ce travail est de faire un bilan après deux ans de mise en place de cette technique.

Méthodes : Une extraction d'ADN à partir des expectorations est faite avec la méthode : Qiagen. Une première qPCR est réalisée ciblant le gène *oprL*. En cas de résultat douteux ou positif et avec une concentration en *P. aeruginosa* de 730 UFC/mL, une deuxième qPCR, ciblant les gènes *gyrB/ecfX* est effectuée.

Résultats : De septembre 2019 à septembre 2021, 146 expectorations ont été analysées.

La majorité des PCR (n=139) étaient négatives.

Sept patients (soit 4.8%), âgés de 1 à 18 ans, ont eu une PCR *oprL* positive.

Pour ces patients, la PCR *oprL* était positive avec une concentration respectivement de 40 UFC/mL, 70 UFC/ml, 130 UFC/mL, 150 UFC, 220 UFC/mL, 1200 UFC/mL et 8150 UFC/mL.

Parmi ces prélèvements, la PCR *gyrB* était positive pour cinq d'entre eux et la PCR *ecfX* pour trois prélèvements. Cette discordance s'explique par le seuil de détection élevé de la PCR *gyrB/ecfX* de 730 UFC/mL.

Aucune PCR n'a été positive chez des patients n'ayant jamais eu de primocolonisation à *P. aeruginosa*. Un traitement anti-pyocianique a été introduit pour les patients avec une PCR positive.

Conclusion : Cette technique associée à la culture semble permettre de diagnostiquer et donc de traiter de manière plus précoce la primocolonisation à *P. aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose

Expression liée à l'âge de l'IFN- λ 1 versus IFN-I et bêta-défensines dans la muqueuse nasopharyngée des sujets infectés par SARS-CoV-2

Charly Gilbert¹, Caroline Lefevre^{2,3}, Laurence Preisser¹, Adeline Pivert^{2,3}, Raffaella Soleti¹, Alexandra Ducancelle^{2,3}, Dominique Couez¹, Pascale Jeannin^{1,4}

¹ Université d'Angers, UMR Inserm 1232, Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes-Angers, Angers, France

² CHU Angers, Laboratoire de Virologie, Angers, France

³ Université d'Angers, HIFIH, Angers, France

⁴ CHU Angers, Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, Angers, France

Introduction. L'infection par le coronavirus SARS-CoV-2 induit des symptômes de sévérité variable, allant des formes asymptomatiques aux formes létales. Les formes graves surviennent généralement chez les personnes âgées et/ou les individus présentant des comorbidités, alors que les enfants restent généralement asymptomatiques, suggérant une réponse immunitaire innée locale efficace. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'expression des transcrits codant pour certaines molécules de l'immunité innée au point d'entrée du SARS-CoV-2.

Méthodologie. L'expression des transcrits codant pour les interférons de type I (IFN- α et - β) et de type III (IFN- λ 1-3) et certains peptides antiviraux (β -défensines HBD1-3, α -défensines HNP1-3 et HD5), pentraxine-3, SP-D, LL-37, IL-26) a été évaluée par RT-qPCR dans des écouvillons nasopharyngés prélevés sur 226 personnes, infectés par le SRAS-CoV-2 (symptomatiques ou asymptomatiques) (n=147) ou non infectés (n=79).

Résultats. Les résultats montrent que l'infection induit chez les sujets jeunes (≤ 15 ans) une augmentation d'expression d'IFN- λ 1, alors que l'expression de IFN- α , IFN- β , IFN- λ 2/ λ 3 et de β -défensine 1-3 n'est pas affectée. En revanche, chez les sujets adultes (15-65 ans) et âgés (≥ 65 ans), l'infection induit une augmentation d'expression des ARNm IFN- α , IFN- β , IFN- λ 2/ λ 3 et de HBD1-3 mais pas de modulation d'IFN- λ 1. L'expression de ces molécules innées n'était pas associée au sexe ou aux symptômes. Des différences d'expression de ces molécules en fonction de l'âge ont également été observées chez les sujets SRAS-CoV-2 négatifs.

Conclusion. Cette étude met en évidence que les profils d'expression des IFN-I/III et de certaines molécules antivirales dans la muqueuse nasopharyngée des sujets infectés par le SRAS-CoV-2 diffèrent avec l'âge et suggèrent qu'une expression d'IFN- λ 1 pourrait être associée à une protection vis-à-vis du SARS-CoV-2 chez les sujets jeunes.

Glycogen metabolism supports human macrophage functions

N. Jeroundi¹, P. Pignon¹, C. Roy¹, L. Basset¹, G. Tcherkez², C. Bocca², D. Couez¹, P. Jeannin¹

(1) Université d'Angers, F-49000 Angers

(2) CHU Angers, Laboratoire d'Immunologie.

Introduction : Macrophage polarisation and activation are linked with metabolic adaptation, which is required to sustain their biological functions. Recently, it was shown that murine M1, but not M2 macrophages, store glycogen, and that the glycogen catabolism channelled through the pentose phosphate pathway to support macrophage-mediated inflammatory responses. To date, the expression and role of glycogen in human macrophages has not been evaluated. We thereby investigated whether human macrophages may stock glycogen and whether they use it as fuel to ensure their functions.

Méthode : Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained from healthy human volunteers by standard density-gradient centrifugation on Lymphocyte Separation medium (Eurobio, Courtaboeuf, France). Monocytes isolated from PBMC by positive magnetic selection, were differentiated into prototypic M1 by culture with GM-CSF and IFN γ and into prototypic M2 cells by culture with M-CSF and IL-4. Intracellular glycogen levels were measured at day 5.

Résultats : Prototypic Human monocyte-derived M1 and M2 macrophages both store glycogen. Our results identify that GM-CSF and IL-4 as two factors triggering glycogenesis. In addition, we also found that glycogen metabolism mainly supports their functions. Inhibition of glycogenolysis or the pentose phosphate pathway strongly impairs the cytokine secretion by both M1 and M2, and the phagocytic activity of M2. In contrast, the macrophage respiration was not affected.

Conclusion : In summary, our results demonstrate that i) human macrophages are able to provide energy reserves in the form of glycogen, and ii) that glycogen is used by macrophages as fuel to perform their function, not to supply glucose like liver and tumour cells but rather to function independently of the microenvironment.

Impact de l'acétoacétate sur la polarisation fonctionnelle des macrophages humains

Auteurs : Marine Monnier (1), Clément Adam (1), Léa Paolini (1) Simon Blanchard (1,2), Laurence Preisser (1), Pascale Jeannin (1,2)

(1) Université d'Angers, INSERM, CRCINA, Angers

(2) Laboratoire d'immunologie, CHU d'Angers, Angers

Introduction. Les macrophages sont des cellules myéloïdes de l'immunité innée impliquées dans de nombreux processus physiologiques. La diversité de leurs fonctions est associée à une multitude de phénotypes dont l'acquisition est dictée par la nature et la quantité de signaux présents, localement, dans le tissu dans lequel ils résident. De plus, le phénotype des macrophages n'est pas figé, s'adaptant en permanence aux modifications de leur environnement ; ce processus d'adaptation est appelé plasticité.

Comprendre les mécanismes impliqués dans la polarisation des macrophages est donc essentiel pour réguler ou restaurer leurs fonctions. Au cours de ces dernières années, de nombreuses études ont souligné le rôle des métabolites et des nutriments dans la polarisation des macrophages. Dans cette étude, nous avons évalué l'impact du corps cétonique acétoacétate (AcAc) sur la polarisation des macrophages humains.

Méthodologie. Des monocytes humains sont différenciés en macrophages pendant 5 à 7 jours en présence de M-CSF (M ϕ), GM-CSF (GM-CSF-M ϕ) ou M-CSF + AcAc (AcAc-M ϕ). Le phénotype des cellules a été déterminé par analyse de l'expression de transcrits (RT-qPCR) et dosage d'interleukines (ELISA).

Résultats. La différenciation des monocytes humains en présence d'AcAc induit la génération de macrophages présentant un phénotype régulateur (IL-10^{high} IL-12^{low}) et similaire aux macrophages impliqués dans la réparation tissulaire (production de facteurs de croissance et de angiogéniques). De manière intéressante, les données transcriptomiques montrent que les AcAc-M ϕ acquièrent de manière séquentielle l'expression de gènes impliqués dans les différentes phases de la réparation tissulaire avec (i) une expression précoce des transcrits codant pour les gènes de l'inflammation (IL-6 et IL-1b), (ii) une expression du facteur angiogénique VEGF-A aux temps intermédiaires (J2-J3) et (iii) une augmentation de l'expression des transcrits codant pour des gènes impliqués dans la migration cellulaire et le remodelage tissulaire (OSM et métalloprotéases) aux temps les plus tardifs.

Conclusion. Ces résultats montrent que l'AcAc induit in vitro la génération d'un nouveau sous type de macrophages impliqués dans les processus de réparation tissulaire. L'acquisition séquentielle de certains transcrits suggèrent une régulation épigénétique.

Impact des mutations du promoteur basal du core/pré-core du virus de l'hépatite B sur le taux sérique de biomarqueurs de la fibrose hépatique

C. Lefeuvre (1,2), M. Roux (2), S. Blanchard (3), H. Le Guillou-Guillemette (1,2), F. Lunel-Fabiani (1,2), P. Jeannin (3), A. Pivert (1,2), A. Ducancelle (1,2)

(1) Laboratoire de virologie, Département de Biologie des Agents Infectieux, CHU Angers, F-49000 Angers, France

(2) Univ Angers, HIFIH, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

(3) Univ Angers, INSERM Unité 892, CNRS Unit 6299, F-49000 Angers, France.

Introduction : L'impact des mutations du promoteur basal du core (PBC)/pre-core (PC) dans l'évolution naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) et dans la gravité des lésions hépatiques n'a pas encore été clairement établi. La double mutation A1762T/G1764A dans la région PBC est associée à des lésions hépatiques sévères alors que l'association de la mutation G1899A (région PC) avec la double mutation semblerait réduire significativement le risque de fibrose hépatique sévère. Le but de l'étude est de mesurer certains marqueurs de fibrose dans le sérum de patients positifs à l'antigène de surface du VHB en France et d'évaluer les relations entre ces biomarqueurs et les mutants PBC/PC en tenant compte du stade de fibrose (score METAVIR).

Méthodes : Les taux sériques de résistine, du facteur de croissance TGF- β 1, de métalloprotéases matricielles de type 1 (MMP-1), d'inhibiteurs de MMP-1 (TIMP-1), de collagène la1 et de facteur de croissance PDGF-BB ont été dosés. Ces marqueurs sont connus pour être impliqués dans le processus de fibrose hépatique. Les patients ont été classés comme ayant une fibrose sévère (\geq F3 METAVIR) ou non sévère ($<$ F3 METAVIR).

Résultats : Une analyse de régression logistique binaire a montré que le taux sérique de PDGF-BB ($p=0,002$), de TIMP-1 ($p=0,001$) et le profil de mutation étaient indépendamment associés à une fibrose avancée. Un niveau plus élevé de TIMP-1 était associé à une fibrose avancée quel que soit le statut mutationnel, tandis qu'un niveau plus élevé de PDGF-BB serait associé à une fibrose modérée chez les patients infectés par un virus porteur de la mutation A1762T/G1764A seule, ou de la double mutation associée à la mutation G1899A. Selon le profil de mutation, différents profils de corrélations entre les taux sériques des biomarqueurs ont été observés, suggérant un impact des mutations du PBC/PC sur ceux-ci.

Conclusion : Sur la base de ces résultats, il semble important de prendre en compte le virus et en particulier les mutations PBC/PC pour prédire la fibrose hépatique à partir des taux des biomarqueurs. Nos résultats suggèrent un impact possible de la mutation A1762T/G1764A sur les processus biologiques liés au TGF- β 1 et au PDGF-BB.

Impact of human cathepsin S upregulation on the integrity of epithelial barriers in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

P. Bigot^{1,2}, S Chesseron^{1,2}, D Sizaret^{1,3}, A Saidi^{1,2}, F Lecaille^{1,2}, G Lalmanach^{1,2}

- (1) Université de Tours, Tours, France
- (2) INSERM, UMR1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Team « Mécanismes Protéolytiques dans l'Inflammation », Tours, France
- (3) CHRU Tours, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Tours, France

Introduction: Long term smoking is accountable for more than 80% of COPD (3rd leading cause of death worldwide), which is a chronic lung disease characterized by a progressive and irreversible airflow obstruction with acute exacerbation (bacterial and viral infection) associated to an increased permeability of epithelial barriers. During COPD, exposure to cigarette smoke triggers the overexpression of elastinolytic cathepsin S (CatS), thus contributing to emphysema. As CatS may cleave some junctional proteins, we hypothesized that CatS could participate in epithelial barrier breakdown during COPD.

Methods: Levels of junctional proteins were analyzed by immunochemical approaches on lung biopsies from non-COPD and COPD patients (n = 28). Functional consequences of CatS overexpression were studied by addition of CatS on human lung epithelial cells (16HBE cell line). Then we analyzed impact of cigarette smoke extract (CSE) on human macrophages (monocytic THP1 cell line). A co-culture model (16HBE/THP-1 cells) allowed to study the consequences of CSE exposure and secreted CatS on the epithelial permeability.

Results: A decreased expression level of occludin was observed in lung tissues from smokers. The level of occludin correlated negatively with the smoking history of patients, COPD grades as well as CatS activity. Addition of CatS increased permeability of lung epithelial cells, which is associated with a specific cleavage of occludin. Then, we analyzed the impact of exposure to CSE on THP-1 macrophages. CSE upregulated the expression of macrophage CatS through the mTOR/TFEB signaling pathway. In a co-culture model of THP-1/16HBE cells, an increase of epithelial permeability was observed following CSE exposure. Use of pharmacological inhibitors of CatS as well as its transcriptional inhibition by siRNA restored the basal permeability of 16HBE epithelial cells.

Conclusion: Altogether with its deleterious elastinolytic activity, this study supports that CatS may have a detrimental effect on the integrity of lung epithelial barriers, therefore emphasizing the therapeutic relevance of targeting CatS in COPD.

Inactivation rapide du SARS-CoV-2 par deux lampes UV-C sur différents matériaux de conditionnement

Auteurs : M. Maquart (1), J. Marlet (1, 2)

(1) INSERM U1259 MAVIVH, Université de Tours, France

(2) Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHRU de Tours, France

Introduction : Le SARS-CoV-2 est responsable de la pandémie de COVID-19 ayant entraîné plus de 225 millions de cas et 4,55 millions de morts. Il peut se transmettre par aérosol ou via une surface contaminée sur laquelle il reste infectieux plusieurs jours. Les UV-C peuvent être utilisés pour inactiver le SARS-CoV-2 en quelques secondes à quelques minutes. Les UV-C possèdent la plus forte activité antimicrobienne, notamment à 265 nm, longueur d'onde (λ) d'absorption maximale des acides nucléiques. L'objectif de ce projet est de vérifier et de comparer l'efficacité inactivatrice de deux lampes, une lampe néon à mercure ($\lambda = 254$ nm) et une lampe à LED ($\lambda = 260-270$ nm), avec un objectif d'inactivation > 99,9 %..

