

Induction de sous-populations de cellules Dendritiques humaines Tolérogènes par des fragments d'anticorps

N. Kakwata-Deluce, L. Lamendour, Zineb Lakhrif, A. Nicolas, Anne Di Tommaso, Nicolas Aubrey, V. Chabot, F. Dehaut, Florence Velge-Roussel

▶ **To cite this version:**

N. Kakwata-Deluce, L. Lamendour, Zineb Lakhrif, A. Nicolas, Anne Di Tommaso, et al.. Induction de sous-populations de cellules Dendritiques humaines Tolérogènes par des fragments d'anticorps. Journée de la Recherche Biomedicale, Dec 2017, Tours, France. , 114 p., 2017. hal-02737129

HAL Id: hal-02737129
https://hal.inrae.fr/hal-02737129

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



JOURNÉE DE LA RECHERCHE BIOMÉDICALE

VENDREDI
8 DÉCEMBRE 2017
De 9h00 à 16h00

Faculté de médecine de Tours
Site La riche

Posters
Communications orales
Conférence plénière

FACULTÉ DE MÉDECINE de TOURS
FACULTÉ DE SANTÉ d'ANGERS
CHU de TOURS
CHU d'ANGERS
CHR d'ORLÉANS
CH du MANS

Programme de la Journée de la Recherche
Vendredi 8 décembre 2017
Tours - Site la Riche, Bâtiment A.Gouazé, Faculté de Médecine

Mise en place des posters à partir de 8h30

9h-9h30 : Ouverture de la Journée

Mr le Pr DIOT, Doyen de la Faculté de Médecine de Tours
Mr le Pr LEROLLE, Doyen de la Faculté de Santé d'Angers
Mr DALMASSO, Directeur Général Adjoint du CHU de Tours
Mr TREGUENARD, Directeur Général Adjoint du CHU d'Angers

9h30-10h45 : Communications orales

Louis TERRIER, Tours
La lobotomie frontale : une procédure chirurgicale qui fut hors de contrôle?

Yohann LE GOVIC, Angers
Exploration du métabolisme du fer chez *Scedosporium apiospermum*.

Thomas JANVIER, Orléans
Prédiction de la gonarthrose radiographique par analyse de la texture osseuse.

Quentin DEVEUVE, Tours
Susceptibility to the cleavage of therapeutic monoclonal antibodies hinge region by proteases: association with FcGAMMA RIIIA-dependant functional responses of nk cells.

Caroline VERHAEGHE, Angers
Evaluation de la formation des internes sur le vécu psychologique des patientes après une perte de grossesse au premier trimestre : apports de la simulation.

10h45-11h15 Pause-café

11h15-12h30 : Communications orales

Charlotte SALMON GANDONNIERE, Tours
Iohexol clearance for glomerular filtration assessment in acute circulatory failure in intensive care unit.

Clément ADAM, Angers
Impact de l'acide lactique sur la polarisation des macrophages humains.

Héloïse FABRE, Le Mans
Contributions des modifications physico-chimiques de surface de matériaux à base de titane sur l'adhérence de microorganismes : applications aux chambres implantables.

Emmanuel SIMON, Tours
Computed tomographic study of anatomical relationship between pubic symphysis and ischial spines to improve interpretation of intrapartum translabial ultrasound.

Anne BOUVIER, Angers
Quantification de la maladie résiduelle par l'étude du chimérisme après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans les leucémies aiguës myéloïdes : comparaison avec la surexpression de WT1.

12h30-13h30 Buffet

13h30-15h30 : Session Posters

15h30-16h30 : Conférence Plénière

Dr Laurent MARSOLLIER

Equipe ATIP/Avenir ATOMycA; CRCINA Inserm U1232 CNRS ERL - Université et CHU d'Angers

Infection à *Mycobacterium ulcerans* : de la punaise d'eau à un mécanisme « anti-douleur ».

16h30 : Remise des Prix et Conclusion

Plan :

Bâtiment A.Gouazé, Faculté de Médecine

10 rue Emile Aron, La Riche



COMMUNICATIONS ORALES

La lobotomie frontale : une procédure chirurgicale qui fut hors de contrôle?

Louis-Marie Terrier1,2, MD, Marc Lévêque3, MD, Aymeric Amelot2,4, MD-PhD

1 Université François-Rabelais de Tours, INSERM, Imagerie et Cerveau UMR U930, Tours, France

2 CHRU de Tours, service de Neurochirurgie, Tours, France

3 Résidence du Parc Private Hospital, Marseille, France.

4 La Pitié-Salpétrière Hospital, Paris, France.

Introduction :

Présentée pour la première fois en 1936 par le neurologue portugais Egas Moniz, la lobotomie était une chirurgie lésionnelle irréversible sur le cerveau, qui consistait à sectionner les fibres blanches frontales. Ce fut l'un des actes médicaux les plus critiqués de toute l'histoire de la médecine, et pour cause : des milliers de patients à travers le monde furent lobotomisés, entrainant de sérieuses conséquences sur la dignité humaine.

Matériel et méthodes :

Devant le peu d'informations sur l'histoire des lobotomies en Europe, où cette technique est née, nous avons conduit la première revue de littérature francophone (France, Suisse, Belgique) de 1935 à 1985, dans le but de comprendre comment une telle technique chirurgicale, non scientifique, avait pu s'étendre au monde entier.

Le contexte sociétal et psychiatrique de l'époque, les indications, la technique chirurgicale, les résultats post-opératoires et les raisons qui ont conduit à la diffusion puis à la disparition de la lobotomie, ont été étudiés.

Résultats :

1340 cas de lobotomies ont été identifiés. La proportion de femmes parmi les patients lobotomisés était nettement majoritaire. Les indications étaient variées, et pas seulement limitées aux maladies mentales. Les techniques opératoires étaient nombreuses : de la classique lobotomie à l'injection par voie trans-orbitaire d'Iridium radioactif 194.

Conclusion :

La lobotomie était plus une expérimentation dangereuse qu'un authentique acte thérapeutique. Les indications étaient peu claires, les techniques chirurgicales imprécises et nombreuses. Les résultats étaient plus commentés de manière subjective, qu'analysés de manière objective.

L'histoire des lobotomies constituera l'une des pages les plus sombres de l'histoire de la médecine.

Exploration du métabolisme du fer chez *Scedosporium apiospermum*

Yohann LE GOVIC1,2, Patrick VANDEPUTTE1,2, Jean-Philippe BOUCHARA1,2*

1Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49933 Angers cedex 9, France, 2Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène, EA 3142, UNIV Angers, UNIV Brest, Université Bretagne-Loire, Angers, France

**yohann.legovic@chu-angers.fr*

La physiopathologie des infections déterminées par les espèces du genre *Scedosporium* est encore mal connue. La capacité de ces champignons à accéder aux ressources en fer constitue cependant un facteur important de leur virulence, le fer étant impliqué dans de nombreux processus biologiques essentiels. Néanmoins, malgré son abondance dans l'environnement, il ne peut être assimilé directement par les microorganismes, qui ont donc développé diverses stratégies pour son acquisition. Le mécanisme le plus répandu consiste dans la sécrétion de chélateurs du fer appelés sidérophores. Ces métabolites secondaires séquestrent le fer extracellulaire et permettent son assimilation par le microorganisme *via* des transporteurs membranaires spécifiques (TMS).

Chez les Ascomycètes, les sidérophores sont produits par synthèse peptidique non-ribosomale, qui s'effectue *via* des protéines appelées NRPS (Non-Ribosomal Peptide Synthases). Il a été montré dans notre unité que, dans des conditions de carence en fer, *S. apiospermum* est capable de produire un sidérophore, le *N*α-méthylcoprogène B (un dérivé du *N5*-anhydromévalonyl-*N5*-hydroxyornithine). Cependant, les gènes assurant la synthèse de cet hydroxamate restent inconnus, et l'implication d'autres sidérophores dans le métabolisme du fer n'a jamais été investiguée, notamment lorsque le champignon se développe dans un environnement riche en fer lié à des protéines comme c'est le cas chez l'hôte. L'analyse bioinformatique du génome de *S. apiospermum* nous a permis d'identifier 7 orthologues des gènes *SID* impliqués chez *Aspergillus fumigatus* dans la synthèse de la triacétylfusarinine C (sidérophore extracellulaire lui aussi dérivé du *N5*-anhydromévalonyl-*N5*-hydroxyornithine) et de la ferricrocine (sidérophore intracellulaire, dérivé de la *N5*-acétyl-*N5*-hydroxyornithine), ainsi que 9 gènes codant des protéines de type MFS potentiellement impliquées dans l'assimilation des complexes ferrisidérophores, et 13 codant des perméases à Fe++ ou Fe+++ ou des enzymes potentiellement impliquées dans des systèmes d'oxydo-réduction du fer (assimilation réductive). De manière intéressante, il s'avère que les gènes potentiellement impliqués dans la synthèse du *N*α-méthylcoprogène B sont regroupés en cluster comme il est fréquemment observé pour les sidérophores des Ascomycètes. Les gènes régulant le transport transmembranaire du fer sont, quant à eux, répartis de façon hétérogène dans le génome.

Pour confirmer le rôle de ces gènes, nous avons étudié leur niveau d'expression par RT-qPCR après 2 jours de culture en milieu carencé en fer ou au contraire en présence d'un excès de fer libre (Fe++ ou Fe+++) ou lié à la transferrine. Conformément à nos attentes, l'expression des orthologues des gènes *SID* est induite lors d'une carence martiale, ainsi que pour la majorité des gènes codant les TMS. A l'inverse, nous pouvons affirmer que la plupart de ces gènes sont réprimés en présence d'un excès de fer, qu'il soit lié ou non à la transferrine. Enfin,

concernant les mécanismes d'assimilation réductive, nos résultats expérimentaux accréditent le rôle joué par 3 gènes parmi les 13 identifiés *in silico*.

La compréhension des mécanismes régulant le métabolisme du fer *via* les NRPS permettra de mieux appréhender la physiopathologie des infections à *S. apiospermum* et pourra servir de base à la définition de nouvelles stratégies antifongiques. En effet, les NRPS qui sont absentes chez l'homme, pourraient constituer des cibles thérapeutiques pour lutter contre les infections à *S. apiospermum*.

Prédiction de la gonarthrose radiographique par analyse de la texture osseuse

T. Janvier1, H.Toumi1, E. Lespessailles1,2

1 Univ. Orléans, Laboratoire I3MTO, EA 4708, 45067 Orléans, France

2 CHR Orléans, Service de Rhumatologie, 45032 Orléans, France

Introduction :

L'arthrose est la deuxième cause de consultation dans les pays développés, juste derrière les maladies cardio-vasculaires. L'atteinte du genou a pour conséquence ultime la destruction des cartilages et ménisques conduisant à la pose de prothèse. Pouvoir caractériser l'évolution naturelle de cette dégradation à l'aide de biomarqueurs d'imagerie à des stades précoces de cette évolution permettrait de sélectionner les patients à risque. En effet, le critère standard de caractérisation de la gonarthrose est la mesure du pincement de l'interligne sur radiographie, qui n'est qu'une mesure tardive des séquelles, et donc impropre à la prédiction précoce. Nous avons appliqué des méthodes d'analyse de la texture de l'os trabéculaire sous-chondral pour prédire l'initiation radiographique de la gonarthrose dans une vaste cohorte.