Méthode : L'efficacité de chaque lampe a d'abord été testée sur du surnageant de SARS-CoV-2 (origine Wuhan isolé dans le laboratoire de l'U1259 à Tours) déposé sur surface plastique, afin de déterminer la durée et la distance d'exposition optimale. Une fois les conditions optimales définies, le virus a été absorbé sur carton, papier, tissu et métal puis exposé aux UV-C à une distance de 3 cm, pendant une durée de 15, 30 ou 60 secondes. Le titre infectieux avant et après exposition a été mesuré en dose infectieuse 50 % (TCID₅₀).

L'inactivation (en %) a été calculé ainsi : $(1 - \frac{TCID_{50} \text{ après UV}}{TCID_{50} \text{ avant UV}}) * 100$.

Résultats : Sur matériaux non poreux (plastique et métal), la lampe à néon répondait aux critères d'inactivation (> 99,9 %) dès 5 secondes d'irradiation à 3 cm, sans particule virale infectieuse détectable après irradiation. Sur ces mêmes matériaux, la lampe à LED répondait aux critères d'inactivation (> 99,9 %) dès 15 secondes d'irradiation à 3 cm. . Sur matériaux poreux (tissu, papier, carton), les deux lampes répondaient aux critères d'inactivation (> 99,9 %) dès 30 secondes d'irradiation à 3 cm.

Conclusion : Ces résultats valident l'inactivation du SARS-CoV-2 (> 99,9 %) sur matériaux non poreux (plastique et métal) ou poreux (tissu, papier et carton) par des lampes à néon ou LED, sur des temps courts (15-30 sec). L'inactivation sur matériaux poreux a été peu décrite dans la littérature. Nos résultats suggèrent qu'elle nécessite une irradiation plus longue que sur matériaux non poreux (30 vs 15 sec). Ceci peut s'expliquer par le fait que les UV-C peuvent être arrêtés par la matière et ne pénètrent pas au cœur des matériaux. Ces

premiers essais prometteurs pourront contribuer au développement d'outils de décontamination pour différents matériaux de conditionnement.

L'inhibition du complexe Arp2/3 réprime la différenciation des myofibroblastes pulmonaires humains et atténue la fibrose pulmonaire induite par la bléomycine

C.Mergault^{1,2}, F.Lisée^{1,2}, V.Tiroille^{1,2}, M.Magnien^{1,2}, C.Parent¹, W.Lenga Mabonda^{1,2}, D.Sizaret^{1,2,3}, M.Jaillet⁴, B.Crestani^{4,5}, S.Marchand-Adam^{1,2,6}, L.Plantier^{1,2,6}

(1) Centre d'Etudes des Pathologies Respiratoires / Inserm UMR1100, Tours, France

(2) Université de Tours, France

(3) CHRU de Tours, Service d'Anatomie Pathologique, France

(4) Université Paris, Inserm U1152, F-7518, France

(5) Service de Pneumologie Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, F-75018, France

(6) CHRU de Tours, Service de Pneumologie et Explorations Fonctionnelles Respiratoires, France

Introduction : Le complexe multiprotéique Arp2/3 régule la polymérisation ramifiée du cytosquelette d'actine et peut contribuer à la synthèse du collagène et à la fibrogenèse dans le poumon.

Méthode : L'expression des sous-unités du complexe Arp2/3 a été évaluée dans les fibroblastes pulmonaires humains (CCD16-Lu) et dans le modèle de fibrose pulmonaire induite par la bléomycine chez la souris. Le complexe Arp2/3 a été réprimé par l'inhibiteur CK666 et par des ARN interférents ciblant les sous-unités ARP2, ARP3 et ARPC2 dans les CCD16-Lu. Les souris ont reçu des injections intrapéritonéales quotidiennes de CK666 du 7^e au 14^e jour après l'instillation trachéale de bléomycine.

Résultats : L'expression des ARNm des sous-unités du complexe Arp2/3 est augmentée dans les fibroblastes traités par le TGF- β 1 et dans les poumons des souris traitées à la bléomycine. *In vitro*, le CK666 et *siARPC2* inhibent la croissance cellulaire et l'expression de l'actine des muscles lisses (ACTA2) et du collagène-1 (COL1) induite par le TGF β 1. Le CK666 diminue l'expression d'ACTA2 et du COL1 dans les cellules non stimulées. Le CK666 réduit la phosphorylation d'AKT et réprime les niveaux de phospho-GSK3 β , de β -caténine et de MRTF-A dans les fibroblastes non stimulés. *In vivo*, le CK666 diminue les niveaux de procollagène-1 et de collagène insoluble chez les souris traitées à la bléomycine.

Conclusion : L'expression du complexe Arp2/3 augmente dans des conditions profibrotiques *in vitro* et *in vivo*. L'inhibition du complexe Arp2/3 réduit l'expression d'ACTA2 et de COL1 et réprime la voie AKT/phospho-GSK3 β / β -caténine/MRTF-A dans les fibroblastes pulmonaires. Le CK666 exerce des propriétés antifibrotiques dans le poumon *in vivo*. L'inhibition du complexe Arp2/3 pourrait donc représenter une nouvelle thérapie intéressante pour les maladies pulmonaires interstitielles fibrotiques.

Lien entre niveau de protéine C-Réactive en début de COVID-19 et survie chez les patients âgés fragiles infectés par le SARS-COV 2.

Auteurs : A. Villoteau (1), C. Annweiler (2)

- (1) Faculté de médecine d'Angers ; département de médecine gériatrique et clinique de la mémoire, Centre de recherche sur l'autonomie et la longévité, CHU d'Angers, France.
- (2) Faculté de médecine d'Angers ; département de médecine gériatrique et clinique de la mémoire, Centre de recherche sur l'autonomie et la longévité, CHU d'Angers, France ; Gérontopôle Autonomie Longévité des Pays de la Loire ; Institut de recherche Robarts, Département de biophysique médicale, École de médecine et de dentisterie Schulich, Université de Western Ontario, London, ON, Canada.

Introduction : L'objectif de cette étude de cohorte était de déterminer si une protéine C-réactive élevée au début de l'évolution de la COVID-19 était associée avec la mortalité à 14 jours chez les patients âgés fragiles.

Méthode : Les concentrations plasmatiques de CRP à l'admission à l'hôpital et la mortalité toutes causes confondues à 14 jours ont été évaluées chez les patients gériatriques hospitalisés pour COVID-19. Les facteurs de confusion potentiels étaient l'âge, le sexe, les capacités fonctionnelles, les tumeurs malignes, l'hypertension artérielle, la cardiomyopathie, l'albuminémie, le nombre de problèmes de santé aiguës, l'utilisation d'antibiotiques et de traitements respiratoires.

Résultats : Quatre-vingt-quinze participants (âge moyen +/- DS 88,0 +/- 5,5 ans ; 49,5% de femmes ; CRP moyenne 76,7 +/- 77,5 mg/L ; albuminémie moyenne, 32,9 +/- 6,0 g/L) ont été inclus. Seize participants n'ayant pas survécu au quatorzième jour présentaient des niveaux de CRP plus élevés au départ que les autres (120,3 +/- 71,2 contre 67,9 +/- 76,1 mg/L, P=0,002). Il n'y avait aucune différence concernant l'albuminémie (P= 0,329). Le niveau de CRP était directement associé à la mortalité à 14 jours (HR ajusté selon l'ensemble des facteurs de confusion = 1,11, p= 0,025). Le seuil de CRP associé à la mortalité à 14 jours a été fixé à 35 mg/L (sensibilité = 0,88 ; spécificité = 0,56). Les patients ayant une concentration en CRP inférieure à 35 mg/L avaient un temps de survie plus long que les autres (log-Rank P < 0,001).

Conclusion : Des concentrations élevées de CRP étaient associées à une survie plus faible chez les patients âgés fragiles hospitalisés atteints de COVID-19.

Lower funneling pathway in *Scedosporium* species

Auteurs : W. Poirier (1), K. Ravenel (1), A. Gastebois (1), J-P Bouchara (1) et S. Giraud (1)

(1) Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène (EA 3142), Université d'Angers

Introduction :

Lignocellulolytic fungi have received a particular attention during the last decades and recent studies evidence that similar enzymatic arsenal is required to degrade lignin, lignocellulose components and organic pollutants. A large number of fungi characterized as opportunistic pathogens are found in human-made environments and exhibit degrading abilities toward aromatic hydrocarbons. Moreover, for several pathogenic microorganisms, a link between capacity to degrade aromatic pollutants and virulence has been established.

Scedosporium are filamentous fungi usually soil saprophytes, that have been regularly reported as causing human infections, particularly in patients with cystic fibrosis. All studies that have been conducted highlighted their common occurrence in polluted areas all over the world. Because of their limited susceptibility to current antifungals, a better understanding of their adaptative mechanisms to these environments is required.

Lignin degradation by microorganisms is initiated by extracellular oxidative steps and followed by intracellular metabolic degradation through the microbial funneling pathway. In fungi, four main aromatic intermediate compounds serve as substrates in the lower funneling pathway, where dioxygenases are key enzymes catabolizing the ring-opening step. This work was aimed to study these lower funneling pathway in *Scedosporium* species.

Materials and Methods :

Orthologues dioxygenases from the literature were used to screen *Scedosporium* genomic data by tBLASTn searches. An *in silico* analysis was performed to characterize these enzymes, and their genomic environment. Then, a focus on the gentisic acid pathway was done in order to validate the bioinformatic results. Growth studies and real-time PCR experiments were realized.

Results :

Sixteen putative genes encoding ring-cleavage dioxygenase were identified on the reference strain *S. apiospermum* IHEM 14462. The bioinformatic analysis suggests that *Scedosporium* species are able to catabolize the main aromatic intermediates derived from lignin degradation (*i.e.* gentisic acid, hydroxyquinol, protocatechuate and catechol). Except for protocatechuate catabolism, the genes of the corresponding pathways are organized in cluster. Then, the experimental part of the study focuses on the gentisic acid. Results confirm the ability of *Scedosporium* to grow on synthetic media containing lignin or the gentisic acid as the sole carbon source. Moreover, in these culture conditions, real-time PCR experiments demonstrated that the genes of the cluster were overexpressed.

Conclusion :

Results obtained in this study confirm that *Scedosporium* species exhibit the enzymatic arsenal to degrade natural complex molecules and are capable to open aromatic rings. This may explain their presence in polluted environments. Considering the low susceptibility to current antifungal drugs of *Scedosporium* species, these metabolic pathway may constitute targets for the development of more potent antifungal.

Prédiction de risque personnalisée après une réponse virologique soutenue chez les patients infectés par le virus de l'hépatite C

Auteurs : C. Moreau (1), M. Roux (1), J. Riou (2), J. Boursier (1,3)

(1) Laboratoire HIFIH, UPRES 3859, SFR 4208, Université Angers, Angers, France

(2) MINT UMR INSERM 1066, CNRS 6021, Université Angers, Angers, France

(3) Service d'Hépatogastroentérologie, Centre Hospitalier Universitaire Angers, Angers, France

Introduction : La Réponse Virologique Soutenue (RVS) améliore significativement le pronostic des patients infectés par le Virus de l'Hépatite C (VHC), mais ne supprime pas totalement le risque de complications liées au foie. Nous avons voulu évaluer si la répétition des mesures dans le temps est corrélée au risque résiduel de complications, et si elle permet de développer une prédiction personnalisée du pronostic chez les patients infectés par le VHC.

Méthode : Nous disposons de deux cohortes : 695 patients atteints de cirrhose liée au VHC et ayant connu une RVS ont été inclus à partir de la cohorte prospective ANRS CO12 CirVir pour la dérivation et 6620 patients issus de la cohorte ANRS CO22 HEPATHER pour la validation. L'évènement étudié était la première survenue d'une complication liée au foie, un critère composite comprenant la décompensation de cirrhose et/ou le Carcinome Hépatocellulaire (CHC). Afin de déterminer le biomarqueur longitudinal le plus pertinent pour la prédiction de complications, nous avons utilisé des AUC dépendants du temps. Des modèles conjoints à classes latentes tenant compte à la fois de la trajectoire des biomarqueurs et de l'apparition de l'évènement pendant le suivi ont été développés pour calculer des prédictions dynamiques. La qualité d'ajustement des courbes de survie de Kaplan-Meier a été vérifiée et la pertinence du modèle retenu évaluée via un Brier Score (BS) dynamique.

Résultats : Dans la cohorte de dérivation, 50 complications hépatiques ont été observées (25 décompensations de cirrhose et 25 CHC) avec un suivi médian de 3.8 (1.6-7.5) années pour les 695 patients. Le biomarqueur d'intérêt sélectionné a été le FIB-4. Notre modélisation conjointe a identifié trois profils de patients à l'aide de paramètres simples (le sexe, l'apparition du diabète, l'évolution du FIB4) présentant tous une probabilité différente de complications hépatiques. Dans la cohorte de validation, 191 évènements ont été observés (49 décompensations de cirrhose et 142 CHC) avec un suivi médian des 6620 patients de 3.2 (2.0-4.4) années. Les courbes de survies observées sont proches de celles prédites dans la cohorte de validation, et les prédictions dynamiques présentent un bon BS dynamique avec un horizon de un an (0.024 au temps landmark $s=1$ an ; 0.018 à $s=2$ ans ; 0.014 à $s=3$ ans).

Conclusion : Des mesures répétées de paramètres simples (FIB4 et statut diabétique) et de mesures à baseline (le sexe) permettent une prédiction personnalisée du risque résiduel de complications hépatiques après la RVS. Notre modélisation dynamique améliore la stratification du risque après éradication du virus chez les patients infectés par le VHC.

Reprogrammation du succinylome de l'épithélium respiratoire lors de l'infection grippale

Alan WACQUIEZ¹, Deborah BREA¹, Adeline CEZARD¹, Antoine GUILLON¹, Valentin SABATET², Florent DINGLI², Damarys LOEW², Elise BIQUAND¹ et Mustapha SI-TAHAR¹

(1) Centre d'Etude de Pathologies Respiratoires (CEPR), INSERM U1100, 37032 Tours, France

(2) Institut Curie, Mass Spectrometry and Proteomics facility, 75248 Paris, France

Introduction :

Nos récentes données indiquent que la succinylation régule le cycle des virus *influenza*. En effet, la seule succinylation de la nucléoprotéine virale (NP) limite la production de néovirions en provoquant la rétention nucléaire de la NP et en réduisant son affinité avec l'ARN viral. A présent, nos travaux examinent à plus large échelle le succinylome cellulaire, l'objectif in fine étant d'identifier les protéines de l'hôte régulées par cette MPT en présence ou non du virus grippal.