Matériel et méthodes :

Les radiographies utilisées dans cette étude proviennent de la cohorte nord-américaine de l'OsteoArthritis Initiative. Dans cette cohorte, 319 sujets ne présentant pas de signes radiographiques d'arthrose à l'inclusion et suivis radiologiquement pendant 48 mois ont été retenus pour l'étude. L'initiation de la gonarthrose a été investiguée selon 3 définitions : la dégradation de l'interligne (ΔJSN), la formation d'ostéophytes (ΔTOS) et le score de Kellgren-Lawrence (ΔKL). Les radiographies au format numérique ont été analysées par des méthodes fractales. Ces méthodes ont fourni des descripteurs quantitatifs utilisés en combinaison des variables cliniques (âge, genre et IMC) pour construire des modèles prédictifs par régression logistique. La qualité des modèles prédictifs est estimée au travers des aires sous les courbes de sensibilité-spécificité (AUC) et des rapports de chances de diagnostic (DOR).

Résultats :

Des 344 genoux inclus, 79 (23%) ont développé une gonarthrose radiographique après 48 mois, 44 (13%) ont pincé leur interligne et 59 (17%) ont développé des ostéophytes. Ni l'âge, le genre, l'IMC ni leur combinaison n'ont permis de prédire correctement l'initiation de l'arthrose (AUC 0,57). En revanche, l'ajout des paramètres de texture aux modèles ont permis de prédire ΔKL (AUC 0,69 - DOR 2,33), ΔJSN (AUC 0,73 – DOR 4,51), ΔTOS (AUC 0,71 – DOR 7,10).

Conclusion :

Dans cette étude, l'utilisation des critères communément employés (âge, genre, IMC) s'est révélée insuffisante à identifier avec certitude les patients initiateurs à 4 ans. La valeur ajoutée de l'analyse de texture pour la prédiction de l'apparition de la gonarthrose radiographique chez des sujets sains « à risque » a été mise en évidence. Malgré des valeurs prédictives globales modérées (AUC ~0,7), l'analyse des résidus des modèles prédictifs montre une très grande spécificité (DOR > 2) mettant en évidence le très faible nombre de faux positifs. De plus, il apparaît que les différents phénotypes radiographiques (JSN, TOS et KL) soient associés plus ou moins spécifiquement à certains paramètres de texture

L'analyse quantitative de la texture de l'os trabéculaire sous-chondral permet donc la prédiction de l'apparition de la gonarthrose radiographique, ouvrant la voie à un diagnostic plus précoce que la mesure de l'interligne et à la possibilité de sélectionner des patients à haut risque pour des essais thérapeutiques.

SUSCEPTIBILITY OF THE HINGE REGION OF THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES : ASSOCIATION WITH FCGAMMARIIIA-DEPENDANT FUNCTIONAL RESPONSES OF NK CELLS

Quentin DEVEUVE*1, Laurie LAJOIE1, Gilles. THIBAULT1, 2*

1CNRS UMR7292 GICC, LabEX MabImprove, Université François Rabelais, Tours, France

2Laboratoire d'Immunologie, CHRU de Tours, Tours, France

Introduction :

Therapeutic monoclonal antibodies (mAbs) presently used in cancer therapy belong to the IgG1 (most of them), IgG2 or IgG4 subclass. The Fc (Fragment crystallizable) portion, which varies with the subclass is necessary for the binding of C1q and receptors for the Fc portion of IgG (FcγR), which initiate complement dependent cytotoxicity (CDC) and antibody-dependent cell cytotoxicity (ADCC), respectively. Among the most convincing evidence that ADCC plays a role in mediating the clinically relevant anti-tumor response to therapeutic mAbs is the demonstration that *FCGR3A* gene polymorphism, which influences the affinity of the Fc portion for FcγRIIIA, is associated with clinical responses to different cytolytic mAbs. The binding site of C1q and FcγR also involves the lower hinge region of the mAb located downstream the disulfide bridges. Recently, several studies have reported that one of the heavy chain of human IgG is susceptible to specific proteolytic cleavage in the lower hinge region, resulting in the generation of single-cleaved IgG (ScIgG) with reduced Fc-mediated effector functions. The aim of our study was 1) to compare the susceptibility of different therapeutic mAbs to the cleavage and 2) to compare uncleaved and cleaved mAbs in terms of affinity for membrane FcγRIIIa, and FcγRIIIa-dependent functional responses of NK cells.

Material and Methods :

Six mAbs (4 IgG1 including all allotypes, 1 IgG2 and 1 IgG4) were incubated with IdeS, an immunoglobulin-degrading protease from *Streptococcus pyogenes*, and the proteolytic cleavage was detected by SDS-PAGE. The ability of intact mAbs (IgG) and single cleaved-mAbs to bind to CD16A on CD16A-transfected NK92 cells lines, and to induce degranulation and/or IFN-γ production by NK cells was evaluated, by flow cytometry.

Results:

We showed that 1) IgG2 mAb was more resistant to cleavage than IgG1 and IgG4 mAbs following incubation with IdeS. We observed no difference between IgG1 mAbs with different allotypes. Intact and cleaved IgG2 or IgG4 mAb bind to FcγRIIIa similarly, whereas cleaved IgG1 mAbs exhibited weaker binding to CD16A compared to uncleaved mAbs. Finally, we showed decreased functional responses of NK cells stimulated by cleaved IgG1 mAbs

Conclusion :

mAbs exhibit different susceptibility to the proteolytic cleavage by IdeS. The cleavage results in decreased binding to FcγRIIIa and accordingly to reduced FcγRIIIa-dependent functional responses of NK cells. These cleavages could reduce the effectiveness of mAbs used in cancer therapy.

Keywords : Therapeutic monoclonal antibodies, hinge region, proteolytic cleavage, NK cells, FcgammaRIIIa

EVALUATION DE LA FORMATION DES INTERNES SUR LE VECU PSYCHOLOGIQUE DES PATIENTES APRES UNE PERTE DE GROSSESSE AU PREMIER TRIMESTRE : APPORTS DE LA SIMULATION.

C Verhaeghe1, M Gicquel1, P Gillard1, PE Bouet1, P Descamps1 , G Legendre1 2

1. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Angers, 49933 Angers Cedex, France.

2. CESP-INSERM, U1018, Equipe 7, Genre, Santé Sexuelle et Reproductive, Université Paris Sud, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France

Introduction : Annoncer une fausse couche est une situation difficile pour le médecin. En effet, la fausse couche précoce est généralement associée à une détresse psychologique : le deuil, la culpabilité, le stress post-traumatique, l'anxiété ou la dépression. L'annonce d'une perte de grossesse et l'information fournie lors de la consultation peuvent jouer un rôle majeur sur les résultats psychologiques des patients. La majorité des patients soulignent la nécessité d'un soin plus attentif de l'équipe de soins de santé dans la gestion des fausses couches précoces. La simulation étant désormais une part essentielle de l'éducation des professions de la santé et ce, à tous les niveaux, le but de cette étude est de montrer que la formation à l'aide de la simulation pour les résidents lors de l'annonce d'une fausse couche améliore le bien-être et diminue la morbidité psychologique des patients après une perte de grossesse.

Matériels et méthodes :

Une étude prospective uni-centrique de type « avant-après » a été réalisée aux urgences gynécologiques du centre hospitalo-universitaire (CHU) d'Angers, du 2 mai 2014 au 30 avril 2015. Toutes les patientes ayant consulté aux urgences sur cette période dans le cadre d'une perte de grossesse (FCP ou GAP) avant 14 SA, ont été inclues.

Les 6 internes responsables des urgences ont assisté, à la moitié du temps de formation, à l'enseignement par simulation «in situ», de l'annonce de la fausse couche précoce. Un auto-questionnaire a été envoyé à toutes les

patientes 8 semaines après la consultation d'urgence. Ce questionnaire comprenait des questions spécifiques afin d'évaluer les sentiments à la fin de la consultation et d'évaluer le deuil périnatal à l'aide d'une échelle validée (PGS).

Résultats : 72 patientes ont été incluses, 45 avant et 27 après la formation.

Le score moyen est de 21,7 (±9) pour l'échelle de deuil actif, de 15,6 (±6,6) pour les difficultés de « coping » et de 16,3 (±6,4) pour l'échelle de désespoir. Le score de deuil actif était significativement moins élevé après formation qu'avant (18,8 ±6,7 contre 23,5 ±7,1 ; p=0,02).

La disponibilité est améliorée de façon significative après formation des internes (48,9 % vs 74,1%p=0,04) avec une attitude bienveillante à l'égard des patientes après la formation (28,9 % vs 59,3 % , p=0,01).

La compréhension des informations sur la suite de la prise en charge à court terme est améliorée après la formation(55,6% vs 85,2% p=0,01) .Les patientes ont significativement moins recourt à une nouvelle consultation pour manque d'information (73,3% vs 33,3%, p=0,01).

Conclusion : La satisfaction des patientes et les conséquences psychologiques après une fausse couche sont améliorées grâce au programme de simulation qui permet une standardisation de l'information délivrée au cours de l'annonce d'une fausse couche.

IOHEXOL CLEARANCE FOR GLOMERULAR FILTRATION ASSESSMENT IN ACUTE CIRCULATORY FAILURE IN INTENSIVE CARE UNIT

Charlotte Salmon Gandonnière1, 2, Julie Boisramé-Helms3, Olivier Le Tilly4, Isabelle Benz-de Bretagne4, Anne Bretagnol5, Emmanuelle Mercier1, Julie Mankikian1, Jean-Michel Halimi6, 2, Ferhat Meziani3, Chantal Barin-le Guellec4, Stephan Ehrmann1, réseau CRICS-TriggerSep

1 : Médecine Intensive Réanimation, CHRU de Tours, Tours, France

2 : EA4245, cellules dendritiques, immunomodulation et greffes, université François Rabelais de Tours, Tours, France

3 : Réanimation Médicale, Nouvel Hôpital Civil, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

4 : Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France

5 : Réanimation Médicale Polyvalente, Hôpital de la Source, CHR Orléans, Orléans, France

6 : Néphrologie et Immunologie Clinique, CHRU de Tours, Tours, France

Introduction :

In acute circulatory failure, glomerular filtration rate (GFR) can either be decreased (up to 70% of acute kidney injury), or increased (up to 50% of augmented renal clearance). There is no current gold standard for GFR assessment in unstable critically ill patients. In stable conditions, the clearance of an exogenous marker such as iohexol is the gold standard for GFR assessment.

The objective of our study was to describe glomerular filtration at the acute phase of acute circulatory failure by measuring iohexol clearance.

Matériel et méthodes :

We performed a multicentric study in 3 French intensive care units. Patients suffering acute circulatory failure were included within 12h and were administered intravenously a non-toxic dose of iohexol (5 mL; 300 mg/mL) followed by collection of 9 arterial blood samples for iohexol plasma concentration determination in the following 24 hours. Iohexol clearance (Cliox) was calculated using a population pharmacokinetics model.

Résultats :

One hundred patients were included in the study. One patient was excluded from the analysis because he received iohexol in the 24 hours of iohexol plasma concentration measurement for a radiologic exam. We could calculate Cliox in 85 patients. The median Cliox was 31 mL.min-1.1,73m-2 (16; 44). According to Cliox, 41patients (48%) had severely impaired kidney function, 29 (34%) moderately impaired kidney function, 10 (12%) mildly impaired kidney function and 4 (5%) normal kidney function. One patient (1%) had hyperfiltration according to Cliox. The median bias between Cliox and urinary creatinine clearance was 18.1 mL.min-1.1,73m-2 (95% CI 11.6; 24.6) with limits of concordance of -

37.4 to 73.5. Classical kidney function assessment methods (KDIGO, urinary creatinine clearance, MDRD, serum creatinine variations) underestimated renal impairment in twenty patients out of 85 (24%).