Méthode :

Une approche protéomique a été développée sur un modèle d'épithélium pulmonaire humain (cellules Beas-2B) infecté ou non par la grippe (A/Scotland/20/74(H3N2)). Les peptides sont extraits en utilisant la technologie PTMScan (Cell Signaling Technologies) et les peptides succinylés sont enrichis par immuno-précipitation (PTM-401, PTM biolabs) puis analysés par LC-MS (Institut Curie, Paris). Une comparaison des intensités des sites succinylés (log10) est réalisée entre les conditions témoin et infectée.

Résultats :

Nos résultats préliminaires indiquent un remodelage du succinylome de l'épithélium pulmonaire humain lorsque celui-ci est exposé au virus grippal. Ainsi, parmi les 90 sites succinylés spécifiquement au cours de cette infection virale figurent des protéines impliquées dans la machinerie traductionnelle ainsi que dans le remodelage du cytosquelette.

Conclusion :

La succinylation – une nouvelle MPT ciblant les lysines – est capable de réguler activement le cycle des virus *influenza* en perturbant l'assemblage des ribonucléoprotéines virales (RNPv). D'autres protéines succinylées pourraient également intervenir dans ce phénotype.

Sensibilité des bacilles gram négatifs multi-résistants au céfidérocol.

Auteurs : M.Abid (1), N.Lepine (1), M.F.Lartigue (1,2)

- (1) Unité de bactériologie et hygiène hospitalière, Hôpital Trousseau, Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHRU Tours
- (2) Université de Tours, INRAE, ISP, F-37000

Objectif : Le céfidérocol est une nouvelle céphalosporine conjuguée à un sidérophore. Ainsi, il peut se lier au fer libre extracellulaire permettant un transport actif de l'antibiotique. De plus, ce sidérophore protège la molécule de l'activité hydrolytique de la plupart des β -lactamases. Grâce à ce nouveau mécanisme d'action, le céfidérocol pourrait être une alternative en cas d'impasse thérapeutique pour les bacilles gram négatifs multi-résistants.

Le but de cette étude est de déterminer la sensibilité des entérobactéries produisant des carbapénèmases, de *Pseudomonas aeruginosa* et *Stenotrophomonas maltophilia* multi-résistants au céfidérocol.

Méthode : La sensibilité au céfidérocol a été étudiée à l'aide de disque chargé à 30 microgrammes et interprétée d'après les diamètres critiques du CASFM 2021. Vingt-cinq souches ont été testées : 10 souches de *P. aeruginosa* multi-résistants (résistant à la ceftazidime et à l'imipénème), huit souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase (5 OXA-48 et 3 NDM) et sept souches de *S. maltophilia* résistant à la Ceftzadime ou à l'association Ticarcilline-acide clavulanique.

Résultats : Vingt-et-une souches sur 25 (84%) étaient sensibles au céfidérocol :

- 80% des *P. aeruginosa*,
- 75% des entérobactéries productrices de carbapénèmases (une souche OXA-48 et une souche NDM présentaient une résistance au Céfidérocol)
- 100% des *S. maltophilia*
-

Conclusion : Quatre-vingt-quatre pour cent des souches sélectionnées étaient sensibles au céfidérocol. Cette molécule pourrait donc être utilisée comme antibiotique de dernier recours dans le traitement des patients atteints d'infections à bactéries à Gram négatif multi-résistantes. Toutefois, cette étude a été réalisée sur un faible nombre de souches. Des tests complémentaires seront nécessaires pour confirmer ces résultats.

Srn024, un petit ARN impliqué dans l'adaptation du pathogène *Streptococcus agalactiae* à son environnement

Nancy Jabbour¹, Eric Morello¹, Lucie Noël^{1,2}, Emilie Camiade¹, et Marie-Frédérique Lartigue^{1,2}

¹ Université de Tours, INRAE, ISP, F-37000, Tours, France

² Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Service de Bactériologie, Virologie, et Hygiène Hospitalière, Tours, France

Streptococcus agalactiae est la première cause d'infections néonatales humaines et un pathogène opportuniste pour plusieurs hôtes. Afin de survivre et coloniser l'hôte, la bactérie s'adapte à son environnement en modulant l'expression de ses gènes. Les petits ARN (sRNA), impliqués dans cette régulation, peuvent eux-mêmes être régulés par les systèmes à deux composants (TCS). Chez *S. agalactiae*, quatre sRNA ont été identifiés par RNAseq : Srn015, Srn024, Srn070 et Srn085. Des prédictions bio-informatiques indiquent que ces sRNA, nommés csRNA, seraient régulés par le TCS CiaRH. Les objectifs de ce travail sont de prouver le rôle de CiaRH dans l'expression de ces sRNA et d'identifier une cible de Srn024, afin de mieux comprendre les réseaux de régulation bactériens. Pour prouver l'appartenance de ces sRNA au régulon CiaR, leur expression a d'abord été quantifiée par fusions transcriptionnelles dans les souches NEM316WT, NEM316 Δ *ciaRH* et NEM316 Δ *ciaRH::ciaRH*^{in situ}. La séquence promotrice TTTAAG-5N-TTTAAG de Srn024, qui semble indispensable à la régulation des sRNA par la protéine CiaR, a été mutée afin d'évaluer par fusion transcriptionnelle l'impact de ces mutations sur l'expression de Srn024. Des prédictions bio-informatiques ont été réalisées pour identifier les cibles potentielles de Srn024. La régulation traductionnelle des gènes cibles par Srn024 a été évaluée dans NEM316WT, NEM316 Δ *srn024* et NEM316 Δ *srn024::srn024*^{in situ} à l'aide d'un plasmide de fusion traductionnelle construit au laboratoire. Les fusions transcriptionnelles ont permis de mettre en évidence une régulation positive des quatre sRNA par le TCS CiaRH. De plus, les mutations réalisées dans la séquence promotrice TTTAAG-5N-TTTAAG montrent que cette séquence est indispensable pour la régulation de Srn024 par CiaR. Les analyses bio-informatiques ont permis d'identifier l'ARNm Gbs1288 comme cible potentielle de Srn024 (-17,17 Δ g). La fusion traductionnelle a montré une régulation négative de cette cible par Srn024. Gbs1288 est une pullulanase produite en présence de pullulane et de glycogène dans la souche COH1. Cependant, cette protéine n'est pas exprimée en présence de glucose. Ces résultats semblent indiquer

que *S. agalactiae* s'adapte aux sources nutritives disponibles dans son environnement par le biais de Srn024.

Amélioration du diagnostic des maladies mitochondriales à l'aide de la variation de l'hétéroplasmie des variants de l'ADN mitochondrial dans le sang et les urines

M. Denis (1), V. Desquirit-Dumas (2)(3), N. Gueguen (2)(3), M. Barth (1), E. Colin (1)(3), P. Marcorelles (4), A. Trocme-Goldenberg (5), A. Nadaj-Pakleza (6), C. Giron (7), C. Quélin (8), P. Reynier (2)(3), P. Amati-Bonneau (2), V. Procaccio (1)(3), C. Bris (1)(3)

- (1) Service de Génétique, CHU d'Angers, F-49000, France
- (2) Service de Biochimie et biologie moléculaire, CHU d'Angers, F-49000, France
- (3) MitoLab, UMR CNRS 6015, INSERM U1083, Institut MitoVasc, Université d'Angers, France
- (4) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU de Brest, F-29200, France
- (5) Service de Génétique Clinique, CHU de Rouen, F-76000, France
- (6) CRMN d'origine génétique de l'enfant et de l'adulte, CHU de Strasbourg, F-67100, France
- (7) Service de Génétique Médicale, APHP, GHU Pitié-Salpêtrière, F-75013 Paris, France
- (8) Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, F-35000, France

Introduction : Actuellement, plus de 250 variants pathogènes ont été identifiés sur le génome mitochondrial (ADNmt), avec un large spectre clinique, notamment en raison du phénomène d'hétéroplasmie. De plus, le séquençage de nouvelle génération a considérablement augmenté l'identification de nouveaux variants de signification inconnue (VSI), augmentant la complexité de l'interprétation de l'ADNmt.

Méthode : L'objectif de notre étude était de comparer l'hétéroplasmie des variants de l'ADNmt dans le sang et l'urine afin d'améliorer les corrélations génotype-phénotype et prioriser les VSI. Les taux d'hétéroplasmie ont été quantifiés pour 179 variants chez 174 patients, sur des échantillons d'urine et de sang.

Résultats : Comme précédemment rapporté, la corrélation génotype-phénotype est apparue plus significative dans l'urine que dans le sang pour les patients porteurs du m.3243A>G. Des résultats similaires ont été obtenus pour d'autres variants pathogènes de l'ADNmt, accréditant l'utilité de l'urine pour le diagnostic des maladies mitochondriales. Cependant, la correction de l'hétéroplasmie, en tenant compte de l'âge ou du sexe, n'a pas amélioré ces corrélations. En raison de la variabilité de la distribution tissulaire des variants hétéroplasmiques de l'ADNmt, l'analyse multivariée a permis de distinguer les polymorphismes des variants pathogènes et de discriminer les porteurs asymptomatiques des patients symptomatiques, suggérant l'intérêt de cette comparaison pour la priorisation des VSI. Cette approche a été appliquée à 10 VSI, dont 9 nouveaux variants, et permet de classer 6 d'entre eux : Cinq comme probablement pathogènes (m.5668G>A, m.7778T>C, m.8186G>A, m.10161A>C, m.15243G>A) et un comme polymorphisme (m.8809A>G). Pour 4 variants (m.5770C>G, m.8816A>C, m.8980C>T, m.13679C>T) cette approche n'a pas permis de conclure.

Conclusion : Notre étude confirme l'utilité des cellules uroépithéliales pour le diagnostic mitochondrial, permettant de meilleures corrélations génotype-phénotype et facilitant la priorisation des nouveaux variants.

Caractérisation pharmacologique de deux voies de signalisation de 7 variants du récepteur humain de la mélanocortine-4 (MC4R)

Auteurs : FE Fabienne Emeriau (1), PR Pr Patrice Rodien (1,2,3), RC Pr Régis Coutant (1,4), MM Dr Mathilde Munier (1,2,3).

- (1) Laboratoire Inserm 1083 - CNRS 6015, Angers
- (2) Service d'endocrinologie, diabétologie et nutrition, CHU d'Angers
- (3) Centre de référence des maladies rares de la thyroïde et des récepteurs hormonaux, Angers
- (4) Service d'endocrinologie pédiatrique, CHU d'Angers

Introduction : Le défaut de signalisation du récepteur *MC4R* est la forme la plus fréquente d'obésité monogénique apparaissant dès la petite enfance, et est responsable d'une obésité sévère en lien avec une hyperphagie et une diminution énergétique de base. Ce récepteur couplé aux protéines G joue un rôle majeur comme régulateur de la prise alimentaire au niveau hypothalamique. Il est activé par deux principales hormones : l' α MSH qui a une action anorexigène et l'AgRP, qui a une action orexigène. Il est associé à différentes voies de signalisation, liées à des effets biologiques différents. Les mutations responsables d'obésité sont classiquement décrites comme étant des mutations perte de fonction sur la voie de signalisation liée à la protéine Gs, mais 25% des patients obèses avec une mutation *MC4R*, ne présentent pas d'altération de cette voie de signalisation. De récents travaux s'intéressent donc à étudier d'autres voies de signalisations, telles que l'activité constitutive, la voie de la β -arrestine jusqu'alors peu décrites mais qui pourraient être impliquées dans le développement de l'obésité. L'objectif principal est de caractériser l'activité basale, et la voie de signalisation liée à la protéine Gq de 7 variants du récepteur MC4R associés à différents phénotypes.

Méthode : Nous avons dans un premier temps validé nos techniques en vérifiant la réponse à l' α MSH sur la voie de signalisation Gs, déjà décrite pour ces variants. Par la suite nous avons étudié l'activité constitutive des variants, sans stimulation par α MSH, sur la voie de signalisation Gs, en évaluant la production d'AMPc par une méthode de bioluminescence. Enfin nous avons étudié la voie de signalisation Gq en réponse à une stimulation par α MSH, en étudiant la mobilisation calcique intracellulaire avec une technique de fluorescence.

Résultats : Pour l'étude de l'activité basale, ce travail a permis de classer les variants en 3 catégories : activité potentialisée, activité basale semblable et ceux avec une activité abaissée par rapport à MC4R WT. L'analyse de la voie Gq a permis de classer nos variants en 2 groupes selon leurs EMax, leurs courbes doses réponse et courbes de cinétiques en 2 groupes : les WT-like et les variants pertes de fonction.

Conclusion : Nous avons obtenu de nouvelles données pour ces variants MC4R, qui n'ont jamais été décrites pour la majorité des variants. Certains de ces variants n'ont pas d'altération

de la voie de signalisation Gs mais sont néanmoins retrouvés chez des enfants obèses, ainsi l'exploration de la voie Gq permet de participer à l'explication du développement de l'obésité.

Création et évaluation d'un site web d'information sur les troubles alimentaires pédiatriques ou troubles de l'oralité alimentaire

Auteurs : I.Ettori-Ajasse (1,2), E.Fort (1), C.Rebouilleau (1), C.Chamant (1)

- (1) Département universitaire de médecine générale, Faculté de médecine, Université de Tours
(2) Equipe EES – EA7505, Université de Tours

Introduction : Les troubles de l'oralité de l'enfant concernent 25 à 35% des enfants au développement normo typique et jusqu'à 80% des enfants avec un trouble développemental. Ces derniers bénéficient d'un parcours de soins bien défini, contrairement aux enfants présentant des difficultés alimentaires isolées. Les médecins généralistes (MG) sont peu informés et les parents sont désemparés. Il n'existe pas d'outil de dépistage validé en France pour ces troubles.

L'objectif de ce travail était d'élaborer une interface parents/médecins d'informations et d'aide au repérage et à la prise en charge de ces troubles et d'en évaluer l'acceptabilité auprès des parents et des MG. L'objectif secondaire était d'évaluer l'acceptabilité d'une fiche de préparation à la consultation.

Méthode : Un site web et une fiche de préparation à la consultation ont été créés à partir d'une analyse non exhaustive de la littérature. Une étude d'acceptabilité du site web et de la fiche de préparation à la consultation a été réalisée par auto-questionnaire diffusé en ligne et par des entretiens focalisés. L'utilisabilité du site a été évaluée par le questionnaire System Usability Scale (SUS). Une analyse statistique a été réalisée pour les autres données quantitatives. Les questions ouvertes et les entretiens focalisés ont été analysés par codage ouvert.