Conclusion :

We showed that almost all patients admitted with acute circulatory failure had hypofiltration at the acute phase, even if unnoticed by classical kidney function assessment methods, including KDIGO and urinary creatinine clearance. On the contrary, hyperfiltration seems to be overdiagnosed in ICU patients. Our study opens field to a broad range of clinical research, particularly for pharmacokinetics studies.

IMPACT DE L'ACIDE LACTIQUE SUR LA POLARISATION DES MACROPHAGES HUMAINS

Clément ADAM1,2, Léa PAOLINI1,2, Laurence PREISSER1,2, Vincent PROCACCIO3, Gilles SIMARD4, Pascale JEANNIN1,2,5

1 CRCINA, INSERM, Université de Nantes, Université d'Angers, Angers, France,

2 Labex ImmunoGraftOnco, Angers, France

3 Institut MitoVasc, Université d'Angers, UMR CNRS 6015 Inserm 1083, Angers. France.

4 Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, France

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

Clément ADAM & Léa PAOLINI, contribution équivalente

Introduction - En cas d'infection ou de lésion, les monocytes migrent dans les tissus où ils se différencient en macrophages (M□), cellules caractérisées par leur plasticité phénotypique et fonctionnelle. La différenciation des M□ est finement contrôlée par les facteurs environnementaux, tels que des nutriments, des cytokines ou des motifs microbiens. La multitude de combinaisons de facteurs de polarisation induit une grande diversité de sous-types de M□ dont les M□ M1 pro-inflammatoires et M2 immunorégulateurs représentent les extrêmes d'un continuum.

Dans les tumeurs solides, l'accumulation de Mϕ (TAM) est généralement associée à un mauvais pronostic. De profil de type M2, les TAM orchestrent l'inflammation caractéristique des tumeurs solides. Comprendre les mécanismes de leur polarisation est donc un enjeu pour proposer des stratégies thérapeutiques ciblant les TAM.

Objectif - L'acide lactique (AL), métabolite produit lors d'une glycolyse aérobie, s'accumule dans le microenvironnement tumoral. L'objectif de cette étude a été d'évaluer la capacité de l'AL à moduler la polarisation des M□ humains.

Matériel et méthodes - Le phénotype des Mϕ générés en présence ou en absence d'AL a été évalué par cytométrie en flux, ELISA et qPCR. L'adaptation du métabolisme des Mϕ générés en présence d'AL a été analysée par qPCR, ELISA et dosages d'activités enzymatiques.

Résultats - Les résultats montrent que les M□ humains survivent et adaptent leur métabolisme, avec une phase initiale d'autophagie suivie d'une phase de biogenèse mitochondriale. Au niveau phénotypique, nous observons que l'AL induit la génération de M□ non conventionnels qui expriment des marqueurs de type M2, sécrètent des facteurs protumoraux et produisent des médiateurs pro-inflammatoires. L'induction de ce phénotype associant des caractéristiques M1 et M2 est dépendante d'une consommation autocrine de M-CSF et indépendante de l'adaptation métabolique.

Conclusion - L'acide lactique apparait donc comme un lien permettant d'expliquer comment les TAM, classiquement considérés comme anti-inflammatoires, peuvent acquérir des propriétés inflammatoires dans un contexte tumoral. Ces travaux confortent également l'intérêt du ciblage thérapeutique du M-CSF dans les tumeurs solides.

Contributions des modifications physico-chimiques de surface de matériaux à base de titane sur l'adhérence de microorganismes : applications aux chambres implantables

Héloise Fabrea, Jean-Philippe Boucharab, Nathalie Clémentb, Nicolas Delormea, Jerome Brunellièrec, Pascal Marmeyc, Hugues Bourgeoisd, Cedrik Lafondd, Jean-François Bardeau a

a Institut des Molécules et Matériaux du Mans, UMR CNRS 6283, Université du Maine, Université Bretagne –

Loire, Avenue Olivier Messiaen, 72085 Le Mans Cedex 9, France

b Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène, EA 3142, UNIV Angers, UNIV Brest, Université Bretagne –

Loire, Angers, France

c Centre de Transfert de Technologie du Mans, 20 Rue Thalès de Milet – 72000 Le Mans, France

d Clinique Victor Hugo, Centre Jean-Bernard, 18 rue Victor Hugo 72000 Le Mans, France

Les systèmes de port d'accès veineux totalement implantables sont actuellement utilisés pour le traitement du cancer. De tels dispositifs médicaux, composés d'un réservoir en matière plastique spéciale ou à base de titane liée à une veine principale à travers un cathéter, permettent de délivrer des médicaments de chimiothérapie et / ou une nutrition parentérale. Bien qu'ils fournissent un accès veineux fiable à long terme et améliorent la qualité de vie des patients, les complications infectieuses restent préoccupantes pour de nombreux établissements de santé. Dans le cadre d'un projet financé par la région des Pays de Loire (projet MAT-INNO), nous nous sommes intéressés aux contributions des modifications physico-chimiques de surface de matériaux à base de titane sur l'adhérence primaire (analyses *in vitro* en conditions statiques) de la bactérie *Staphylococcus aureus* et de la levure *Candida albicans*.

Des échantillons modèles d'oxyde de titane ont été élaborés avec différentes topographies pour étudier leurs impacts sur l'adhérence de microorganismes. Le greffage de monocouches moléculaires a ensuite permis de fonctionnaliser les surfaces pour étudier l'effet de certaines fonctions chimiques sur l'adhérence de protéines, de bactéries et de levures. Enfin des alliages de titane ont été utilisés pour se rapprocher des matériaux actuellement utilisés en milieu hospitalier

COMPUTED TOMOGRAPHIC STUDY OF ANATOMICAL RELATIONSHIP BETWEEN PUBIC SYMPHYSIS AND ISCHIAL SPINES TO IMPROVE INTERPRETATION OF INTRAPARTUM TRANSLABIAL ULTRASOUND

Chloé ARTHUIS1,2, Franck PERROTIN1,2, Frédéric PATAT3, Laurent BRUNEREAU4, Emmanuel SIMON1,2
1Service de gynécologie obstétrique et médecine foetale, CHRU de Tours, France ; 2UMR Inserm U930, Université François-Rabelais de Tours, France ; 3Centre d'Investigations Cliniques – Innovation Technologique, CIC 1415 Inserm, CHRU de Tours, France ; 4Groupement d'Imagerie Médicale, CHRU de Tours, FRANCE
Publié dans : *Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 48: 779–785 (Impact Factor 2016 = 4,71, Sigaps : rang A). DOI:10.1002/uog.15842. La thèse de médicine en rapport avec ce travail a obtenu le premier prix de thèse de l'UFR de médecine de Tours.*

Introduction:
Fetal head engagement is an essential element to consider in operative vaginal delivery. Nonetheless, digital palpation of fetal head station is subjective and unreliable. Ultrasound examination might provide information to help assess fetal head descent, but the ischial spines are not directly considered by any of the methods described to date. Unfortunately the ischial spines cannot be seen with ultrasound. The anatomical landmarks that are generally visible with ultrasound are the pubic symphysis and the fetal skull. We tried to identify the projection of the ischial spines on the ultrasound image.
Objective:
To analyze the anatomical relationship between the pubic symphysis and the ischial spines to determine reliable landmarks for the assessment of fetal head descent by intrapartum translabial ultrasound (ITU).
Material and Methods:
All computed tomography (CT) scans performed for breech presentation and for twin delivery between 2006 and 2014 in a tertiary university hospital were obtained for measurement and analysis by two operators. The symphysis–left ischial spine angle (SIA) and the symphysis–left ischial spine distance (SID) were measured on three-dimensional reconstructions from the CT volume dataset. We calculated intra- and interobserver agreements for SIA and SID with 95% prediction intervals, created Bland–Altman plots with 95% limits of agreement and estimated the intraclass correlation coefficient (ICC). A sagittal plane projection from the SIA enabled calculation of a sagittal angle, corresponding to the angle of progression (AoP) on ITU.
Results:
SIA and SID were obtained from CT images from 458 women. Reproducibility was good for both SIA (intraobserver ICC, 0.94 (95% CI, 0.88–0.97) and interobserver ICC, 0.81 (95% CI, 0.66–0.92)) and SID (intraobserver ICC, 0.92 (95% CI, 0.82–0.97) and interobserver ICC, 0.83 (95% CI, 0.73–0.92)). The median SIA was 106°(interquartile range (IQR), 105–109°) and median SID was 26.1 (IQR, 23.4–29.5) mm. SIA and SID were not correlated with pelvic diameter or height. The 50th percentile of AoP was 110°
Conclusion:
Knowledge of the anatomical relationship between the pubic symphysis and ischial spines makes it possible to establish a sonographic method for assessing fetal head descent by taking into account the level of the ischial spines.

Quantification de la maladie résiduelle par l'étude du chimérisme après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans les leucémies aiguës myéloïdes : comparaison avec la surexpression de WT1

Anne Bouvier1,2,3, Jérémie Riou4,5, Sylvie François3,6, Sylvain Thépot2,3,6, Marie-Hélène Estienne3,7, Emmanuel Gyan3,8, Damien Luque Paz1,2,3,5, Bénédicte Ribourtout1,3, Annaëlle Beucher1,3, Laurane Cottin1, Philippe Guardiola2,3,5,8, Norbert Ifrah2,3,5,6, Valérie Ugo1,2,3,5, Mathilde Hunault2,3,5,6, Odile Blanchet1,2,3,5,9
1 CHU Angers, Laboratoire d'Hématologie, Angers ; 2 CRCINA, INSERM, Angers ; 3 Fédération Hospitalo-Universitaire 'Grand Ouest Against Leukemia' (FHU GOAL), 4 INSERM 1066 MINT, Angers ; 5 Université d'Angers, UFR Santé, Angers ; 6 CHU Angers, Service des Maladies du Sang, Angers ; 7 CHRU Tours, Service d'Hématologie Biologique, Tours ; 7 CHRU Tours, Service d'Hématologie Clinique, Tours ; 8 CHU Angers, Service de Génomique Onco-Hématologique (SERGOH), Angers ; 9 CHU Angers, Centre de ressources biologiques, BB-0033-00038, Angers.