Résultats : DECLIC-ORALITE a été créé. Il y a eu 136 réponses (73 parents, 63 médecins) et 3 entretiens focalisés de mmédecins généralistes. Le score SUS était de 77 pour les parents et 74 pour les MG 82 % des parents étaient satisfaits du site. Une majorité des médecins déclaraient que le site remplissait ses objectifs et étaient plutôt prêts à l'utiliser à l'avenir.

Conclusion : L'interface parents/médecins DECLIC-ORALITE semble acceptable en soins premiers. La validation d'un outil de dépistage pourrait améliorer le repérage de ces troubles.

Double occurrence de variants pathogènes de l'ADNmt : une cause de maladie mitochondriale sous-estimée.

R. Benarbia (1), S. Bensaber, P-L. Brassard, D. Goudenège, V. Desquirit-Dumas, N. Gueguen, M. Barth, M. Spinazzi, P. Bonneau, P. Reynier, V. Procaccio (1),(2), C. Bris (1),(2)

(1) Service de génétique, CHU d'Angers, Angers, France

(2) Université d'Angers, MitoLab, UMR CNRS 6015—INSERM U1083, SFR ICAT, France

Introduction : Les maladies mitochondriales primaires ont une prévalence de 1/4300 dans la population avec actuellement plus de 90 variants pathogènes confirmés de l'ADN mitochondrial (ADNmt) dans les bases de données. Cependant, malgré un taux de mutation 20-25 fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire, la cooccurrence de variants pathogènes de l'ADNmt semble rare dans la littérature, avec moins d'une vingtaine de cas décrits.

Méthode : L'objectif de ce travail était d'évaluer la prévalence des cooccurrences des variants pathogènes de l'ADNmt chez les patients adressés au laboratoire pour un diagnostic de maladie mitochondriale entre 2014 et 2020, grâce au séquençage systématique de la totalité de l'ADNmt par séquençage haut débit.

Résultats : Les données du séquençage de l'ADNmt de 4800 patients ont été analysées. La cooccurrence de deux variants pathogènes confirmés a été identifiée chez 7 patients, issus de trois familles, soit 0,15% des patients. Chez une première famille présentant une histoire familiale de neuropathie optique héréditaire de Leber (NOHL), la présence de 2 mutations primaires de NOHL a été identifiée chez cinq membres : la m.11778G>A à des taux d'hétéroplasmie variables en fonction des patients et la m.14484T>C à l'état homoplasmique. Chez une patiente présentant une atrophie optique isolée, en plus du variant m.13042G>A à 34% identifié dans le sang, variant pathogène reporté dans ce phénotype, nous avons identifié la présence de la m.3243A>G, responsable du syndrome MELAS, à 7% dans les urines et 3% dans le sang. Enfin, chez une 3^{ème} patiente présentant une ataxie spinocérébelleuse, une faiblesse musculaire ainsi qu'une polyneuropathie sensitivo-motrice, la présence simultanée de la m.8344A>G à 57%, responsable du syndrome de MERFF, et de la m.3243A>G à 32% a été identifiée dans les urines. L'analyse de la ségrégation familiale a montré que seul le variant m.3243A>G était présent chez les autres membres de la famille.

Conclusion : La cooccurrence de variants pathogènes de l'ADNmt n'est pas un événement aussi rare que pouvait le laisser présager les données de la littérature. Notre étude confirme l'intérêt du séquençage total de l'ADNmt par séquençage haut débit plutôt que des approches ciblées pour permettre leur identification et ainsi améliorer le diagnostic et le conseil génétique et suggère également l'intérêt d'une analyse intégrative de l'ensemble des variants de l'ADNmt afin d'identifier la cooccurrence de variants rares ou l'influence des haplogroupes mitochondriaux dans les maladies mitochondriales.

Exploration des voies physiopathologiques dans la stomatodynie primaire (« Burning Mouth Syndrome ») par analyse comparative salivaire du métabolome, des cytokines pro-inflammatoires, des hormones stéroïdiennes et des médiateurs de l'inflammation neurogène : étude prospective cas/témoins

AUTEURS : Charlotte Moreau (1,2), Chakib El Habnoui MD (1,2), Jean-Claude Lecron PhD (3), Franck Morel PhD (3), Adriana Delwail, MS (4), Christelle Le Gall-Ianotto MD (5), Raphaele Le Garrec MD (5), Laurent Misery MD PhD (5), Eric Piver MD PhD (6), Loïc Vaillant, MD, PhD (1,2), Antoine Lefevre (7), Patrick Emond PharmD PhD (1,7), Hélène Blasco PharmD PhD (1,8), Mahtab Samimi MD PhD (1,2,9)

(1) University François Rabelais, Tours, France, 37044 Tours Cedex, France

(2) Department of dermatology, University Hospital of Tours, Avenue de la République 37170 Tours Cedex, France

(3) Laboratory Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines EA 4331, Poitiers University and Immunology/inflammation Laboratory, Poitiers University Hospital, Poitiers, France

(4) ImageUP, Plate-forme d'Imagerie and Laboratoire Signalisation et Transport Ioniques Membranaires ERL CNRS 7003/EA 7349, Poitiers University, Poitiers, France

(5) Univ Brest, LIEN (« Laboratoire Interactions Epithelium Neurones »), F-29200 Brest, France

(6) Department of Biochemistry and Molecular Biology, University Hospital of Tours, Avenue de la République 37170 Tours Cedex, France Inserm UMR 1259 – « Morphogenèse et antigénicité du VIH et des virus des hépatites (MAVIVH) »

(7) Department of In Vitro Nuclear Medicine, University Hospital of Tours, Avenue de la République 37170 Tours Cedex, France Inserm UMR 1253 – iBrain – « Imagerie, Biomarqueurs et Thérapie »

(8) Department of Biochemistry and Molecular Biology, University Hospital of Tours, Avenue de la République 37170 Tours Cedex, France Inserm UMR 1253 – iBrain – « Neurogénomique et physiopathologie neuronale »

(9) BIP, 1282 INRA University of Tours, France

Introduction : La stomatodynie primaire (SP) (« Burning mouth syndrome » (BMS)) est caractérisée par une douleur buccale chronique sans anomalie muqueuse visible et après élimination des causes secondaires. Les hypothèses physiopathologiques avancées sont inflammatoires, neurologiques, hormonales ou psychogènes. Notre objectif était d'explorer la physiopathologie de cette entité par une analyse du métabolome salivaire et des analyses ciblées des cytokines pro-inflammatoires, des hormones stéroïdiennes et des marqueurs de l'inflammation neurogène.

Matériels et méthodes : Cette étude prospective cas-témoins a inclus 26 femmes présentant une SP (cas) et 25 femmes appariées en âge sans pathologie buccale (témoins) du CHU de Tours, France. Les caractéristiques cliniques recueillies pour les patients BMS étaient : durée d'évolution de la maladie, intensité de la douleur (EVA) et caractère

neuropathique (score DN4). La salive a été collectée dans des conditions standardisées. Le métabolome salivaire a été analysé par spectrométrie de masse par chromatographie liquide à ultra-haute performance ; le dosage des médiateurs de la neuro-inflammation (NGF, histamine, tryptase, kallikréine) a été réalisé par ELISA et par dosage de l'activité protéasique (fluorométrique). Le dosage des cytokines pro-inflammatoires (IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, TNF α , IL-22, OSM) a été réalisé par ELISA et méthode Luminex multiparamétrique. Les hormones stéroïdiennes (aldostérone, cortisol, corticostérone, 11-désoxycortisol, déhydro- épiandrostérone (DHEA), DHEAS, progestérone, 17-hydroxyprogestérone, testostérone, androstènedione) ont été évaluées par spectrométrie de masse par chromatographie liquide.

Résultats : Parmi les molécules détectables dans la salive, les concentrations des cytokines pro-inflammatoires, des hormones stéroïdiennes et des médiateurs de l'inflammation neurogène ne présentaient pas de différence significative entre les cas et les témoins. De même, les concentrations salivaires des différentes cytokines, hormones et marqueurs de la neuro-inflammation n'étaient pas associées aux caractéristiques cliniques des patientes BMS (durée d'évolution, EVA, DN4). Parmi les 166 métabolites analysés, l'analyse univariée ne mettait pas en évidence de métabolite significativement discriminant entre les groupes et l'analyse multivariée supervisée en PLS-DA (Partial Least Square-Discriminant Analysis) ne permettait pas de discrimination significative entre les deux groupes (test de permutation, $p=0,35$). Toutefois, l'analyse multivariée permettait d'identifier des métabolites différenciellement détectés entre les groupes, correspondant entre autre à la voie du métabolisme de la tyrosine.

Conclusion : Cette première analyse du métabolome salivaire ne met pas en évidence de signature discriminante entre les groupes, mais a mis en évidence chez les SP une perturbation de la voie du métabolisme de la tyrosine. Parmi les analyses ciblées, nous n'avons pas mis en évidence d'anomalie significative des concentrations salivaires des stéroïdes, des cytokines pro-inflammatoires et de certains médiateurs neuro-inflammatoires chez ces patientes.

Impact de l'acétoacétate sur les dysfonctions mitochondriales induites par le choc septique

Auteurs : B. Buchs (1), M. Corre (1), P. Asfar (2), P. Jeannin (1)

(1) CRCINA UMR Inserm université d'Angers, Angers

(2) Service de Médecine Intensive et Réanimation, C.H.U d'Angers

Introduction : Le choc septique, stade le plus avancé du sepsis, est caractérisé par une réponse inadaptée de l'hôte à une infection et associé à une défaillance d'organes. Malgré une meilleure compréhension de la physiopathologie du choc septique, il existe peu de thérapeutique spécifique et la mortalité reste élevée. De nombreuses études ont montré l'implication des dysfonctions mitochondriales induite par le choc septique sur la mortalité des patients admis en réanimation. Dans ce contexte de crise énergétique, l'administration de corps cétoniques tel que l'acétoacétate (AcAc), utilisé comme substrat alternatif au glucose, est évoqué comme une approche thérapeutique innovante dans le traitement des dysfonctions mitochondriales.

Méthode : 12 patients en état de choc septique répondant aux critères de la classification sepsis-3 ont été inclus dans cette étude (service de réanimation médicale, C.H.U d'Angers). Les cellules mononucléées périphériques (PBMC) ont été isolées à partir du sang total et mis en culture en présence ou non d'AcAc ou de glucose. La dépolarisation mitochondriale, témoin des dysfonctions mitochondriales, a été mesurée par cytométrie en flux en utilisant des sondes fluorescentes MitoTracker Green et MitoTracker DeepRed permettant d'analyser le potentiel membranaire mitochondrial.

Résultats : Les résultats montrent une diminution de la dépolarisation mitochondriale des différentes sous-populations leucocytaires en présence d'AcAc. Cependant, en présence de glucose, aucun effet sur la dépolarisation mitochondriale n'est observé.

Conclusion : Cette étude identifie l'AcAc comme un substrat capable de normaliser le potentiel de membrane mitochondrial chez des sujets en choc septique.

Interventions non programmées des prestataires de santé chez les enfants atteints de diabète de type 1 suivis au CHU d'Angers : existe-t-il un profil de patients à risque ?

Auteurs : JB Justine.Bailleul (1), JAJ Jessica.Amsellem-Jager (1), AD Aurélie.Donzeau (1), JH Jean-François.Hamel (2), RC Régis.Coutant (1)

- (1) Service d'Endocrinologie et Diabétologie Pédiatriques, CHU Angers, Angers, F-49100, France
- (2) Département Hospitalo-Universitaire de Biostatistiques et Méthodologie, CHU Angers, Angers, F-49100, France

Introduction : Notre objectif était d'évaluer les interventions non programmées du prestataire de santé d'enfants atteints de diabète de type 1 traités par pompe à insuline suivis au CHU d'Angers entre 2016 et 2020 et de décrire les facteurs de risque d'interventions.

Méthode : Les appels non programmés reçus par le prestataire ARAIR entre 2016 et 2020 ont été classés selon leurs motifs en « Dépannage majeur » si dysfonction de matériel nécessitant le déplacement du prestataire, « Dépannage mineur » si dysfonction de matériel résolue sans déplacement du prestataire ou aide téléphonique à la prise en charge du diabète, « Contact de routine » en l'absence de dysfonction de matériel. Les caractéristiques patients (âge, sexe, scolarité, âge au diagnostic et ancienneté du diabète, HbA1c, acidocétose ou hypoglycémie sévère pendant l'étude, milieu socio-économique familial) et le modèle de pompe à insuline ont été recueillis pour déterminer les facteurs de risque d'interventions.

Résultats : Entre 2016 et 2020, 161 patients ont été suivis. Quarante-et-un garçons et 80 filles, âgés de 11.7 ± 4.1 ans, avaient un diabète depuis 4.8 ± 3.9 ans, une HbA1c moyenne de 7.7 ± 0.96 %, une incidence d'hypoglycémie sévère de 8.9 pour 100 patient-année et d'acidocétose de 2.3 pour 100 patient-année. Les pompes Medtronic 640G® (31.9 %), Omnipod® (20.9 %), Paradigm VEO 554® (20.2 %), Paradigm non VEO 554® (16.3 %), autres (6.74 %) et T-Slim® (3.9 %) étaient portées. L'incidence d'appels était de 174 pour 100 patient-année, 27 pour 100 patient-année pour « Dépannage majeur », 14 pour 100 patient-année pour « Dépannage mineur ». Le facteur de risque d'appels pour « Dépannage majeur » était un salaire familial ≥ 5000 €. Les facteurs de risque d'appels pour « Dépannage mineur » étaient un salaire familial ≥ 5000 €, la survenue d'acidocétose pendant l'étude et l'utilisation d'une pompe T-Slim®. Il n'y avait pas d'influence des autres covariables.

Conclusion : Nous rapportons une association significative entre appels pour dépannages et situation socio-économique favorable et entre dépannage mineur et acidocétose ou l'utilisation d'une pompe T-Slim®. Nous proposons de renforcer l'éducation thérapeutique autour des dysfonctions de pompe et de réaliser un suivi rapproché des patients à risque.

Rôle de l'IL-34 dans la physiologie pancréatique

Auteurs : **C.Delépine** (1), L.Preisser (1), L.Basset (1), Y.Delneste (1), P.Jeannin (1)(2), C.Beuwillain (1)(2)

(1) Univ Angers, Université de Nantes, CHU Angers, Inserm, CRCINA, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

(2) Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, Angers, France.