Introduction : L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) constitue l'un des traitements curatifs des leucémies aiguës myéloïdes (LAM). La rechute est néanmoins l'une des complications majeures. Le suivi de la maladie résiduelle (MRD) en post-greffe montre toute son importance, afin de détecter le plus précocement la persistance ou la réapparition de cellules du receveur associée au risque de rechute. L'étude de l'évolution du chimérisme permet d'anticiper l'adaptation thérapeutique (traitements immunosuppresseurs, injection de lymphocytes du donneur (DLI)). La quantification du chimérisme par PCR en temps réel (RQ-PCR) utilisant la détection de polymorphisme, est une méthode très sensible qui permet de mettre en évidence la réapparition d'un très faible pourcentage de cellules du receveur (<0,1%). Le gène Wilms' tumor 1 (WT1), surexprimé dans près de 70 à 90% des LAM au diagnostic est aussi un bon marqueur de suivi de MRD en post-allogreffe pour prédire la rechute. L'objectif de notre étude est d'évaluer si le suivi longitudinal du chimérisme permet la détection précoce de la rechute chez les patients allogreffés pour une LAM et de comparer ses performances avec le suivi de WT1
Matériel et méthodes : Les patients adultes allogreffés pour une LAM entre 2004 et 2016 au CHU d'Angers ont été recensés afin d'identifier les patients présentant au moins deux analyses de chimérisme disponibles, une hyperexpression de WT1 au diagnostic ou en pré-greffe et un suivi longitudinal aux mêmes temps pour le chimérisme et WT1. Le chimérisme est déterminé par RQ-PCR sur les fractions cellulaires CD3+ et CD3- triées par tri magnétique après Ficoll du sang périphérique. La fraction CD3- permet un enrichissement en cellules blastiques. La quantification de WT1 est effectuée par RQPCR sur le sang périphérique.
Résultats : Parmi les 139 patients avec LAM allogreffés sur la période étudiée, 104 ont pu être inclus dans cette étude rétrospective. L'âge médian au moment de la greffe était de 52 ans (18-70). Un conditionnement d'intensité réduite a été utilisé dans 68% des cas. Le taux de rechute après allogreffe de CSH était de 37% apparaissant dans un délai médian de 161 jours (30-1530). La majorité des rechutes (75%) surviennent pendant la première année de suivi post-allogreffe. Dans la cohorte, 49 patients sont décédés (47%) après l'allogreffe principalement en raison d'une rechute (67%). 708 échantillons ont été analysés pour le chimérisme ; le nombre moyen de prélèvements analysés par patient était de 6,6 (2-27). L'analyse du chimérisme sur la fraction CD3- et de la MRD WT1 montre de bonnes performances pour prédire la rechute jusqu'à plus de 90 jours avant la rechute, avec une sensibilité de 78% et 82% respectivement et une spécificité de 100% pour les deux approches. La comparaison des aires sous la courbe entre le chimérisme CD3- (ASC = 0.736) et la MRD WT1 (ASC=0.731) ne montre pas de différence significative.
Conclusion :
Cette étude montre l'intérêt du suivi du chimérisme par RQ-PCR lors du suivi post-allogreffe dans l'identification des patients à haut risque de rechute. Le suivi quantitatif spécifique de la fraction CD3- est un nouvel outil performant de suivi de MRD et pourra être utilisé chez les patients ne présentant pas de marqueurs moléculaires spécifiques disponibles.

CONFERENCE PLENIERE

Infection à *Mycobacterium ulcerans* : de la punaise d'eau à un mécanisme « anti-douleur »

Laurent MARSOLLIER

Equipe ATIP/Avenir ATOMycA ; CRCINA Inserm U1232 CNRS ERL- Université et CHU d'Angers

L'ulcère de Buruli ou infection à *Mycobacterium ulcerans* est la troisième mycobactériose dans le monde. Cette maladie tropicale négligée est devenue la troisième mycobactériose après la tuberculose et la lèpre. La principale manifestation clinique de cette infection à tropisme essentiellement cutané est la présence de larges ulcères peu douloureux au site de multiplication de *M. ulcerans*. Les lésions sont causées par une toxine appelée mycolactone. A ce jour l'arsenal thérapeutique et diagnostic reste peu limité. De plus, puisque le mode de transmission du bacille n'est pas encore complètement élucidé la mise en place de mesure préventive est délicate.

Dans ce contexte depuis plus de dix ans, notre équipe essaie de percer les mystères de cette maladie pour répondre aux attentes des équipes médicales en explorant la biologie du bacille de son écologie à ses interactions avec ses hôtes. Récemment nos travaux portant sur l'ulcère de Buruli ont permis de découvrir la stratégie développée par le bacille pour que les lésions soient peu douloureuses. Ce travail ouvre de nouvelles perspectives pour le développement de nouveaux candidats antidouleur mais aussi mettent en exergue une stratégie originale du bacille dans la colonisation du tissu cutané.

SESSION POSTERS

CANCER

Expression des molécules coinhibitrices dans le cancer de l'ovaire

Léa PAOLINI1, Clément ADAM1, Simon BLANCHARD1,2, Yves DELNESTE1.

1 CRCINA, INSERM, Université de Nantes, Université d'Angers, Angers, France

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

Introduction :

Le cancer de l'ovaire (CO) est généralement diagnostiqué à un stade avancé et est par conséquent associé à un mauvais pronostic. En effet, des métastases péritonéales surviennent fréquemment après l'exérèse chirurgicale et la chimiothérapie de première intention. Une des caractéristiques importantes du CO est un microenvironnement tumoral immunosuppresseur et bien que les inhibiteurs des « immune checkpoint » (ICP) aient révolutionné le traitement de nombreux cancers, les données ont montré une relative efficacité de la neutralisation de la voie PD-1/PD-L1 dans les CO. Les modèles précliniques ont révélé que le blocage d'un seul ICP (PD-1, LAG3 ou CTLA4) induisait une surexpression compensatrice des autres ICP, et qu'il fallait bloquer au moins deux ICP pour prévenir l'évolution de la tumeur.

Matériel et méthodes :

L'expression des molécules co-inhibitrices et co-activatrices a été analysée dans les ascites de carcinoses ovariennes par cytométrie en flux multiparamétrique sur les sous-populations de cellules immunitaires suivantes : lymphocytes T (LT) CD4+ et CD8+ (naïfs, centraux mémoires, effecteurs mémoires), monocytes et macrophages associés aux tumeurs (TAM), cellules NK, lymphocytes B naïfs et mémoires.

Résultats :

L'expression des molécules co-inhibitrices (CD160, 2B4, PD-1, BTLA, LAG3, TIGIT, CTLA-4, CD96, TIM3) a été analysée sur les LT issus de CO de cinq patients présentant un carcinome séreux de haut grade avant chimiothérapie. En plus d'une augmentation déjà décrite de l'expression de PD-1, les résultats ont mis en évidence une expression par les LT mémoires CD4+ et CD8+ d'un taux élevé de 2B4. Nous avons également observé l'expression de 2B4 par les TAM. Enfin, l'expression de TIGIT, CD96 et BTLA est similaire sur les LT d'ascites de CO et de sang périphérique de donneurs sains, et les molécules CD160, LAG3, CTLA4 et TIM3 restent indétectables sur les LT d'ascite.

Conclusion :

Ces résultats confirment l'importance d'avoir, pour chaque tumeur et pour chaque patient, une vision précise du profil d'expression des molécules co-inhibitrices et co-activatrices afin d'adapter la combinaison d'inhibiteurs d'ICP au cours d'une immunothérapie. Dans l'étude présente, nos données révèlent que 2B4 est le principal ICP surexprimé dans les CO et que la plupart des ICP habituellement ciblés (TIM3, LAG3, CTLA4) ne sont pas ou peu exprimés par les LT présents dans les CO. La continuité de ce projet consiste à démontrer que le blocage de l'interaction de 2B4 avec son ligand CD48 pourrait constituer une nouvelle stratégie pour augmenter l'efficacité thérapeutique en synergie avec les autres inhibiteurs d'ICP

Evaluation of a novel STAT5 inhibitor in leukemic cells

Marie Brachet-Botineau1,2, Ludovic Juen3, Jérôme Bourgeais1,2, Véronique Maguer-Satta4, Marie-Claude Viaud-Massuard3, Gildas Prié3, Olivier Hérault1,2, Fabrice Gouilleux1

(1) Equipe LNOx, UMR 7292 CNRS, Faculté de Médecine, Bâtiment Dutrochet - 10bis bd Tonnellé - 37032 TOURS.

(2) CHRU de Tours - Service d'Hématologie Biologique - 2 boulevard Tonnellé - 37044 Tours - France

(3) Equipe IMT, UMR 7292 CNRS, Université de Tours, Labex SYNORG, Faculté de Pharmacie - 31 avenue Monge - 37200 TOURS.

(4) Centre Leon Berard, CRC, U1052 UMR 5286, Université Claude Bernard - 28 rue Laennec –

69008 LYON

Chronic myelogenous leukemia (CML) is a myeloproliferative disease due to t(9;22) genomic translocation-derived BCR-ABL fusion gene. This oncogene codes for Bcr-Abl tyrosine kinase which activates several signaling pathways including transcription factors STAT5A and STAT5B (Signal Transducers and Activators of Trancription 5A/5B). Imatinib, a Bcr-Abl inhibitor, is currently used as first-line treatment of CML. However, most patients relapse after treatment discontinuation and about 15% experience treatment failure.

Many studies have shown the crucial role of STAT5 in leukemogenesis. STAT5 inhibition could therefore contribute to undermine the survival and self-renewal of leukemic cells and to sensitize them to chemotherapy.

Our first work (Juen et al, 2017) made it possible to identify a compound capable of inhibiting STAT5 and showing promising proapoptotic and antiproliferative effects on CML cell lines but also on acute myeloid leukemia (AML) cell lines expressing an active form of STAT5.

More recent researches have shown that this compound has no cytotoxic effect on normal cell lines, such as stromal cells. On the other hand, it appears to be able to stimulate the antileukemic effect of Imatinib on CML cell lines and to lift the resistance to Imatinib on cell lines resistant to this treatment. This resistance elimination is also observed on AML cell lines made resistant to Cytarabine.

Several direction are explored in order to understand the mechanism of action of the compound responsible for this resistance lifting. Its effects on the production of reactive oxygen species (ROS) and quiescence will be particularly investigated.

INVOLVEMENT OF P2X7, A MEMBRANE RECEPTOR FOR ATP, IN THE INVASIVE PROPERTIES OF MAMMARY CANCER CELLS

Lucie BRISSON1, Bilel LEJASSI1, Stéphanie LERONDEL2, Alain LE PAPE2,3, Julie CHAMOUTON1, Isabelle COUILLIN4, Aurélie GOMBAULT4, Philippe G FRANK1, Lin-Hua JIANG5, Stéphan CHEVALIER1, Pierre BESSON1, Sébastien ROGER1

1 Inserm UMR1069 Nutrition, Croissance et Cancer, Université François-Rabelais de Tours

2 TAAM-CIPA CNRS UPS44, Orléans

3 Inserm UMR1100 Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires, Université François-Rabelais de Tours

4 UMR 7355 CNRS Immunologie et Neurogénétique Expérimentales et Moléculaires, Université d'Orléans

5 University of Leeds

Introduction: ATP is the main source of free energy for cellular functions and is found at high concentration in intracellular compartments. In physiological conditions, ATP is almost undetectable in the extracellular medium, but is importantly increased in pathological conditions associated with cellular stress or tissue lesions as in tumors. Extracellular ATP is a signaling molecule that activates metabotropic P2Y and ionotropic P2X (permeable to Ca2+, Na+ and K+) receptors. The ATP-gated P2X7 receptor is overexpressed in numerous tumors compared to normal cognate tissues. It is expressed in the highly aggressive human cancer cell line MDA-MB-435s in which its activity promotes cancer cell invasiveness through extracellular matrices (ECM) in vitro suggesting an involvement of this receptor in the metastatic progression. This study aims at characterizing mechanisms by which P2X7 promotes breast cancer cell invasiveness and whether it could be a new target to prevent metastatic progression.

Material and methods: The involvement of P2X7 in breast cancer invasiveness is tested in vitro after the stimulation of the receptor with agonists (ATP or BzATP) in cells with different levels of P2X7 expression. In order to test the role of P2X7 in tumor progression, a syngenic model is developed to allow orthotropic grafts of 4T1 mammary cancer cells, expressing or not P2X7, in immunocompetent Balbc wild-type (WT) and P2X7-/- mice.