Introduction :

Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline, d'anomalies de son action ou d'une combinaison des deux. Trois types de diabète existent : le diabète de type 1 communément appelé insulino-dépendant, le diabète gestationnel et le diabète de type 2 non insulino-dépendant. Le diabète de type 2 représente 90% des cas de diabète et est souvent associé à une situation d'obésité mais également à une inflammation du tissu adipeux et des îlots de Langerhans portée notamment par les macrophages infiltrants. Dans une étude préliminaire, nous avons observé une expression constitutive de l'IL-34 dans le pancréas de sujets sains.

L'IL-34 est une cytokine qui régule la survie des macrophages et leur confère un phénotype régulateur (IL10 high/IL12low). Les données de la littérature montrent que les niveaux sériques d'IL-34 sont augmentés chez les patients diabétiques de type 2. De plus, une étude bio-informatique de 2011 sur une cohorte de patientes a également identifié des modifications génétiques sur le gène de la cytokine comme facteurs de risque pour le développement de la maladie. Ces observations suggèrent un rôle de l'IL-34 dans le diabète de type 2.

Méthode : Afin d'étudier le rôle de l'IL-34 dans le diabète de type 2, nous avons mis en place un modèle de souris invalidées pour le gène de l'IL-34 au niveau du pancréas (IL-34 KO). Ces souris vont permettre de comprendre le rôle de cette cytokine dans la fonction pancréatique et de clarifier son rôle dans la polarisation fonctionnelle des macrophages dans des conditions physiologiques et pathologiques de diabète de type 2.

Résultats : L'analyse de l'expression de l'IL-34 au niveau des îlots pancréatiques a permis de valider sa diminution chez les souris IL-34 KO par rapport aux souris contrôles (souris littermate). Au niveau phénotypique, les souris IL-34 KO mâles et femelles âgées présentent un poids inférieur aux souris contrôles. De plus au niveau de la glycémie, les souris femelles IL-34 KO sont plus insulino-sensibles que les souris contrôles. Il n'y a pas de différences observées chez les souris mâles.

Conclusion : Le modèle de souris invalidées pour le gène de l'IL-34 a été validé par une diminution d'expression de la cytokine observée au niveau des îlots de Langerhans et par l'expression d'un phénotype pour la régulation de la glycémie par rapport aux souris contrôles. La suite du projet consistera à comprendre le rôle de cette cytokine en condition pathologique de diabète de type 2.

Tests non-invasifs de fibrose avancée moins discriminants chez les diabétiques : une différence par essence ou un biais de population ?

Auteurs : J.Boursier (1,2), M.Roux (2)

(1) Laboratoire HIFIH, UPRES 3859, SFR4208, Université d'Angers, Angers, France

(2) Service d'Hépatogastroentérologie, CHU d'Angers, Angers, France

Introduction : Certains travaux suggèrent que les tests non-invasifs (TNIs) de fibrose avancée seraient moins discriminants chez les patients diabétiques. Nous avons identifié les causes imputables à cette baisse de performance.

Méthode : Nous nous sommes appuyés sur une cohorte multicentrique comptant 1051 patients issus des centres d'Angers, Bordeaux et Grenoble. Chaque patient disposait de résultats pour les 6 TNIs suivants : NAFLD fibrosis score, FIB4, Fibrotest, Fibromètre V2G (FMV2G), Fibroscan (FS) et le Fibromètre VCTE (FMVCTE). La capacité discriminante a été évaluée par l'aire sous la courbe ROC (AUC). Les variables indépendamment liées au statut diabétique ont été identifiées par régression logistique et hiérarchisées par les coefficients standardisés de régression. A partir de ces variables, des scores de propension ont été calculés et ont servi à stratifier la population en quartile. Finalement, chaque TNI a été évalué par strate.

Résultats : 39.5% de patients avaient une fibrose avancée et 49.8% étaient diabétiques. Tous les TNIs avaient un AUC significativement moins élevé chez les diabétiques. A seuil fixé, le taux de faux positifs était plus important chez les diabétiques. Néanmoins les caractéristiques des diabétiques étaient significativement différentes des non diabétiques. On pouvait donc évoquer soit un biais de population, soit un « effet propre » du diabète. La hausse du FIB4 était liée uniquement à l'âge ; celle du Fibrotest principalement à l'haptoglobuline et à l'âge ; celle du FMV2G principalement à l'âge et l'alpha 2 macroglobuline (A2M) ; et celle du FMVCTE principalement à l'âge, le FS et l'A2M. Pour chaque test, ajustées sur ses variables constitutives influencées par le statut diabétique, les moyennes des tests chez les diabétiques et chez les non-diabétiques étaient similaires. Des scores de propension ont été calculés à partir de ces variables pour chaque test et la population a été stratifiée selon les quartiles des scores. Aucune différence significative n'a pu être montrée entre l'AUC des tests obtenu sur la population diabétique et celle non-diabétique au sein de chaque strate.

Conclusion : Les différences de performance observées pour les TNIs entre les diabétiques et les non diabétiques sont, d'une part liées à un biais de population (diabétiques plus âgés),

et d'autre part probablement liées à un effet propre du diabète (élévation de l'A2M chez les diabétiques, PMID 31506491).

“OMICS” PROFILING OF PLASMA-DERIVED EXOSOMES: THE SEARCH OF BIOMARKERS FOR EARLY-STAGE ALS

Lanznaster D(1), Bruno C(1), Dangomau A (1), Vourc'h P(1), Corcia P(1), Andres CR(1), Duguez S(2), Duddy W(2), Blasco H(1)

(1) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, INSERM, Tours, France

(2) University's Northern Ireland Centre for Stratified Medicine, Londonderry, Northern Ireland

Introduction: An urgent and unmet need in ALS is the identification of reliable biomarkers for this disease. Biomarkers may improve diagnosis, especially in early stages and could improve therapeutics efficiency. Plasma biomarkers or biomarkers from other peripheral tissues easy to be obtained and analyzed in a daily clinical practice have to be developed. Interestingly, brain-derived extracellular vesicles (EVs) can be found in plasma and used as a direct read-out of the status of the central nervous system. EVs have unique membrane composition, regarding lipids and proteins. However, no characterization was done so far for EVs derived from ALS patients. Here, we aimed to characterize the composition of plasma EVs from ALS patients to identify putative biomarkers using omics approaches.

Méthode: We obtained plasma EVs from 10 controls and 10 ALS patients included in the protocol METABOMU (NCT02670226, N°IdRCB: 215-AO1629-40). EVs were purified through Size Exclusion Chromatography method.

Résultats: Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) revealed no differences regarding average size of EVs (Controls: 141.4 ± 9.75 nm; ALS: 16.5 ± 13.2 nm; mean \pm SD) nor concentration of particles (Controls: 4.61×10^{10} particles/mL; ALS: 4.25×10^{10} particles/mL). Interestingly, ALS- and controls-derived EVs presented different Zeta potential (Controls: -22.53 ± 4.3 mV; ALS: -8.01 ± 7.9 mV; mean \pm SD; $p=0.001$ Unpaired t test). Proteomics analysis were performed by LC-MS/MS followed by TimsTOF Pro Mass Spectrometer. Proteomics analysis revealed 203 proteins significantly different between groups ($P_{adj} < 0.05$). Further analysis with PLGEM algorithm revealed 45 different proteins ($p < 0.05$), 35 being increased in ALS patients in comparison to controls' EVs (for example, serum amyloid proteins and proteins S100-A9 and S100-A7) while other 10 proteins presented higher levels in Controls-EVs (ex. destrin).

Conclusion: Western blot, metabolomics and lipidomics analysis are currently being performed to confirm the differences suggested so far between Controls- and ALS-derived plasma EVs. We will further validate the application of the identified molecules or profile of molecules from EVs as putative biomarkers for ALS diagnosis.

Des variations du gène **SEMA6B** sont responsables de déficience intellectuelle et altèrent la densité synaptique et le guidage axonal

A. Cordovado(1), M. Schaettin(3), M. Jeanne(1),(2), V. Panasenkava(1), A. Denommé-Pichon(4),(31),(32), B. Keren(5), C. Mignot(5), M. Doco-Fenzy(6), L. Rodan(7),(8), K. Kramsey(9), V. Narayanan(9), J. R. Jones(10), E. J. Prijoles(11), W. G. Mitchell(12), J. R. Ozmore(13), K. Juliette(14), E. Torti(15), L. Granger(16), A. K. Petersen(17), M. G. Au(18), P. Sturm(19), C. Phornphutkul(20), MK Chambers(21), J. A. Fernández-Ramos(22), E. Lopez-Laso(22), M. C. Kruer(23),(24), S. Bakhtiari(23),(24), M. Zollino(25),(26), M. Morleo(27), G. Marangi(25),(26), D. Mei(28), T. Pisano(28), R. Guerrini(28), R. J. Louie(11), A. Childers(11), D. B. Everman(11), R. Redon(29), S. Béziau(29),(30), Bertrand Isidor(33), Séverine Audebert-Bellanger(34), Sylvie Odent(35), Estelle Colin(36), Brigitte Gilbert-Dussardier(37), F. Laumonier(1), E. T. Stoeckli(3), A. Toutain(1),(2), ML. Vuillaume(1),(2).

- (1) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France
- (2) Service de génétique, CHU de Tours, Tours, France
- (3) Department of Molecular Life Sciences and Neuroscience Center Zurich, University of Zurich, Zurich 8057, Switzerland
- (4) Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, Dijon, France
- (5) Département de génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP.Sorbonne Université, Paris, France
- (6) CHU Reims, AMH2, secteur de génétique, SFR CAP santé EA3801, Reims, France
- (7) Division of Genetics and Genomics, Department of Pediatrics, Boston Children's Hospital, Boston, MA, USA
- (8) Department of Neurology, Boston Children's Hospital, Boston, MA, USA
- (9) Center for Rare Childhood Disorders, Translational Genomics Research Institute, Phoenix, AZ, USA
- (10) Molecular Diagnostic Laboratory, Greenwood Genetic Center, Greenwood, SC, USA
- (11) Greenwood Genetic Center, Greenwood, SC, USA
- (12) Neurology Division, Keck School of Medicine, University of Southern California, Children's Hospital Los Angeles, USA
- (13) Dartmouth Hitchcock Medical Center, Lebanon, NH, USA
- (14) Gillette Children's Specialty Healthcare: Neurology Department, St Paul, MN 55101, USA
- (15) GeneDX, Gaithersburg, MD, USA
- (16) Randall Children's Hospital at Legacy Emanuel, 2801 N. Gantenbein Ave | Portland, OR 97227 | 503-413-4156, USA
- (17) Genetics Divison, Pediatric Development and Rehab, Randall Children's Hospital, 2801 N. Gantenbein, Portland, OR 97227, USA
- (18) Pediatric Genetics & Metabolism, Kentucky Children's Hospital, UK HealthCare, 138 Leader Ave. | Suite 116 | Lexington, KY 40506, USA
- (19) University of Kentucky: Department of Genetics and Metabolism, Lexington, KY 40536, USA
- (20) Division of Human Genetics, Department of Pediatrics, Warren Alpert Medical School of Brown University, Hasbro Children's Hospital, Providence, RI 02903, USA
- (21) Division of Genetics, Rhode Island Hospital, Hasbro Children's Hospital, 593 Eddy Street, POB 234, Providence, RI 02903, USA
- (22) Pediatric Neurology Unit, department of Pediatrics, University Hospital Reina Sofía, IMIBIC and CIBERER, Córdoba, Spain
- (23) Pediatric Movement Disorders Program, Division of Pediatric Neurology, Barrow Neurological Institute, Phoenix Children's Hospital, Phoenix, AZ, USA
- (24) Departments of Child Health, Neurology, and Cellular & Molecular Medicine, and Program in Genetics, University of Arizona College of Medicine-Phoenix, Phoenix, AZ, USA
- (25) Università Cattolica Sacro Cuore, Dipartimento Scienze della Vita e Sanità Pubblica, Sezione di Medicina Genomica, Roma, Italy
- (26) Fondazione Policlinico A. Gemelli IRCCS, U.O.C. Genetica Medica, Roma, Italy
- (27) Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli, Naples, Italy

- (28) Pediatric Neurology, Neurogenetics and Neurobiology Unit and Laboratories, Meyer Children's Hospital, Member of ERN Epicare, University of Florence, Florence, Italy
- (29) INSERM, CNRS, UNIV Nantes, l'institut du thorax, 44007 Nantes, France
- (30) Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Service de Génétique Médicale, 9 quai Moncousu, 44093 Nantes, France
- (31) UMR1231 GAD, Inserm-Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
- (32) Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, Dijon, France
- (33) Service de génétique médicale - Unité de Génétique clinique, CHU de Nantes - Hôtel Dieu, 1 place Alexis Ricordeau, 44093 NANTES CEDEX 1, France
- (34) Service de Génétique Clinique, CHRU de Brest - Hôpital Morvan, 2 Avenue Foch, 29609 BREST CEDEX, France
- (35) Service de Génétique Clinique, Institut de Génétique et Développement de Rennes IGDR, UMR 6290 Université de Rennes, Hôpital SUD, 16, Bd de Bulgarie BP 90347, 35 203 Rennes cedex 2, France
- (36) Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49933 ANGERS CEDEX 9, France
- (37) Génétique médicale, CHU La Milétrie, BP 577, 86021 Poitiers-Cedex, France

Introduction : La déficience intellectuelle (DI) est un trouble neuro-développemental fréquent touchant 1 à 3% de la population et d'origine majoritairement génétique. Par séquençage à haut débit d'exome chez des patients atteints de DI sévère puis après un appel à collaboration internationale sur GeneMatcher, le gène *SEMA6B* a été identifié comme un bon candidat pour la DI. Quatorze variations dont onze jamais décrites dans la littérature (quatre faux-sens, six frameshift et quatre non-sens dont deux récurrents) ont ainsi été identifiées chez seize patients non apparentés atteints de déficience intellectuelle sévère à modérée sans dysmorphie reconnaissable ni malformation. Les patients avaient un langage limité à quelques mots ou absent, des troubles de motricité globale et de motricité fine, des stéréotypies et une épilepsie pour la majorité d'entre eux. Des données d'imagerie cérébrale étaient disponibles pour 7 patients, mentionnant des anomalies modérées et non spécifiques chez 3 d'entre eux : atrophie corticale, atrophie cérébelleuse, corps calleux fin ou court, syndrome d'interruption de la tige pituitaire. Le gène *SEMA6B* code la protéine sémaphorine 6B, une protéine chimioréulsive inhibant la croissance axonale lors du développement du système nerveux central.

Méthode : Afin de démontrer l'implication de ce gène dans un phénotype neurodéveloppemental, nous avons initié des études fonctionnelles en générant des constructions plasmidiques contenant la forme sauvage ou mutée du gène *Sema6b* (cDNA murin). Ces constructions ont été surexprimées dans des lignées cellulaires (HEK293T) puis dans des cultures primaires de neurones hippocampiques de souris. Dans un premier temps, nous avons évalué l'impact de ces mutations sur la stabilité des protéines par Western Blot dans les cellules HEK293T et sur leur localisation subcellulaire par immunocytochimie dans les cellules HEK293T et les cultures neuronales. Les conséquences induites par les variations du gène *Sema6b* sur la morphogenèse et la synaptogenèse ont également été évaluées via l'étude de différents paramètres neuronaux tels que la morphologie, l'arborisation dendritique ou encore la densité synaptique dans les cultures de neurones après analyse en microscopie confocale.

Résultats : Les résultats montrent un impact des variations non-sens sur la localisation subcellulaire de la protéine que ce soit dans les lignées cellulaires HEK293T ou dans les neurones. De plus, les variations semblent altérer la densité synaptique des neurones et la maturation des épines dendritiques. Ces résultats suggèrent que l'expression d'un variant protéique de *SEMA6B* pourrait altérer la morphogenèse neuronale.

Conclusion : Cette étude permet donc de valider la pathogénicité de ces variations et plus largement de démontrer le rôle de la sémaphorine 6B dans la physiopathologie de la DI.

Etude du rôle synaptique de *DPYSL5*, un gène impliqué dans la déficience intellectuelle

F.Desprez (1), S.Marouillat (1), M.Jeanne (1,2), J.Honorat (3), A.Toutain (1,2), ML.Vuillaume (1,2), F.Laumonier (1,2)

(1) iBrain, U1253, Inserm, Université de Tours

(2) Service de Génétique, CHU de Tours

(3) Institut NeuroMyoGene, Lyon

Introduction : Le gène *DPYSL5* (Dihydropyrimidinase like 5) code pour une protéine qui régule la migration neuronale, le guidage axonal et la croissance neuritique par son interaction avec le cytosquelette. Des études de séquençage d'exome ont identifié, chez 9 patients atteints de déficience intellectuelle (DI) avec des malformations cérébrales, deux mutations hétérozygotes *de novo* faux-sens (E41K et G47R) dans le gène *DPYSL5*. Des données antérieures ont montré la présence de la protéine *DPYSL5* dans des fractions synaptiques, suggérant un rôle synaptique chez le neurone mature. L'objectif principal de cette étude est de préciser le rôle physiologique et pathologique de *DPYSL5* au niveau synaptique.

Méthode : Pour évaluer l'impact des deux variants sur le développement des synapses, des cultures de neurones dissociées à partir d'hippocampes d'embryons de souris au stade embryonnaire E17.5 ont été transfectées avec des constructions plasmidiques permettant la surexpression des formes normale et mutées de *DPYSL5* fusionnées à la GFP. Parallèlement, grâce à des modèles murins transgéniques (*Dpysl5^{-/-}* et *Dpysl5^{+/-}*), nous avons évalué les conséquences de l'inactivation totale ou partielle de *Dpysl5* sur l'expression de protéines synaptiques par Western Blot.

Résultats : La surexpression des formes normale et mutées provoquent une augmentation du nombre d'épines dendritiques comparés aux neurones contrôles. L'immunodétection de la protéine PSD95 (postsynaptic density protein 95) dans des neurones primaires transfectés a révélé que la surexpression de la forme sauvage induit une augmentation du nombre d'épines dendritiques matures par rapport aux cellules contrôles et que les deux variants entraînent une perte de cet effet. Nous avons également démontré une diminution de l'expression du transporteur vésiculaire du glutamate (vGluT1) dans les cerveaux *Dpysl5^{+/-}* et *Dpysl5^{-/-}* et une augmentation du niveau d'expression de PSD95 chez les souris *Dpysl5^{-/-}*.

Conclusion : L'ensemble de ces résultats suggère une implication de *DPYSL5* dans la synaptogénèse, la maturation et la transmission synaptique excitatrice. En outre, les deux mutations induisent une perte de fonction dans la maturation des épines dendritiques. Ces éléments fournissent des pistes supplémentaires sur les mécanismes physiopathologiques

impliqués dans la DI, soulignant le rôle essentiel du développement et du fonctionnement de la synapse glutamatergique.

Identification of new genes of interest in amyotrophic lateral sclerosis by microarrays and NGS analyses: focus on the Ubiquitin/SUMO pathways

S. Haouari¹, **S. Marouillat**¹, **C. Brulard**², **H. Blasco**^{1,4}, **C.R. Andres**^{1,4}, **F. Laumonnier**¹, **P. Corcia**^{1,3}, **P. Vourc'h**^{1,2,4}

¹INSERM / U1253 iBrain, Equipe 2 - Neurogénomique et Physiopathologie Neuronale, Tours Cedex 2, France, ²UTTIL, CHRU de Tours, Tours, France, ³Service de Neurologie, Centre de Référence sur la SLA, CHRU de Tours, Tours, France, ⁴Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France

INTRODUCTION Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease characterized by the degeneration of motor neurons where protein aggregates rich in ubiquitin and ubiquitin-like proteins are found. Molecular pathways leading to these aggregates remain incompletely understood and possible implication of pathways related to protein regulation and degradation must be investigated, such as the Ubiquitin (Ub)/SUMO pathways.

METHODS We first studied mouse motor neuronal cell line NSC-34 combining an environmental factor (oxidative stress) and a genetic factor (SOD1 gene mutation). Microarray analysis (Agilent) identified 360 transcripts differentially expressed under oxidative stress.

We next used next generation sequencing (Illumina) on DNA from patients with ALS.

RESULTS Enrichment for genes of the (Ub)/Ub-like pathway was pointed out. We observed a combined effect of the two factors on the expression of genes, such as Uhrf2, Rbx1, Kdm2b, Ube2d2, Xaf1, and Senp1.

We observed for one patient a substitution in HECW1 gene coding for the protein NEDL1. NEDL1 is a E3 HECT ubiquitin ligase capable of ubiquitinate and degrade mutant form of SOD1 protein (*Miyazaki et al. 2004*) and to enhance p53 mediated apoptosis (*Li et al. 2008*). Transgenic mice expressing human NEDL1 show ALS-like symptoms such as muscle atrophy and motoneuron degeneration (*Zhang et al. 2011*).

CONCLUSION In conclusion, we have identified several genes of the ubiquitin/SUMO pathways particularly interesting to study in ALS in order to better understand the pathophysiology of the disease. We focus particularly on one of them encoding the E3 ligase NEDL1.

Identification of novel gene variants for Autism Spectrum Disorders in the Lebanese population using whole-exome sequencing

Perla Gerges (1,2), Tania Bitar (1), Frederic Laumonnier (2), Georges Nemer (3,4), Christian R. Andres (2,5), Walid Hleihel (1,6)

- (1) Faculty of Arts and Sciences, Holy Spirit University of Kaslik (USEK), Jounieh, Lebanon
- (2) UMR 1253 ibrain, Inserm, Université de Tours, Tours, France
- (3) Department of Biochemistry and Molecular Genetics, American University of Beirut, Faculty of Medicine, Beirut
- (4) College of Health and Life Sciences, Genomics and Translational Biomedicine Division, Hamad Bin Khalifa University, Doha, Qatar
- (5) Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France
- (6) School of Medicine and Medical Sciences, Holy Spirit University of Kaslik (USEK), Jounieh, Lebanon

Introduction: In our previous study, in which array-CGH was used on 19 Lebanese ASD subjects and their parents, we have identified rare copy number variants (CNVs) in 14 subjects and the five remaining subjects did not show any CNV related to autism spectrum disorders (ASD).

Methods: In the present complementary study we applied whole-exome sequencing (WES) which allows the identification of rare genetic variations such as single nucleotide variations and small insertions/deletions, to the five negative CNV subjects.

Results: After applying a stringent filtering on the initial data of the five families, three novel genes potentially related to neurodevelopment were identified including a *de novo* mutation in the *MIS18BP1* gene. In addition, genes already known as related to ASD contained sequence variations.

Conclusion: Our findings outline the potential involvement of the novel *de novo* mutation in *MIS18BP1* gene in the genetic etiology and pathophysiology of ASD and highlights the genetic complexity of these disorders. Further studies with larger cohorts of subjects are needed to confirm these observations and functional analyses need to be performed to understand the precise pathophysiology in these cases.

Médiateurs de l'inflammation, lipoprotéines et apolipoprotéines au diagnostic de la sclérose latérale amyotrophique

Auteurs : H. Alarcán (1), M. Berthet (1), L. Suire (2), C. Colas (1), L. Gonzalez (3), C. Paget (3), I. Benz-de Bretagne (2), E. Piver (2), P.Vourc'h (1,4), C. Andres (1,4), P. Corcia (4,5), H. Blasco (1,4)

- (1) Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, CHRU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours, France
- (2) Laboratoire de biochimie, CHRU Trousseau, avenue de la République, 37170 Chambray-lès-Tours, France
- (3) UMR1100 « Infection respiratoire & Immunité », Université de Tours, Inserm, 10 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours, France
- (4) UMR 1253 iBrain, Université de Tours, Inserm, 10 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours, France
- (5) Service de neurologie, CHRU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours, France

Introduction : Il n'y a actuellement pas de biomarqueurs diagnostique ou pronostique utilisable en routine clinique pour la sclérose latérale amyotrophique (SLA). L'objectif de ce travail était la détermination d'une combinaison de plusieurs marqueurs d'inflammation, de lipoprotéines et d'apolipoprotéines dans le sang de patients atteints de SLA, au moment du diagnostic, afin d'évaluer leur rôle en tant que potentiels biomarqueurs diagnostique ou pronostiques de cette maladie.

Méthode : La protéine C réactive, l'orosomucoïde, la préalbumine, la calprotectine, les triglycérides, le cholestérol total, le HDL-cholestérol, l'apolipoprotéine A1, l'apolipoprotéine B ainsi que la lipoprotéine A ont été quantifiés dans le sang de tous les sujets (25 patients SLA, 23 patients contrôles) par les méthodes utilisées en routine au laboratoire. Les médiateurs de l'inflammation ont été évalués par dosage immunologique multiplex utilisant des billes magnétiques. Une stratégie en deux étapes a été utilisée pour chaque analyse : univariée suivie de multivariée afin de considérer un panel de biomarqueurs.

Résultats : 8 composés variaient de façon significative entre les patients SLA et les contrôles. La technique de *Partial least Squares Discriminant Analysis* séparait nos deux groupes avec une bonne *accuracy* (94 %) et le test de permutations était significatif, démontrant la robustesse du modèle. Le modèle de prédiction a montré une sensibilité et spécificité moyennes de 90 (+/- 10) et 78 (+/-10) %, respectivement, avec une valeur prédictive négative et positive moyennes de 80 (+/- 8,9) et 89 (+/-11,8) %, respectivement. Cependant, les modèles n'ont pas discriminé de sous-groupes de patients réalisés en fonction des caractéristiques de la maladie.

Conclusion : Cette étude met en lumière l'intérêt d'évaluer une combinaison de voies différentes plutôt que de se concentrer sur une seule cible. Ces résultats prometteurs suggèrent la réalisation d'un suivi longitudinal de ces candidats afin de préciser leur rôle dans l'évolution de la maladie.

THE IDENTIFICATION OF SCFV'S THAT BIND TO TDP-43 AND PREVENT ITS INDUCED AGGREGATION AS A POTENTIAL THERAPY FOR ALS

Auteurs : Hergesheimer R (1), AlOjaimi Y (1), Haouari S (1), Chami A (1), Vourc'h P (1,2), Andres C (1,2), Corcia P (1,3), Martineau P (4), Lanznaster D (1), Blasco H (1,2)

(1) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, INSERM, Tours, France.

(2) CHU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Tours, France.

(3) CHU de Tours, Service de Neurologie, Tours, France.

(4) UMR 1194, IRCM, INSERM, Montpellier, France

Introduction : Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease that affects motor neurons and leads to the death of patients within 3 to 5 years following the appearance of symptoms. So far, the only two drugs approved for ALS treatment lack significant clinical impact on patients, thus leading to active research in drug development and biomarker exploration. One hallmark of the disease is the presence of toxic cytoplasmic aggregates of the DNA/RNA binding protein TDP-43 in 97% of patients, making this protein a major diagnostic and therapeutic target for ALS. The aim of our study was to find innovative molecules targeting TDP-43 to prevent its aggregation.

Méthode : By way of phage display of a library of small-chain variable fragments (scFv), we identified four clones exhibiting TDP-43-specific affinity. Immunofluorescence and MTT assays were used to assess the expression of scFv plasmids and their cytotoxicity in HEK293T cells, respectively. We then analyzed the possible binding of the scFv's to wildtype TDP-43 by flow cytometry, slot blot, western blot, and the surface plasmon resonance.

Résultats : Flow cytometry on HEK293T cells incubated with purified scFv's suggested an affinity for wildtype TDP-43. In silico binding site prediction revealed potential binding sites including the N-terminus, RRM1 and RRM2 domains, and the C-terminus of TDP-43. MTT reduction analysis demonstrated that the scFv's were not cytotoxic to HEK293T cells, and immunofluorescence showed that two of the four scFv's exhibited robust expression. Dot blot and western blot studies also revealed binding of our scFv's to TDP-43, and a decrease in its aggregated fragments. In addition, surface plasmon resonance confirmed the binding of the scFv to TDP-43, particularly at slightly acidic conditions.

Conclusion : Our results confirm the binding of the selected scFv's to TDP-43 and suggest a potential role in counteracting TDP-43 pathology. In our disease model using lentivirus-transduced Neuro2A cells overexpressing wildtype TDP-43, we will evaluate their possible beneficial effects on the processes altered by pathological TDP-43 including protein aggregation, energy metabolism, RNA metabolism, neurite outgrowth, and cell viability. We will also assess the effect of pegylated nanoprobe functionalized with our scFv's on targeting TDP-43 aggregates in both cellular and animal models of ALS.

Influence du varus préopératoire sur la survie des prothèses de cheville

Auteurs : MB Maxime. Boble (2), LRLN Louis-Romée. Le Nail (2), JB Jean. Brilhault (1, 2)

(1) Faculté de médecine de Tours, 37032 Tours cedex 1, France

(2) Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, CHRU Tours, 37044 Tours cedex 9, France

Introduction : L'importance de la déformation du pied ou de la cheville est un paramètre pronostic majeur du résultat des prothèses de cheville. La déformation en varus est la déformation la plus arthrogène et la plus fréquente. Nous avons postulé qu'un varus préopératoire de cheville supérieur à 15° était péjorative pour le taux de survie des prothèses de cheville.