Results: P2X7 is expressed and functional in the murine mammary cancer cell line 4T1, generating ATP-gated ion currents, intracellular Ca2+ increases and YO-PRO1 uptake. Similarly to human MDA-MB-435s cells, P2X7 activation promotes 4T1 cancer cell invasiveness through the ECM, induces a change in cell morphology with the formation of cellular extensions, a fast F-actin reorganization and a decrease number of focal adhesions. Cells grown on Matrigel-composed matrix form particular structures called invadopodia that are enriched in F-actin with a high proteolytic degradation activity. P2X7 appears to be expressed in invadopodia and its activation increases the total proteolytic degradation activity, with no change in invadopodia number.

The down-regulation of P2X7 expression in 4T1 cancer cells leads to severe reduction in mammary tumor growth. Furthermore, tumor growth was similar when 4T1 cells are implanted into P2X7 expressing wild type or P2X7-/- mice, suggesting that systemic P2X7 targeting could offer new strategies to reduce tumor progression.

Conclusion: Altogether, our results demonstrate the important role of the ATP-gated P2X7 receptor in mammary cancer cell invasiveness and tumor progression, and suggest a therapeutic potential for new or existing P2X7 antagonists.

Étude des anomalies moléculaires prédictives d'évolution défavorable dans la thrombocytémie essentielle mutée CALR

Laurane Cottin1,2,3,4, Damien Luque Paz1,2,3,4, Françoise Boyer4,5, Jean Christophe Ianotto4,6, Aurélie Chauveau4,7, Matgorzata Truchan8, Anne Bouvier1,2,3,4, Jérémie Riou9, Annaëlle Beucher3, Philippe Guardiola1,4,10, Diane Lambert10, Bénédicte Ribourtout1,2,3,4, Corentain Orvain4,5, Gaëlle Guillerm4,6, Mathilde Hunault-Berger4,5, Odile Blanchet1,2,3,4,11, Eric Lippert4,7, Valérie Ugo1,2,3,4

1CRCINA, INSERM, Angers ; 2Université d'Angers, UFR Santé, Angers ; 3CHU Angers, Laboratoire d'hématologie, Angers ; 4Fédération Hospitalo-Universitaire 'Grand Ouest Against Leukemia' (FHU GOAL) ; 5CHU Angers, Service des maladies du sang, Angers ; 6CHRU Brest, Service d'hématologie clinique, Brest ; 7CHU Brest, Laboratoire d'Hématologie, Brest ; 8CH de Saumur, Hématologie clinique, Saumur ; 9Université d'Angers, INSERM 1066 MINT, Angers ; 10CHU Angers, Service de Génomique Onco-Hématologique (SERGOH), Angers ; 11CHU Angers, Centre de ressources biologiques, BB-0033-00038, Angers

Introduction :

Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) sont des hémopathies malignes caractérisées par une augmentation de cellules sanguines matures. Dans la thrombocytémie essentielle (TE), la p rolifération prédomine sur la lignée mégacaryocytaire. Le plus souvent indolente, l'évolution de la TE peut être marquée par la transformation en myélofibrose secondaire ou en leucémie aiguë au pronostic très péjoratif. Des mutations dites promotrices ayant un impact majeur sur le phénotype des SMP ont été découvertes sur les gènes JAK2, CALR et MPL. Avec l'essor du séquençage de nouvelle génération (NGS), des mutations additionnelles sont progressivement mises en évidence. L'objectif de ce travail est d'identifier des anomalies moléculaires prédictives d'évolution défavorable chez des patients atteints de TE CALR mutée.

Matériel et méthodes :

Trente-deux patients présentant une TE mutée CALR et suivis depuis au moins 3 ans ont été étudiés par NGS sur un prélèvement du diagnostic et un prélèvement de suivi. Le panel utilisé comprenait 69 gènes entiers qui ont été analysés sur une plateforme Illumina après enrichissement des régions d'intérêt par technologie HaloPlex HS - Agilent. Les régions mal couvertes par NGS ont été étudiées par séquençage Sanger. Les mutations retenues ont été classées en 3 catégories selon leur impact fonctionnel présumé. Le caractère somatique des mutations ayant une charge allélique stable proche de 50% a été contrôlé sur ADN germinal (ongles). Les mutations de CALR ont été quantifiées par analyse de fragment et PCR digitale. Les données génomiques ont été confrontées à un critère composite d'aggravation clinico-biologique évalué lors du point de suivi.

Résultats :

Au total, 33 variants additionnels ont été détectés chez 21 patients au diagnostic. Onze patients ne présentent pas d'autre mutation que CALR. Les gènes les plus fréquemment mutés sont TET2 (7 variants), ASXL1 (3 variants), JAK2 (3 variants) et ATM (3 variants). Les patients ayant une mutation de CALR de type 1 (12 sur 32 patients) ont un plus grand nombre de mutations additionnelles au diagnostic ($p < 0,05$). L'aggravation clinico-biologique et l'évolution en myélofibrose ne semblent pas associées à une variation du nombre de mutations additionnelles au diagnostic (délai médian de suivi : 8.1 ans). Six mutations apparaissent au cours du suivi, dont trois sur TET2. La charge allélique de CALR augmente entre le diagnostic (30.6% [18.0% ; 37.2%]) et le suivi (45.4% [37.7% ; 48.6%]) ($p < 0.01$). Cette augmentation est significativement plus importante chez les 11 patients présentant une aggravation clinico-biologique (médiane des différences de +25.2%).

Conclusion :

Peu de nouvelles mutations apparaissent au cours du suivi des patients. L'aggravation de la maladie semble associée à une augmentation de la charge allélique de la mutation CALR. Les TE avec mutation de CALR de type 1 semblent présenter un profil mutationnel plus complexe au diagnostic.

Mise au point d'un modèle in vitro d'étude de la niche leucémique

Margaux DEYNOUX1, Jorge DOMENECH1,2, Olivier HERAULT1,2, Frédéric MAZURIER1

1 Université François-Rabelais de Tours, CNRS, GICC UMR 7292, Tours, France

2 CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, Tours, France

Introduction : Le microenvironnement médullaire constitue une niche qui protège et permet le développement des cellules leucémiques. La moelle osseuse (MO) normale et leucémique est faiblement oxygénée (hypoxie). Par ailleurs, l'hypoxie influence la prolifération des cellules cancéreuses, la différenciation et la chimiorésistance. Nous cherchons à comprendre si l'hypoxie est un facteur majeur du microenvironnement dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM).

Matériel et méthodes : Pour modéliser la niche leucémique, nous avons développé un modèle in vitro de culture de cellules de LAM avec des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) de MO. Nous avons ainsi mis en évidence trois populations de cellules leucémiques : non-adhérentes, adhérentes et nichées dans la couche de CSM.

Résultats : Les cellules nichées ont une faible prolifération et une très forte résistance à la cytarabine (>50%), par rapport aux cellules non adhérentes et adhérentes (<10%). Nous observons également que ces cellules sont hypoxiques et ont un faible métabolisme oxydatif, en utilisant des sondes fluorescentes (DCF-DA, MitoSOX) sensibles aux différentes espèces réactives de l'oxygène.

Conclusion : Au sein de la co-culture, certaines cellules viennent se nicher dans les CSM. Cette protection du microenvironnement leur confère une chimiorésistance accrue, une baisse du stress oxydant et l'obtention d'un profil hypoxique. Nous cherchons donc actuellement à mettre en évidence un lien entre hypoxie et métabolisme oxydatif, d'une part, et chimiorésistance, d'autre part. Ces travaux devraient participer à mieux comprendre les mécanismes par lesquels le microenvironnement et l'hypoxie agissent sur la leucémogenèse afin d'améliorer les traitements des LAM.

EFFETS DES ACIDES GRAS POLYINSATURES SUR LA SIGNALISATION CALCIQUE IMPLIQUEE DANS LA TRANSITION EPITHELIO-MESENCHYMATEUSE DANS LE CANCER DE LA PROSTATE.

Sandy FIGIEL1, Fanny BERRY1, Isabelle DOMINGO1, Roseline GUIBON1,2, Christophe VANDIER1, Marie POTIER-CARTEREAU1, Aurélie CHANTOME1, Romain FELIX1, Delphine FONTAINE1, Sana KOUBA1, Karine MAHEO1 et Gaëlle FROMONT1,2

1Inserm U1069, Tours ; 2CHRU Bretonneau, Départements de Pathologie et d'Urologie, Tours

Introduction :

Lors de la progression du cancer de la prostate (CaP), les cellules cancéreuses infiltrent le tissu adipeux péri-prostatique (TAPP), dont la composition en acides gras reflète l'apport nutritionnel. Notre précédente étude a permis de mettre en évidence que l'agressivité du CaP est corrélée négativement, chez l'homme, à certains acides gras du TAPP, l'acide linoléique (AL) et l'acide eicosapentaénoïque (EPA).

La progression tumorale est liée au phénomène de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), caractérisé par la perte de propriétés adhésives et le gain de propriétés migratrices et protéolytiques nécessaires à la formation de métastases. La TEM est régulée par un ensemble de signaux issus du microenvironnement (TGFb, hypoxie…) qui vont mettre en jeu différents facteurs de transcription tels que Zeb1. De plus, nous avons montré précédemment que l'expression de Zeb1 augmente fortement avec les stades de progression du CaP et que son expression est augmentée dans les cellules tumorales infiltrant le TAPP.

Des études récentes sont en faveur d'une implication du calcium dans les évènements précoces de la TEM. Il a été montré, au laboratoire, que l'association de canaux calciques (TRP, Orai) et potassiques (SK3) est impliqué dans la migration, l'invasion et la formation de métastases.

Matériels et méthodes :

La plupart des expériences de ce projet sont menées sur des lignées cellulaires cancéreuses prostatiques, les DU145 et les PC3. Nous avons également réalisé des cultures d'explants de tumeurs prostatiques humains à partir de pièces de prostatectomies réalisées au CHRU de Tours.

L'expression des ARNm a été mesurée par qPCR et l'expression protéique par immunohistochimie. La migration cellulaire a été mesurée en comptant le nombre de cellules ayant migré verticalement à travers une membrane poreuse. La variation de calcium intracellulaire a été mesurée par fluorimétrie avec la sonde Fura2-AM.

Résultats :

L'incorporation de l'AL et de l'EPA dans la membrane plasmique inhibe la migration cellulaire et l'expression de Zeb1 induite par le TGFb et l'hypoxie.

L'utilisation de bloqueurs de différents canaux calciques (TRP/Orai) et potassique (SK3) diminue l'expression de Zeb1. Nous avons également pu mettre en évidence un lien étroit entre Zeb1 et le canal potassique SK3. Nous déterminons actuellement l'effet de l'AL et de l'EPA sur les voies calciques induisant Zeb1 et SK3.

Conclusion :

Les inducteurs de la TEM (TGFb, hypoxie) induisent une entrée de calcium capacitive qui conduirait à stimuler l'expression de Zeb1, qui aurait pour gène cible le canal SK3.

De par leur incorporation dans la membrane, l'AL et l'EPA diminueraient cette voie calcique, qui induirait Zeb1/SK3, et diminuerait le potentiel métastatique.