Méthode : Nous avons réalisé une étude rétrospective comparant les résultats d'une série continue de 57 prothèses de chevilles Salto-Talaris® présentant un varus préopératoire scindée en deux groupes : 31 varus modérés (5-15°) et 26 varus sévères (> 15°). Une évaluation radioclinique avec un recul minimum de 1 an a été réalisée portant sur les taux de complications, de ré-interventions, de changements ainsi que le score AOFAS, les amplitudes articulaires et l'angle tibio-talien au dernier recul.

Résultats : Au recul moyen de 2,4 ans, les taux de survie des groupes varus modéré et varus sévère étaient respectivement de 83% et de 92%. En post-opératoire, le score AOFAS moyen et l'amplitude étaient améliorés de manière significative sans différence entre les deux groupes. La comparaison des survies cumulées des deux groupes n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative.

Conclusion : La sévérité du varus préopératoire ne préjuge pas de la survie de la prothèse totale de cheville. Seuls l'alignement et la stabilité post-opératoire constituent les facteurs déterminants de la survie de l'implant. Ces résultats sont liés à la qualité des gestes associés dont l'objectif était la réduction de la déformation et l'équilibrage ligamentaire.

Intérêt de l'utilisation de la CIF-EA dans la prise en soin du Syndrome d'Ehlers-Danlos de type Hypermobile

Auteurs : Dr Marie CHANTRELLE (1), Dr Amélie Anselmetti (1), Mlle Elise DIETRICH (2), Dr Alban ZIEGLER (3), Pr Dominique BONNEAU (3), Pr Ludovic MARTIN (2), Pr Mickaël DINOMAS (1)

(1) Département de Médecine Physique et de Réadaptation, Les Capucins, Angers, France

(2) Département de Dermatologie, CHU d'Angers, France

(3) Département de Génétique, CHU d'Angers, France

Introduction : Le Syndromes d'Ehlers-Danlos de type hypermobile (SEDh) est une maladie systémique, affectant le tissu conjonctif. Le but de notre étude est de décrire, selon la classification internationale du fonctionnement version pédiatrique (CIF-EA), la symptomatologie et le handicap d'enfants atteints de SEDh suivis en centre de rééducation.

Méthode : Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique, du 1er Janvier 2014 au 31 décembre 2019. Les dossiers médicaux de 47 patients âgés de moins de 18 ans ont été étudiés selon la CIF-EA. Les critères de la CIF ont été définis grâce à la revue de la littérature et un consensus de trois médecins de Médecine Physique et de Réadaptation.

Résultats : Les principales déficiences étaient l'hypermobilité articulaire (100% des cas), les douleurs (plus de 90% des cas), puis les troubles trophiques, les troubles proprioceptifs, les complications articulaires. Les atteintes articulaires prédominaient au niveau des genoux et des chevilles ou pieds. L'écriture, la marche et la participation scolaire étaient les trois tâches les plus touchées en termes de limitation d'activité et de restriction de participation avec plus de 60% des enfants atteints. Des aides techniques étaient fréquemment utilisées, de même que des antalgiques étaient fréquemment pris.

Conclusion : Les enfants et adolescents atteints de SEDh peuvent présenter un pluri-handicap responsable de limitations fonctionnelles dans la vie quotidienne nécessitant une évaluation pluridisciplinaire dès le diagnostic et parfois une prise en soin en MPR.

L'utilisation de Rituximab chez le sujet âgé pour une maladie auto-immune est à risque accru d'infection opportuniste

L. Lemoine (1) ; MS. Agier (2) ; A. Audemard-Verger (1) ; L. Chouchana (3) ; J. Michot (4) ; AP. Jonville-Bera (5) ; F Maillot (1,6)

(1) Médecine interne immunologie clinique, CHU et université de Tours, Tours

(2) Pharmacovigilance, CHU de Tours, Tours

(3) Service de pharmacologie, Hôpital Cochin AP-HP, Paris

(4) Pharmacovigilance, Hôpital Saint-Antoine AP-HP, Paris

(5) Pharmacologie clinique, centre régional de pharmacovigilance, CHU de tours, Tours

(6) UMR INSERM 1253, Tours

Introduction : Le Rituximab, anticorps chimérique antiCD20, est utilisé dans les maladies auto-immunes, y compris chez les sujets âgés. Peu de données sont disponibles sur le profil des effets indésirables du rituximab chez le sujet âgé atteint de maladie auto-immune.

Méthode : L'objectif de cette étude était d'établir le profil des effets indésirables chez les patients de plus de 75 ans traités par rituximab pour une maladie auto-immune, et de les comparer à ceux observés chez les moins de 75 ans. Les effets indésirables rapportés avec le rituximab ont été déclarés aux 31 centres régionaux de pharmacovigilance français. Une analyse descriptive a été réalisée ainsi qu'une confirmation par un test de disproportionnalité.

Résultats : 1097 déclarations d'effets indésirables en lien avec le rituximab en France entre 2006 et 2019 ont été incluses dans cette étude, dont 127 dans le groupe > 75 ans et 970 dans le groupe < 75 ans. Chez les sujets âgés les réactions à la perfusion étaient moins souvent déclarées (11 vs 31%, $p < 0.0001$). En revanche, dans le groupe des patients âgés il existait un taux supérieur de déclaration d'infection opportuniste par *Pneumocystis jirovecii* (3.9 vs 0.7 %, $p < 0.001$) et de neutropénie (22.8 vs 9.3%, $p < 0.0001$). Les résultats étaient similaires avec l'analyse en disproportionnalité.

Conclusion : L'utilisation de rituximab chez le patient âgé semble associé à un sur-risque infectieux et notamment d'infection opportuniste à *Pneumocystis jirovecii*. L'utilisation d'une prophylaxie de la pneumocystose est à considérer dans cette population.

Reconstruction isolée du ligament fémoro-patellaire médial par transfert actif du gracilis : résultats cliniques, radiologiques et amélioration de la technique en percutanée

C. Sos (1), A. Schmitt (2), J. Berhouet (3)

(1) (3) Service de chirurgie orthopédique et traumatologique, Centre Hospitalo-Universitaire Tours - Université de Médecine de Tours François Rabelais, 37000 Tours, France

(2) Service de chirurgie orthopédique et traumatologique, Pôle santé Léonard De Vinci, 37170 Chambray-lès-Tours, France

Introduction : Les études biomécaniques montrent que le ligament fémoro-patellaire médial (LFPM) joue un rôle clef contre la translation latérale de la patella et assure 50 à 60% de la stabilité. Il a été rapporté la possibilité de réaliser une reconstruction isolée du LFPM pour traiter l'instabilité fémoro-patellaire sans corriger les autres facteurs de risque. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les résultats d'une technique de reconstruction isolée du LFPM par transfert actif du gracilis, développée initialement par le Professeur Burdin, dans la récurrence de luxation patellaire. L'objectif secondaire était de développer cette technique par voie percutanée.

Méthode : Nous rapportons ici les résultats cliniques et radiologiques de 17 genoux présentant une instabilité fémoro-patellaire traitée par un transfert actif de gracilis pour reconstruire de façon isolée le LFPM. Nous proposons également, à partir d'un travail anatomique réalisé sur 20 genoux cadavériques, une évolution de cette technique, par voie percutanée, afin d'en diminuer la rançon cicatricielle.

Résultats : Deux patients ont présenté une récurrence de luxation. Les scores Kujala et Lisholm Tegner étaient jugés bons ou excellents dans plus de 70% des cas. Radiologiquement, une amélioration significative de la bascule patellaire a été retrouvée. Lors des dissections réalisées pour développer la technique percutanée, on retrouvait systématiquement un point de réflexion permettant de superposer le transplant au trajet du LFPM natif.

Conclusion : La technique de transfert actif de gracilis est une technique facile, peu iatrogène, reproductible permettant de restituer une anisométrie favorable équivalente à celle du LFPM natif. Elle peut être utilisée isolément dans le traitement de l'instabilité fémoro-patellaire sans corriger les autres facteurs de risque. La réalisation de cette technique par voie percutanée permettrait de gagner en préjudice esthétique sans en altérer l'efficacité biomécanique.

Produits de dégradation des prothèses de hanche alumine-alumine identifiés histochimiquement dans les tissus périprothétiques

Louis Rony, Florence Pascaretti-Grizon, Daniel Chappard

(1) Groupe d'étude sur le remodelage osseux et les biomatériaux (GEROM), Univ-Angers, CHU Angers, Angers, France

Les arthroplasties de hanche utilisent différents modèles de prothèses. Les études tribologiques ont montré que les meilleurs couples de frottement sont constitués par les prothèses métal-polyéthylène et alumine-alumine. Au cours du temps, des produits d'usure s'accumulent dans la cavité articulaire ainsi que dans les tissus périprothétiques et peuvent être responsables de descellement. Les particules d'alumine sont très difficiles à identifier : les grosses particules sont biréfringentes en polarisation mais pas les plus fines qui présentent une teinte gris-brunâtre une fois internalisées par les macrophages.

Dans une série de 20 patients ayant eu une révision prothétique d'une prothèse alumine-alumine, les tissus périprothétiques ont été prélevés et inclus en paraffine ; les coupes ont été colorées par HPS et en utilisant un colorant fluorescent azoïque : le lumogallion. Les coupes ont été examinées à la recherche des particules d'usure en microscopie optique et en fluorescence. Certaines coupes ont été contre-colorées en utilisant le DAPI.

Les particules d'usure des prothèses alumine-alumine très difficilement identifiables sur les colorations HPS sont clairement mises en évidence sur les colorations lumogallion qui en révèlent des quantités très importantes. Des études en MEB de têtes fémorales en alumine explantées lors de la révision avaient montré la présence de zones de rayures ou de cratères à leur surface avec visualisation des grains de la céramique. La coloration histochimique au lumogallion permet aisément de mettre en évidence la présence des particules d'usure des prothèses alumine-alumine et montre qu'elles sont présentes en très grande quantité dans les tissus périprothétiques.

Analysis of time-to-event outcomes using restricted mean survival time in cluster randomised trials

Auteurs : F. Le Vilain--Abraham (1), E. Tavernier (1)(2), S. Desmée (1), A. Caille (1)(2)

(1) *Université de Tours, Université de Nantes, INSERM, SPHERE U1246, Tours, France*

(2) *INSERM CIC1415, CHRU de Tours, Tours, France*

Introduction

In randomised clinical trials with a time-to-event outcome, the difference in restricted mean survival time (RMST) is an alternative summary measure, not relying on the proportional hazards assumption. The RMST is defined as the expected survival time from 0 to a specific time point t^* and corresponds to the area under the survival curve up to t^* . Therefore, the treatment effect summarized by a difference in RMSTs between the intervention and control arms is easily interpretable as the expected survival duration gained due to treatment over t^* . The current literature focuses on RMST estimation for independent survival data and no approach is recommended in the specific context of cluster randomized trials (CRT) with correlated survival data.

We aimed to compare several approaches to estimate a difference in RMST for correlated survival data and assess their statistical performances using a simulation study.

Methods

We extend some existing methods for independent survival data to CRT framework: (1) the direct integration of the Kaplan-Meier curves, (2) the pseudo-values regression which consists in computing pseudo-values for each individual and considering them as the response in a generalized linear model fitted with generalized estimating equations. We will compare both approaches with and without accounting for clustering.

Our simulation study will consider various realistic scenarios with different numbers of clusters, treatment effects, degrees of clustering and both fixed and variable cluster sizes.

Results

The performances will be assessed through the relative bias, the root mean square error, the coverage rate, the relative error and the rejection rate (type I error rate or power). The proposed approaches will be illustrated with a published CRT with time-to-event outcomes.

Conclusion

This work opens the way for better handling time-to-event outcomes in CRT.

Chirurgie ambulatoire de la cataracte sans prise en charge anesthésique :

Mythe ou réalité ?

Auteurs : Q Duroi^{1,2}, JM Baudet², M Bigoteau^{1,2}, M Slim², T Pichard², PJ Pisella¹ , R K Khanna^{1,3}

¹ Service d'ophtalmologie, CHRU Bretonneau, Tours, France

² Service d'ophtalmologie, Hôpital Jacques Cœur, Bourges, France

³ INSERM 1253, iBrain, Equipe 2 « Neurogénomique et Physiopathologie neuronale »

Introduction : L'objectif de cette étude était d'évaluer la sécurité et la satisfaction des patients opérés de la cataracte sous anesthésie topique sans prise en charge anesthésique péri-opératoire.

Méthode : Il s'agit d'une étude prospective monocentrique incluant toutes les interventions de la cataracte au Centre Ambulatoire de la Chirurgie de la Cataracte du Centre Hospitalier de Bourges entre mai et août 2018. Les interventions ont été réalisées sous anesthésie topique, sans voie veineuse périphérique, sans infirmière anesthésiste ni anesthésiste chez des patients non à jeun. Seules la fréquence cardiaque et la saturation en oxygène étaient monitorés en peropératoire. L'incidence et la nature des événements indésirables peropératoires et des complications chirurgicales ont été évaluées. La satisfaction des patients a été mesurée à l'aide d'une échelle validée en français (ISAS).

Résultats : Au total, 651 chirurgies de la cataracte ont été réalisées dont 614 (94,3 %) se sont déroulées sans incident. Trente (4,6 %) événements indésirables peropératoires et 8 (1,2 %) complications chirurgicales sont survenus. Toutes les chirurgies ont été réalisées en intégralité avec succès. Il n'y a eu aucune intervention d'une équipe d'urgence médicale ni d'hospitalisation suite à l'intervention. Le score ISAS moyen était de 5,7/6, indiquant une grande satisfaction des patients.

Conclusion : La chirurgie de la cataracte dans un centre ambulatoire de chirurgie de la cataracte sans prise en charge anesthésique péri-opératoire est une procédure sûre et satisfaisante pour les patients. Ce circuit patient pour des malades sélectionnés peut permettre de libérer du temps anesthésique pour des interventions ophtalmologiques ou non ophtalmologiques plus complexes.