REGULATION DU CANAL SK3 PAR LES ETHER-LIPIDES ENDOGENES DES CELLULES CANCEREUSES DU SEIN ET DE LA PROSTATE

Delphine FONTAINE1, Ana-Maria BOUCHET1, Marie POTIER-CARTEREAU1, Sana KOUBA1, Karine MAHEO1, Gaëlle FROMONT-HANKARD1,2, Sandy FIGIEL1, Romain FELIX1, Isabelle DOMINGO1, Pierre BESSON1, Michelle PINAULT1, Cyrille GUIMARAES1, Aurélie CHANTOME1, Christophe VANDIER1

1INSERM UMR 1069 « Nutrition, Croissance et Cancer », Tours

2Départements de Pathologie et d'Urologie, CHRU Bretonneau, Tours

Introduction :

Les éther-lipides sont des lipides abondants dans l'huile de foie de requin qui possèdent des propriétés anti-tumorales et diminuent les effets secondaires induits par la radiothérapie. Ces éther-lipides naturels possèdent une chaîne longue d'alcool gras liée au glycérol par une liaison éther et sont présents dans les membranes cellulaires, sous la forme d'alkyl-phospholipides ou d'alkènyl-phospholipides. Ils sont retrouvés en plus grande quantité dans les tumeurs que les tissus non tumoraux et l'inhibition de leur synthèse réduit la migration de cellules cancéreuses. L'objectif de ce travail a été de déterminer si la suppression de l'AlkylGlycerone Phosphate Synthase (AGPS), une enzyme clé de la synthèse des éther-lipides, peut moduler l'expression et les fonctions biologiques du canal SK3, retrouvé anormalement exprimé dans des cellules épithéliales cancéreuses, favorisant leur migration. Ce canal SK3 a par ailleurs été décrit comme étant sensible à des éther-lipides naturels ou des analogues synthétiques.

Matériel et méthodes :

Cette étude a été menée sur deux lignées cellulaires cancéreuses : les MDA-MB-435s, une lignée triple négative de cancer du sein et les PC-3, une lignée de cancer de la prostate dont le récepteur aux androgènes n'est pas fonctionnel.

Toutes les expériences ont été réalisées sur des cellules n'exprimant plus l'AGPS, à l'aide de la technique de siRNA. Les éther-lipides ont été quantifiés par la technique d'HPTLC.

Nous avons ensuite quantifié les ARN messagers par qPCR, évalué la migration à l'aide d'inserts de migration et mesuré les flux calciques avec une sonde ratiométrique, le Fura-2.

Résultats :

Nos résultats montrent une diminution de 70% de la quantité d'éther-lipides dans les lignées étudiées après suppression de l'AGPS. Nous avons ensuite montré une diminution des ARNm codant pour SK3, de la migration et une atteinte de l'influx calcique dépendant de ce canal probablement par la modulation de facteurs de transcription impliqués dans la régulation du canal SK3.

Conclusion :

Ces données montrent pour la première fois que les éther-lipides endogènes régulent l'expression du canal SK3 dans des lignées cellulaires cancéreuses conduisant alors à une diminution de leur migration.

Place diagnostique de PTX 3 dans les aplasies profondes secondaires chez l'enfant et chez l'adulte

Gauthier Foulona, Valérie Thépotc, Céline Beauvillainc, Corentin Orvainb, Pascale Pignonc,

Pascale Jeanninc, Yves Delnestec, Aline Schmidtb, Isabelle Pelliera

aService d'Onco-Hématologie pédiatrique, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

bService des Maladies du Sang, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

cLaboratoire d'Immunologie - INSERM U892, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

Introduction : Malgré une nette amélioration, ces dernières années, de la prise en charge des hémopathies malignes et des leucémies aiguës, les complications infectieuses lors des neutropénies fébriles restent la préoccupation majeure des services d'hématologie.

Comprendre et trouver de nouveaux outils diagnostiques pour optimiser la prise en charge de ces patients permettraient d'envisager des thérapies plus spécifiques et plus précoces pour ces patients à hauts risques.

La pentraxine 3 (PTX 3) apparaît avoir un rôle essentiel dans la lutte contre les infections mais n'a encore été que peu étudiée dans les aplasies fébriles.

L'objectif de ce mémoire est la description du taux pré-thérapeutique de PTX 3 et du taux de PTX 3 au cours des aplasies profondes secondaires chez l'adulte et chez l'enfant.

Matériel et méthodes : Tous les patients candidats à un traitement hématologique intensif dans les services d'Hématologie adulte et d'Onco-hématologie pédiatrique au CHU d'Angers, entre avril 2014 et avril 2016, ont été inclus.

Les différents marqueurs inflammatoires (CRP, PTX 3 et IL 6) ont été prélevés au cours des neutropénies fébriles afin d'en étudier les variations en fonction des situations infectieuses.

La cinétique de ces marqueurs a été décrite et des courbes ROC ont été réalisées pour étudier l'apport diagnostique de ces marqueurs.

Résultats : 130 patients, dont 105 adultes et 25 enfants, ont été inclus dans notre étude. Chez les patients en aplasie, les taux de PTX 3 semblent similaires à la population générale. Selon la gravité de l'épisode infectieux au cours des neutropénies, le taux de PTX 3 augmente de manière significative ($p < 0,0012$) mais dans des proportions bien plus faibles que dans la population non neutropénique. PTX 3 ne semble pas varier en fonction de la documentation bactériologique.

Conclusion : Dans notre étude, nos résultats montrent une absence ou une faible variation du taux de PTX 3 au cours des neutropénies fébriles secondaires quelles que soient la gravité ou l'orientation bactériologique. L'utilisation du biomarqueur PTX 3 comme outil diagnostique s'avère donc limitée pour orienter la prise en charge de ces patients. En revanche, dans ces situations de déficit immunitaire provoqué, se pose la question de l'intérêt d'un apport exogène de PTX 3 pour prévenir ou aider à lutter contre certains pathogènes.

DEVELOPPEMENT D'UN IMPLANT HYDROGEL DE NANOCAPSULES LIPIDIQUES THERAPEUTIQUES, ACTIVES POUR LA PREVENTION DES RECURRENCES DU GLIOBLASTOME

Claire GAZAILLE1, Joël EYER1, Patrick SAULNIER1, Guillaume BASTIAT1

1Equipe Micro et Nanomédecines Translationnelles, INSERM U1066 / CNRS 6021, Angers

Introduction : La prise en charge thérapeutique du glioblastome (GBM) (cancer du système nerveux) est une exérèse de la tumeur primaire, suivi du protocole de Stupp (chimio et/ou radiothérapie) 4 à 6 semaines post résection. Comparé à l'acte chirurgical seul, ce protocole non curatif et peu spécifique a permis une légère augmentation de la médiane de survie, passant de 12 à 14 mois, mais sans empêcher les récurrences tumorales entrainant le décès des patients. Un des facteurs lié aux récurrences est le délai entre l'exérèse et le protocole, mais nécessaire à la bonne cicatrisation des tissus et la récupération du patient. L'objectif est de développer un implant administrable par le neurochirurgien directement après la résection du GBM, ayant un effet thérapeutique immédiat. Des premiers essais ont été mis en place au laboratoire en collaboration avec l'Université Catholique de Louvain. Un hydrogel de nanoacapsules lipidiques (NCLs), sans matrice polymère, composé uniquement de NCLs auto-associées a été obtenu et permet la libération progressive des NCLs chargées en gemcitabine. Des résultats prometteurs ont montré son efficacité thérapeutique intratumorale in vivo dans un modèle murin de résection de GBM (Bastiancich C. et al., J. Control. Release, 2016 ; Bastiancich C. et al., J. Control. Release, 2017). Les NCLs libérées ne sont pas spécifiques des cellules de GBM et l'objectif de ce projet est d'apporter un caractère de ciblage actif aux NCLs libérées. Un peptide : le NFL-TBS.40-63 (NFL) permet cette action et des études ont montré que ce peptide a la possibilité de s'associer aux NCLs en suspension et de permettre leur vectorisation in vivo après injection intratumorale (Balzeau, Biomaterials, 2013).

Matériel et méthodes : Des hydrogels de NCLs seront formulés en présence du peptide NFLs. Les NCLs libérées de l'hydrogel seront testées in vitro sur culture et co-culture cellulaire (GBM et GBM/cellules saines, respectivement). Finalement, l'hydrogel sera évalué in vivo sur des modèles murins sains et de résection de GBM.

Résultats : En modifiant les paramètres de formulation (taille des NCLs, propriétés de surface, nature et concentration des actifs, concentration en NFL, etc), une large gamme d'hydrogels seront obtenus. Les hydrogels présentant les meilleures propriétés viscoélastiques et d'encapsulation d'actifs, accompagné de la meilleure association NFL/LNCs, seront sélectionnés. Cette efficacité d'association sera testée lors de la libération des NCLs à partir du gel dans un liquide céphalorachidien simulé. De plus, l'efficacité de ciblage spécifique des cellules de GBM par ces NCLs libérées sera montrée. Finalement, quelques hydrogels présentant les meilleurs résultats in vitro seront testés in vivo afin de montrer i) l'efficacité thérapeutique de l'hydrogel, ii) la distribution des NCLs autour de l'implant, et iii) la tolérance de l'implant dans les tissus sains.

Conclusion : A partir d'un implant hydrogel administré dans la cavité de résection d'un GBM, la libération continue des NFL/NCLs chargées en actifs thérapeutiques permettra le ciblage spécifique des cellules de GBM résiduelles, pouvant ainsi limiter les récurrences, et ceux sans résidu d'implant une fois les NCLs totalement libérées.

EFFETS DIRECTS DU RAMUCIRUMAB SUR DES LIGNEES DE CELLULES CANCEREUSES COLORECTALES.

S. IBRAHIM1, A. GIRAULT1, L. CORSET1, G. PAINTEAUD1,2 , T. LECOMTE1,3, W. RAOUL1

1 Université François Rabelais de Tours, CNRS, GICC UMR 7292, Tours, France;

2 CHRU de Tours, Laboratoire de pharmacologie-toxicologie, Tours, France;

3 CHRU de Tours, Département d'hépato-gastro-entérologie et d'oncologie digestive, Tours, France;

Introduction :

Le cancer colorectal est un enjeu majeur de santé publique par sa gravité et sa fréquence. Depuis quelques années, l'émergence des thérapies à base d'anticorps monoclonaux anti-angiogéniques qui ciblent notamment l'axe VEGF/VEGF-R2 a permis d'améliorer significativement la survie des patients aux stades avancés de la maladie. D'après la littérature, le VEGF et ses récepteurs VEGF-R1 et VEGF-R2 sont exprimés par les cellules cancéreuses colorectales (Calvani et al. 2008 Cancer Res ; Fan et al. 2011 British J Cancer), ce qui suggère une signalisation paracrine ou autocrine du VEGF que les anticorps monoclonaux pourraient directement cibler (Simon 2017 Trends Mol Med). L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact « off-target » du ramucirumab (Cyramza®) sur des lignées de cellules colorectales cancéreuses.

Matériel et méthodes :

Après stimulation par ramucirumab, nous avons évalué par qPCR l'expression de gènes liés à la signalisation de VEGF dans trois lignées de cellules cancéreuses colorectales présentant des statuts mutationnels différents (lignée HT29 BRAF mutée, HCT116 KRAS mutée et SW48 sans mutation pour ces proto-oncogènes). Nous avons ensuite évalué l'impact du ramucirumab sur la réparation/migration dans un modèle cellulaire de type « scratch assay ». La viabilité/prolifération a été évaluée par un test MTT. Nous avons aussi étudié les effets du ramucirumab sur la progression du cycle cellulaire par cytométrie en flux.