Décubitus ventral vigile dans l'insuffisance respiratoire aigüe hypoxémique induite par le COVID-19

Auteurs : Y. Perez (1)(2)(3)(4), E. Tavernier (4), L. Bodet-Contentin (1)(2)(4), W. Darwiche (1), D. Garot (1)(2)(4), A. Guillon (1)(2)(3)(4), Y. Jouan (1)(2)(3)(4), A. Legras (1)(2)(4), E. Mercier (1)(2)(4), M. Morisseau (1)(2)(4), C. Salmon-Gandonnière (1)(2)(4), P-F. Dequin (1)(2)(3)(4), M-A. Nay (5), J. Dellamonica (6)(7), S. Nseir (8), S. Ehrmann (1)(2)(3)(4)

(1) Médecine Intensive Réanimation, CHRU de Tours

(2) CRICS-TriGGERSep network, CHRU de Tours

(3) Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires (CEPR), INSERM UMR 1100, Université de Tours

(4) CIC INSERM 1415, CHRU de Tours

(5) Médecine Intensive Réanimation, Centre Hospitalier Régional d'Orléans

(6) UR2CA Unité de Recherche Clinique, Université Côte d'Azur, Nice

(7) Médecine Intensive Réanimation - CHU de Nice

(8) Médecine Intensive Réanimation - CHU de Lille

Introduction : Plusieurs études observationnelles ont rapporté l'intérêt, chez des patients non intubés, du décubitus ventral vigile dans l'insuffisance respiratoire aigüe hypoxémique induite par le COVID-19. Ces travaux ont montré une amélioration de l'oxygénation mais aucun essai randomisé n'a prouvé l'intérêt de cette technique pour diminuer le recours à l'intubation et la mortalité. **Méthode :** Plusieurs essais randomisés contrôlés portant sur la thématique du décubitus ventral vigile ont démarré de façon synchrone au début de l'année 2020 dans différents pays en Europe et en Amérique. Le présent travail, faisant appel à une méthodologie originale, a permis d'associer de façon prospective les données de 6 essais randomisés contrôlés dans le cadre d'un méta-trial international. Les patients présentant une insuffisance respiratoire aigüe hypoxémique induite par le COVID-19 et nécessitant de l'oxygène à haut débit étaient randomisés pour être placés en décubitus ventral ou recevoir des soins standards. 41 hôpitaux dans 6 pays étaient impliqués : Canada, Espagne, États-Unis, France, Irlande, Mexique. Le critère de jugement principal (critère composite) était l'échec de traitement défini comme le recours à l'intubation ou le décès à 28 jours de l'inclusion. **Résultats :** Entre le 2 avril 2020 et le 26 janvier 2021, 1126 patients ont été inclus, dont 567 dans le groupe décubitus ventral vigile et 559 dans le groupe contrôle. 1121 patients (après exclusion de 5 patients ayant retiré leur consentement) ont été inclus dans l'analyse en intention de traiter. L'échec de traitement est survenu chez 223 patients (40%) du groupe décubitus ventral vigile et 257 patients (46%) du groupe contrôle (risque relatif 0,86 [IC 95% 0,75–0,98]). 185 patients (33%) ont été intubés dans le groupe décubitus ventral vigile et 223 (40%) dans le groupe contrôle. Le Hazard Ratio pour l'intubation était 0,75 (0,62–0,91). Le Hazard Ratio pour la mortalité était 0,87 (0,68–1,11). La survenue d'effets secondaires était peu fréquente et similaire dans les 2 groupes. **Conclusion :** Le recours au décubitus ventral vigile dans le cadre de l'insuffisance respiratoire aigüe hypoxémique induite par le COVID-19 permet de réduire l'échec de traitement et le recours à l'intubation à J28 sans effets secondaires notables. Ces résultats sont en faveur du recours au décubitus ventral vigile chez les patients atteints de COVID-19 et nécessitant le recours à une oxygénation à haut débit.

Définir la délégation et la distribution dans les équipes en situation d'urgence. Étude qualitative de sciences de gestion.

Auteurs : L. POITRIN (1), L. MARTIN (2), N. LEROLLE (3), E. RINEAU (4), D. SAVARY (5),
A. CHAVANON (2), T. ALCOUFFE (3), R. CHARVET (5), S. LE BRIS (6) D. P. MARTIN (1)

- (1) CREM - Rennes 1
- (2) Université d'Angers - Faculté de Santé - Centre de simulation en santé All'Sims
- (3) Université d'Angers - Faculté de Santé - Département de médecine intensive réanimation et médecine hyperbare - CHU Angers
- (4) Université d'Angers - Faculté de Santé - Département d'anesthésie-réanimation - CHU Angers
- (5) Université d'Angers - Faculté de Santé - Département de médecine d'urgence - CHU Angers
- (6) École Navale de Brest / LEGO UBO Chaire Résilience et Leadership

Introduction : Les équipes d'actions interdisciplinaires sont des équipes où l'expertise, les informations et les tâches sont réparties entre des collaborateurs spécialisés, qui coopèrent autour de tâches urgentes, imprévisibles, interdépendantes et hautement conséquentes (Kozlowski et al., 1996 ; Klein et al., 2006 ; Edmondson, 2003). L'un des rôles essentiels du leader dans ce type d'équipe est la distribution des tâches (Sadideen et al., 2016). Lorsque le leader doit assurer plusieurs fonctions en urgence, il arrive qu'il soit dans l'obligation de déléguer certaines tâches relevant de sa responsabilité aux autres membres de l'équipe. Mais qu'est-ce que la délégation ? Et quelles sont les différences entre délégation et distribution ? Cette étude a pour but de caractériser la délégation et la distribution au sein des équipes d'urgence, et de comprendre les différentes façons de déléguer.

Méthode : Cette étude qualitative s'appuie sur deux types d'observations. D'abord, plusieurs observations sur le terrain ont eu lieu au sein de plusieurs services de réanimation d'un même hôpital. Ensuite, quatre sessions de simulation filmées, comprenant chacune trois exercices, ont été réalisées. Des équipes de réanimateurs, d'anesthésistes et d'urgentistes ont participé. Les scénarios préparés pour les exercices comprenaient chacun un élément perturbateur obligeant une réorganisation du travail, poussant le leader à la délégation de certaines tâches. Des observateurs, experts et non-experts médicaux, ont par la suite dû compléter des questionnaires visant à observer et décrire les délégations et distributions de tâches observées. La satisfaction et la performance des équipes ont également été prises en compte.

Résultats : Cette recherche nous permet de distinguer les termes de délégation et de distribution, de caractériser les différents types de distribution et de délégation qui ont lieu en situation d'urgence (tâches cliniques ou non cliniques, physiques ou verbales, mission centrée sur le leadership ou sur les tâches) ainsi que les façons de déléguer (qui délègue à qui, fréquence des prises d'initiatives, durée des délégations et distributions, et enfin communication, observation et correction des actions).

Parmi les résultats notables, nous remarquons : une propension à la prise d'initiative de la part des infirmiers dépendant fortement de l'ancienneté à exercer le métier et de l'ancienneté de collaboration avec le médecin-senior d'équipe ; une utilisation courante du « on » par les leaders pour donner les ordres à l'équipe ; une plus faible propension à la délégation chez les médecins-seniors ayant peu d'ancienneté, d'autant plus lorsque l'interne présent a une ancienneté proche de celle du senior (deux comportements se dessinent alors : l'interne réalise plus de prises d'initiative ou bien prend un rôle de co-leader) ; et enfin : une supervision de l'équipe de la part du senior qui varie en fonction principalement de la culture organisationnelle des services et des facteurs contextuels auxquels les équipes sont habituées, avec deux comportements distincts : leader qui observe et corrige sans prendre part et leader qui prend part à l'action.

Conclusion : Nous pouvons donc caractériser précisément la délégation et les façons de déléguer au sein des équipes d'urgence, et différencier ce terme de celui de « distribution ». Nous remarquons que le nombre de délégations et de distributions commandées par le leader ou à la suite d'une prise d'initiative de membres de l'équipe n'impacte pas la performance ni la satisfaction des équipes. Cependant, certains éléments propres aux délégations semblent impacter : choix du moment, de la bonne personne en fonction de ses disponibilités et de sa fonction, etc. Comment faire en sorte que les délégations soient optimales ? Cette étude est le premier pas vers une étude quantitative de plus grande ampleur, visant à évaluer la qualité des délégations réalisées en situation d'urgence.

Impact médico-économique d'un centre de chirurgie ambulatoire de la cataracte sans parcours anesthésique dans un territoire en tension

Auteurs : M.Bigoteau (1,4), L.Grammatico-Guillon (2), M.Massot (3), J.Baudet (4), Q.Duroi (1), T.Pichard (4), M.Slim (4), P.Pisella (1), R.Khanna (1)

- (1) Service d'ophtalmologie, Centre Hospitalier Universitaire Régional de Bretonneau, Tours, France
- (2) Service de santé publique, Unité d'épidémiologie EpiDcliC, CHRU de Tours, Faculté de médecine de Tours, Université de Tours, France
- (3) Département d'information médicale, Centre Hospitalier Jacques Cœur, Bourges, France
- (4) Service d'ophtalmologie, Centre Hospitalier Jacques Cœur, Bourges, France

Introduction : La Clinique Ambulatoire de la Chirurgie de la Cataracte (CACC) est une structure publique du Centre Hospitalier de Bourges avec un circuit rapide sans prise en charge anesthésique depuis 2015. L'objectif était d'évaluer l'impact du CACC sur l'accès aux soins pour la chirurgie de la cataracte.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée entre 2012 et 2018, incluant tout patient opéré de la cataracte. Les données ont été recueillies à partir du Programme de Médicalisation des Systèmes d'Informations. Afin d'évaluer l'impact du CACC, l'activité chirurgicale, l'évolution des indicateurs de flux et de consommation ainsi qu'une analyse médico-économique ont été réalisées.

Résultats : Entre 2012 et 2018, à effectif constant d'ophtalmologistes, l'activité a augmenté de +50,2% dans le Cher pour une augmentation nationale de +22,7%. Le taux de fuite a diminué de 5,9 points, les taux d'attractivité et d'autosuffisance ont augmenté de 2,3 et de 8,6 points. Le taux de recours standardisé a augmenté de 4,3 points (de 11,6 à 15,9 chirurgies pour 1000 habitants), faisant du Cher le second département pour le taux de recours malgré sa 96^{ème} place sur les 109 départements français en termes de densité d'ophtalmologistes. Le coût de l'opération de la cataracte était de 523,99€ au CACC contre 666,22€ au bloc central.

Conclusion : Un centre de chirurgie de la cataracte ambulatoire sans prise en charge anesthésique pour des patients sélectionnés pourrait représenter une solution dans les déserts médicaux pour améliorer l'accès à la chirurgie de la cataracte sans surcoût.

Management of non-completers in statistical analysis of Cluster Randomized Trial in Nursing Homes

PP Pierre Poupin (1) (2), MA Marie Ansoborlo (2), AC Agnès Caille (2) (3), CDD Clarisse Dina-
Dibao (3), BF Bertrand Fougère (1), BG Bruno Giraudeau (2) (3)

- (1) Pôle Vieillissement, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours
- (2) Département biométrie du Centre d'Investigation Clinique, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours
- (3) Unité Inserm U1246, methodS in Patient-centered outcomes and HEalth REsearch, Université de Tours

Background: research in nursing homes is highly exposed to the problematic of non-completers due to death.

Aims: to identify strategies used to deal with non-completers when cluster randomized trials including residents are carried out in nursing homes. Aim was also to illustrate how an analysis including completers only exposes to bias.

Method: we first have carried out systematic review of published cluster randomized trials. We then conducted an illustrative simulation study using parameters from a case study with available data.

Results: from the 37 articles reviewed, 70% have investigated interventions as educational program to staff or physicians, synonymous of a time-lag in implementation in 54% of them. The closed-cohort design was the most frequently chosen design (59%). In those closed-cohort trials, the median follow up was 6.5 months, the median non-completers rate was 19.5% with a median of 73.2% of them due to death. In only one trial baseline characteristics of completers and non-completers were compared. Strategies to deal with non-completers were: an inflation of the planned sample size in half of the closed-cohort trials, the use of repeated measurements of the outcome in 12 and imputation methods in 7. In our illustrative simulation study we observed that estimating the intervention effect on the subgroup of completers leads to an under-estimation corresponding to an effect size of 0.08.

Conclusion: non-completers are considered as missing data while they are essentially death. Analyzing completers may lead to substantial bias in intervention effect estimates. Methodological and statistical guidance are needed.

Risques systémiques des anti-VEGF par voie intra-vitréenne chez l'adulte en pratique clinique courante : revue systématique et méta-analyse des études observationnelles

N. Ngo Ntjam (1, 2), O. Le Tilly (1, 2), G. Paintaud (1, 2), M. Thulliez (3), F. Salvo (4), P-J. Pisella (5), D. Angoulvant (1,7), T. Bejan-Angoulvant (1, 2)

1) Université de Tours, EA 4245. 2) CHRU de Tours, Pharmacologie médicale. 3) CHU de Montpellier, Ophtalmologie. 4) CHU Pellegrin, Pharmacologie médicale. 5) CHRU de Tours, Ophtalmologie. 7) CHRU de Tours, Cardiologie.

Introduction : Les médicaments anti-facteur de croissance endothéliale vasculaire (anti-VEGF) administrés par voie intra-vitréenne sont largement utilisés dans la pratique clinique courante, mais leur sécurité systémique à long terme n'est pas suffisamment étudiée. Notre objectif était d'évaluer le risque d'événements indésirables systémiques (EIS) chez les patients atteints de pathologies rétinienne et traités par anti-VEGF comparativement aux patients non traités par anti-VEGF en réalisant une revue systématique avec méta-analyse d'études observationnelles.

Méthode : Nous avons réalisé des recherches bibliographiques dans Embase®, PubMed® et Web of Science®, de juin 2006 à mars 2021. Le critère de jugement principal était la mortalité totale. Les critères de jugement secondaires étaient l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux, les hémorragies non oculaires et les hospitalisations toutes causes confondues. Le protocole d'étude est accessible dans la base de données PROSPERO *via* le lien https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42021255531.

Résultats : Nous avons inclus 16 études observationnelles ; 10 études avec 155 156 patients atteints de dégénérescence maculaire liée à l'âge de type néovasculaire, 5 études avec 153 735 patients atteints de pathologies rétinienne néovasculaires et une étude avec 23 348 patients atteints d'œdème maculaire diabétique. Le risque relatif de mortalité chez les patients traités par anti-VEGF par voie intra-vitréenne en pratique clinique par rapport aux témoins a été rapporté dans 4 études ayant une forte hétérogénéité ($I^2 = 96\%$, $p\text{-het} < 0,00001$). Nous avons donc décidé de ne pas regrouper les données. Une seule étude a trouvé un risque augmenté. Il n'y a pas eu d'augmentation du risque relatif combiné pour l'infarctus du myocarde (RR, 1,01 ; IC 95 %, 0,86 - 1,20), l'accident vasculaire cérébral (RR, 0,96 ; IC 95 %, 0,81 - 1,14) ou les événements hémorragiques non oculaires (RR, 0,99 ; IC 95 %, 0,69 - 1,44).

Conclusion : Le risque de mortalité avec les anti-VEGF par voie intra-vitréenne en pratique clinique courante n'a pas pu être évalué en raison de la présence d'une importante hétérogénéité entre les études. Aucune augmentation du risque d'infarctus du myocarde, d'accident vasculaire cérébral ou d'événements hémorragiques non oculaires n'a été constatée chez les patients traités par anti-VEGF en pratique clinique par rapport aux témoins.