Résultats :

L'expression des gènes de la famille du VEGF et ses récepteurs varie entre les trois lignées cancéreuses colorectales et chaque lignée exprime au moins un récepteur du VEGF. Le traitement par ramucirumab augmente l'expression du VEGF-R2 et de la neuropiline-1 (NRP1) dans la lignée HCT116, ainsi que l'expression du VEGF-A dans la lignée HT29 et de la neuropiline-2 (NRP2) dans la lignée SW48. Ces variations d'expression génique s'accompagnent d'une augmentation de la migration des cellules HCT116 (à 48h) et HT29 (à 24h) alors que la migration des cellules SW48 ne varie pas avec le traitement.

En analysant les différentes phases du cycle cellulaire, nous avons montré que le traitement par ramucirumab induit une faible augmentation de la proportion des cellules HCT116 en phase G0/G1 alors qu'il n'a aucun effet sur cellules HT29 et SW48. Après stimulation par VEGF, le ramucirumab augmente la viabilité des cellules HCT116.

Conclusion :

Ces résultats in vitro montrent que le ramucirumab pourrait affecter directement les lignées cellulaires de cancer colorectal et plus particulièrement les cellules HCT116 KRAS mutées. La réponse en lien avec le statut KRAS reste à confirmer. Toutefois, les répercussions dans des modèles in vivo et en clinique nécessitent des études approfondies.

Molécules amphiphiles modulatrices du canal SK3 vers une nouvelle thérapie anti-métastatique ciblant le complexe ORAI1/SK3

S. KOUBA1,2, R. FELIX1,2, J. BRAIRE3, A.CHANTOME1,2, J.LEBRETON2,3, C.VANDIER1,2, M.MATHE-ALLAINMAT2,3 , M. POTIER-CARTEREAU1,2

1Inserm U1069, Université de Tours, 2 Ion Channels Network and Cancer- Cancéropôle Grand Ouest, 3 CEISAM CNRS UMR6230, Université de Nantes

Introduction :

Des études récentes développées au sein du laboratoire INSERM UMR 1069-Tours, ont permis de mettre en évidence le rôle des canaux calciques Orai1 et du canal potassique activé par le calcium SK3, sous forme de complexes, régulant l'homéostasie calcique non seulement dans la biologie de la cellule cancéreuse mais aussi lors du développement tumorale. C'est pourquoi l'identification de modulateurs de ces canaux, pour lesquels il n'existe à ce jour aucun bloqueur spécifique, constitue une opportunité unique pour explorer un nouveau concept thérapeutique ciblé original, et notamment pour lutter contre le développement des métastases osseuses. Parmi les molécules présentant une activité inhibitrice sur les canaux potassiques (SKCa), plusieurs composés de type hétérocyclique azoté neutres comme la 4-AP ou le AG525E1, ou chargés comme le composé NMAG525E1 ont antérieurement été identifiés. En collaboration avec une équipe de chimistes CEISAM UMR CNRS6230- Nantes, une étude a été engagée avec pour objectifs : 1) de développer une nouvelle famille de molécules azotées présentant des caractéristiques amphiphiles et 2) d'évaluer l'activité de ces nouveaux composés sur la migration dépendante du canal SK3 et la signalisation calcique des cellules cancéreuses du sein et de la prostate.

Matériel et méthodes :

Test de Viabilité Cellulaire

Test de migration en insert

Imagerie Calcique

Patch-Clamp

Résultats :

A partir de la 2-Picoline commerciale et d'aldéhydes préparés par oxydation des alcools commerciaux, des molécules amphiphiles (fragment azoté + fragment lipidique) ont été isolées. Parmi ces molécules, deux (LMA10312 et LMA10328) ont présenté pas ou très peu de toxicité sur les cellules cancéreuses du sein MDA-MB-435s et de la prostate PC-3. Nous avons ensuite testé leur effet sur la migration SK3-dépendante de ces deux lignées et nos résultats montrent une inhibition d'environ 60%. Nous avons ensuite mesuré l'influx calcique en présence de la LMA10312 et nous avons observé une diminution d'environ 40% de l'entrée calcique constitutive dans les cellules MDA-MB-435s et 50% de l'entrée calcique capacitive dans les PC-3. Enfin, nous avons surexprimé le canal SK3 dans la lignée HEK-293 et nous avons mesuré le courant SK3 en Patch-Clamp en présence de la molécule LMA10312 ou de la molécule LMA10328 ; le courant SK3 a été inhibé de 90% et 70% respectivement.

Conclusion :

Une nouvelle famille de molécules lipophiles azotées a été préparée selon une voie de synthèse rapide et modulable. Deux d'entres elles ont déjà montré un intérêt en tant que potentielles molécules anti-métastatiques. Ces résultats doivent être complétés par des expériences in vivo afin de valider les effets observés. Le mode d'action de ces molécules reste aussi à explorer

Gap junctions dans la niche leucémique

F. Kouzi 1,2, J. Bourgeais1, 3, F. Picou1, 3, H. Dakik1, B. Roux1, 3, J. Domenech1, 3, F. Gouilleux1, F. Rouleux-Bonnin1, F. Mazurier1, K. Zibara2 and O. Herault1, 3

1- CNRS UMR 7292, " Leukemic niche and redox metabolism " (LNOx) team, Tours, France 2- ER045, PRASE, Département de Biologie, Faculté de Sciences, université Libanaise, Beyrouth- Liban 3- CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, Tours, France

Introduction :

Le microenvironnement médullaire (niche) joue un rôle crucial dans la progression leucémique, en favorisant la quiescence des cellules leucémiques et leur chimiorésistance. Les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) de la niche soutiennent l'hématopoïèse leucémique avec un contact direct impliquant des jonctions gap intercellulaires, formées par différentes connexines (Cx). Leurs perturbations pourraient favoriser la leucémogenèse en perturbant l'homéostasie des niches hématopoïétiques. Notre objectif a été de rechercher s'il existe des jonctions gap spécifiques des niches leucémiques, et de préciser leur rôle dans la chimiorésistance.

Matériel et méthodes :

L'expression de 21 Cxs était étudiée à la fois dans les cellules leucémiques (qRT-PCR de 23 lignées leucémiques et de 40 patients LAM ; RNA-Seq de 450 patients LAM, groupés selon leurs caractéristiques cytogénétiques et mutationnelles), et aussi dans les CSM leucémiques comparativement aux CSM de moelles normales (qRT-PCR de 19 CSM dans chaque groupe). Pour évaluer l'effet de l'inhibition des jonctions gap sur la chimiosensibilité des cellules leucémiques ont été exposées au carbenoxolone (un inhibiteur des Cxs) associé à la cytarabine (chimiothérapie) en réalisant des isoboogrammes. Les isobologrammes réalisés suggèrent un effet synergique entre ces 2 molécules et renforcent l'hypothèse d'un rôle majeur de jonctions formées par les connexines

Résultats :

Les analyses de qRT-PCR et RNA-Seq ont objectivé une surexpression des Cx25, Cx31.9 et Cx59 par les cellules leucémiques, ainsi qu'une surexpression par les CSM leucémiques de Cx25, suggérant une jonction gap impliquant spécifiquement Cx25 dans la niche leucémique. Les isobologrammes de carbenoxolone et cytarabine réalisés, suggèrent un effet synergique entre ces 2 molécules et renforcent l'hypothèse d'un rôle majeur de jonctions formées par les connexines.

Conclusion :

Ces data renforcent l'hypothèse d'un rôle majeur de jonctions formées par les connexines, dont spécifiquement Cx25, dans l'agressivité des leucémies, et apportent un nouvel éclairage sur des stratégies thérapeutiques originales.

LA METHYLTRANSFERASE EZH2 REGULE L'ECHAPPEMENT A LA SENESCENCE, INDUITE PAR LA CHIMIOTHERAPIE, VIA LA REGULATION DE LA VOIE D'ENDOCYTOSE DES RECEPTEURS.

Mélanie LE DUFF, Julien GOUJU, Barbara JONCHERE, Bertrand TOUTAIN, Alice BOISSARD, Cécile HENRY, Catherine GUETTE, Eric LELIEVRE and Olivier COQUERET.

Institut de Cancérologie de l'Ouest Paul Papin, Inserm U1232 Equipe 12, Angers, France

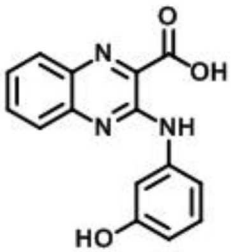
La sénescence, induite par la chimiothérapie, est une réponse suppressive empêchant la progression du cycle cellulaire via l'activation des voies de signalisation p53-p21 et p16-Rb. En réponse au traitement, certaines cellules peuvent survivre à la sénescence. Au laboratoire nous étudions l'échappement des cellules à la sénescence induite par un traitement de chimiothérapie, l'irinotécan, en utilisant des lignées cellulaires colorectales. Nous avons montré qu'une sous population cellulaire, appelée PLD, pouvait échapper à cet arrêt du cycle cellulaire et reprendre la prolifération ; alors que d'autres cellules restent en sénescence, elles sont appelées les PLS. Les cellules persistantes qui résistaient à la sénescence apparaissaient comme des cellules plus transformées, dépendantes des protéines de survie Akt et Mcl-1 et bien qu'elles soient principalement arrêtées, elles induisent la formation de tumeurs chez la souris. Afin de mieux comprendre l'échappement à la sénescence, nous avons étudié l'impact de la méthyltransférase EZH2, une protéine surexprimée dans les cancers et impliquée dans la méthylation du locus p16INK4. Nous avons observé que l'expression de la méthylase est inhibée suite à un traitement génotoxique mais qu'elle reste exprimée dans la sous-population cellulaire échappant à la sénescence (les PLD). En outre, l'inhibition de EZH2 via la molécule GSK343 ou par un ARN interférent réduit le nombre de cellules émergentes alors que ce n'est pas le cas des inhibiteurs de HDAC. Nous avons conclu que EZH2 était impliquée dans l'émergence cellulaire après un traitement de chimiothérapie. Nous avons effectué une analyse protéomique quantitative après l'inhibition de EZH2 pour caractériser les cibles qui pourraient être impliquées dans l'échappement à la sénescence. Cette analyse a identifié des protéines impliquées dans l'endocytose médiée par la clathrine, comme AP2M1, un composant du complexe adaptateur protéine-2 (AP-2) et GAK et AAK1, des kinases qui régulent les voies d'endocytoses et sécrétoire dépendantes de la clathrine. Dans les cellules sénescentes et les PLS, AP2M1 est surexprimé et son inhibition par ARN interférent empêche l'émergence cellulaire in vitro. Nos résultats suggèrent que l'inhibition de EZH2 empêche l'émergence cellulaire via la régulation des protéines impliquées dans l'endocytose des récepteurs membranaires. Des travaux sont en cours pour identifier ces récepteurs de surface ciblés par la voie EZH2-AP2M1 impliqués dans l'échappement de la sénescence.

Design, synthesis and biological evaluation of novel quinoxaline-2-carboxylic acids and analogues as Pim-1 kinase inhibitors

Bruno OYALLON1, Marie BRACHET-BOTINEAU2,6, Pascal BONNET3, Blandine BARATTE4, Thomas ROBERT4, Sandrine RUCHAUD4, Stéphane BACH4, Pascal BERTHELOT5, Fabrice GOUILLEUX2, Marie-Claude VIAUD-MASSUARD1, Caroline DENEVAULT-SABOURIN1

1UMR 7292 GICC CNRS, équipe « Innovation Moléculaire et Thérapeutique », Université François Rabelais, 37200 Tours, France ; 2UMR 7292 GICC CNRS, équipe « Niche Leucémique et Métabolisme redOx », Université François Rabelais, 37000 Tours, France ; 3UMR CNRS-Université d'Orléans 7311, ICOA, Université d'Orléans, 45067 Orléans, France ; 4USR3151 CNRS/UPMC, Plate-forme de criblage KISSf, Station Biologique de Roscoff, 29688 Roscoff, France ; 5UMR-S 1172 – JPArc – Cerntre de recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, Université de Lille, Inserm, CHU de Lille, 59000 Lille, France ; 6Service d'Hématologie Biologique, CHRU de Tours, 37044 Tours, France.

Pim-1 is a serine/threonine protein kinase belonging to the Pim kinase family (constituted of Pim-1, Pim-2 and Pim-3) encoded by the pim (proviral integration site of Moloney murine leukemia virus) genes, a small family of proto-oncogenes. Pim-1, the first identified Pim kinase, is an oncoprotein, constitutively active, which is involved in cell cycle regulation, cell survival, proliferation and differentiation. However, it has been demonstrated that this kinase is overexpressed in a large range of human tumor diseases, such as hematopoietic malignancies and solid cancers. Furthermore, activation of Pim-1 has been shown to play a crucial role in resistance to chemotherapy drugs and to promote multiple drug resistance. This kinase is thus considered as a relevant target for cancer therapy. We first performed a target-based approach, by realizing a focused in vitro screening of our chemical library on a limited panel of kinases, comprising Homo sapiens Pim-1 (HsPim-1), allowing the identification of the quinoxaline-2-carboxylic acid 1 as a new lead compound (Fig. 1). This molecule was able to inhibit the in vitro enzymatic activity of HsPim-1 with an IC50 of 74 nM. Docking studies, using program GOLD, were performed with the lead compound 1 into the ATP pocket of HsPim-1 (3A99.pdb) (Fig. 1), demonstrating interesting interactions between compound 1 and several amino acids of the ATP-binding cleft of HsPim-1. In particular, the carboxylate moiety of compound 1 can form a salt bridge with the protonated amino group side chain of catalytic Lys67. Using a structure-based design approach, we then determined a study model to initiate structure-activity relationships (SAR) studies. Thirteen new derivatives were thus synthesized. These compounds were then evaluated in vitro on HsPim-1 and on a panel of mammalian kinases to determine their selectivity profile. Finally, biological evaluations on human myeloid leukemia cell lines (KU812) overexpressing Pim-1 were performed.



Composé 1

	CI_{50} (µM)
*Hs*Pim-1	0,074
KU812	38,9

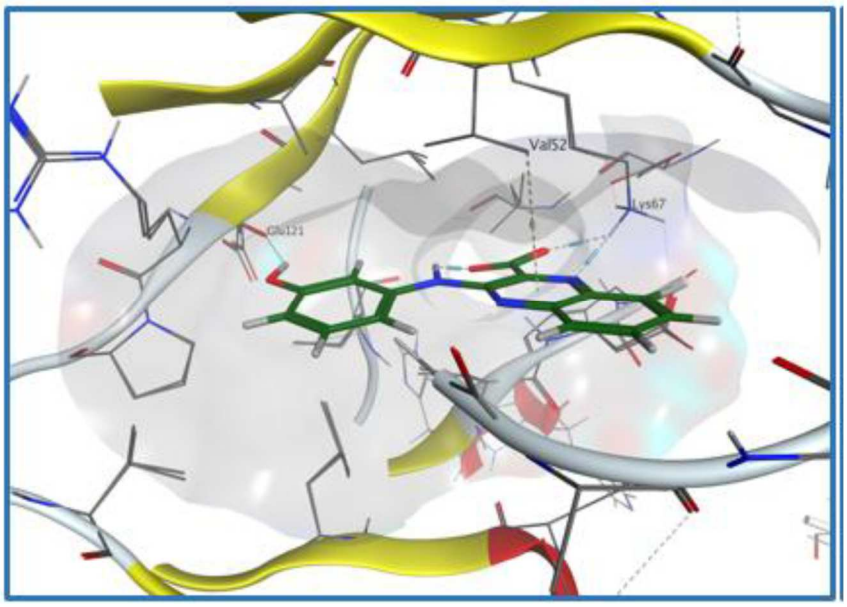


Figure 1: Docking of lead compound 1 into HsPim-1 ATP-binding pocket

Cytokine network regulates accumulation and activity of immune cells with protumoral functions

Emmanuel C. Patin1, Daphnée Soulard1, Sébastien Fleury2, Maya Hassane1, David Dombrowicz2, Christelle Faveeuw1, François Trottein1 and Christophe Paget1,3

1Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 - UMR 8204 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, F-59000 Lille, France. 2Université de Lille, Inserm, Institut Pasteur de Lille, CHU Lille, U1011, EGID, Lille, France - European Genomic Institute of Diabetes, F-59000 Lille, France. 3Univ. Tours, INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), UMR 1100, F-37032 Tours, France.

Summary :

The protumoral activity of γδT17 cells has recently emerged in a wide variety of solid malignancies including breast cancer. These cells exert their detrimental functions by promoting tumor growth, angiogenesis and subsequent metastasis development. However, the intratumoral factors that regulate the biology of γδT17cells within the tumor microenvironment are less well understood. Here, using two experimental models of breast cancer, we reinforced the concept that tumor-infiltrating γδT17 cells are endowed with protumoral functions, which promote tumor progression and metastasis development. More importantly, we demonstrated a critical role for type I interferon signaling in controlling the preferential accumulation in the tumor bed of a peculiar subset of γδT17 cells displaying a CD27- CD3bright phenotype (previously associated with the invariant Vγ6Vδ1+ TCR). Interestingly, this effect was indirect and partially relied on the IFNAR1-dependent control of IL-7 secretion, a factor that triggers proliferation and activating functions of deleterious γδT17 cells. Our work therefore identifies a key role of the type I interferon/IL-7 axis in the regulation of intratumoral γδT17 cell functions and in the development of primary breast tumor growth and metastasis.

Identification d'un vecteur protéique induisant des lymphocytes T cytotoxiques antitumoraux in vivo

Léa Paolini1,2, Sonia Salle1,2, Céline Beauvillain1,2,3, Pascale Jeannin1,2,3

1 CRCINA, INSERM, Université de Nantes, Université d'Angers, Angers, France, 2 Labex ImmunoGraftOnco, Angers, France, 3 Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, Angers, France

Introduction

L'existence de résistances aux traitements antitumoraux conventionnels nécessite de développer des stratégies thérapeutiques innovantes parmi lesquelles l'immunothérapie a émergé comme une voie thérapeutique d'intérêt. L'immunothérapie active ou vaccination consiste en l'induction de lymphocytes T cytotoxiques (CTL) antitumoraux. Nous avons identifié un vecteur protéique (VP) sur sa capacité à se fixer aux cellules dendritiques (CD) et à rejoindre les voies de présentation des antigènes. Nous avons évalué sa capacité à induire la présentation croisée d'un antigène modèle ainsi que sa capacité à induire in vivo une réponse CTL antitumorale.

Matériel et méthodes

Nous avons produit une protéine chimérique recombinante constituée de VP associée à l'antigène modèle ovalbumine (Ova). Dans une première série d'expériences, nous avons évalué in vitro la capacité de VP-Ova à induire la présentation antigénique croisée de Ova par des CD murines en mesurant l'activation de lymphocytes T CD8+ spécifiques de Ova (production d'IL-2) comparativement à Ova seul. Dans une deuxième série d'expériences, nous avons évalué la capacité de VP-Ova, seul ou combiné à un adjuvant, à induire in vivo des CTL dans des souris sauvages et des souris tolérantes pour l'antigène Ova en mesurant in vivo la lyse de cellules cibles et/ou la survie et le volume tumoral.

Résultats

Les résultats montrent que VP-Ova favorise la présentation croisée de l'antigène qui lui est associé in vitro. In vivo, VP-Ova induit des CTL chez des souris sauvages et retarde le développement des cellules tumorales exprimant l'antigène Ova. Nous avons également montré que la vaccination de souris transgéniques exprimant l'antigène Ova (qui sont donc tolérantes à cet antigène) avec VP-Ova induit des CTL lorsqu'il est associé à un anticorps ciblant un checkpoint inhibiteur.

Conclusion

Ces résultats identifient VP comme un vecteur prometteur en vaccination antitumorale qui pourrait être associé à des peptides immunogéniques permettant la génération de CTL spécifiques.

Bone marrow oxidative stress and specific antioxidant signatures in myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia.

*Picou F*1, Vignon C*1, Hanna J1,2, Halty C1,2, Lachot S2, Estienne MH2, Mazurier F1, Gouilleux F1, Rouleux-Bonnin F1, Domenech J1,2, Gyan E*1,3, Fontenay M*4 and Herault O1,2,5*

1CNRS UMR 7292, "Leukemic niche and redox metabolism" (LNOx) team, Tours, France

2CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, Tours, France

3CHRU de Tours, Service d'Hématologie et Thérapie Cellulaire, Tours, France

3APHP, Institut Cochin, Service d'Hématologie Biologique, Paris, France

5CNRS GDR 3697, "Microenvironment of tumor niches", Tours, France

Introduction :

Myelodysplastic syndromes (MDS) are heterogeneous group of clonal stem cell disorders with an inherent tendency for leukemic transformation in secondary acute myeloid leukemia (sAML).

Matériel et méthodes :

This study focused on the redox metabolism of bone marrow (BM) cells from 97 patients compared to 38 healthy controls. We quantified the level of reactive oxygen species (ROS) by flow cytometry in the subpopulations of BM cells and the expression level of 28 transcripts encoding for major enzymes implicated in the antioxidant cellular response.

Résultats :

Our results highlight increased ROS level in BM non-lymphoid cells and especially in primitive CD34+CD38- progenitors. Moreover, we identified a specific antioxidant signature (antioxidogram) for the different MDS grades or sAML. More particularly, the progression of the disease is characterized by 3-step response: (i) overexpression of enzymes reducing disulfides bonds in protein (low-grade MDS - GLRX family) then (ii) enzymes detoxifying H_2O_2 (high-grade MDS - PRDX and GPX families), and finally (iii) decreased expression of these enzymes in sAML.

Conclusion :

Altogether, this study demonstrate that MDS and sAML present an important disturbance of redox metabolism, especially in BM primitive progenitors and that the specific molecular antioxidant response could be considered as biomarkers useful for diagnosis and follow-up of the disease.

Expression and role of pore-forming and auxiliary subunits of voltage-gated sodium channels (NaV) in pH regulation and invasive properties of human colorectal cancer cells

Lucile Poisson1, Frédéric Gradek1, Lucie Brisson1, Emeline Bon1, Stéphan Chevalier1, Sébastien Roger1, Pierre Besson1 and Driffa Moussata1,2

1, Inserm UMR1069, Nutrition, Croissance et Cancer, Faculté de Médecine de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France

2, Service d'hépato-gastroentérologie et de cancérologie digestive, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37000 Tours, France

Colorectal cancer (CRC) is a major cause of morbidity and mortality throughout the world, affecting men and women almost equally. Increasing evidence suggests that ion channels, and more specifically voltage-gated sodium channels (NaV) are key contributors to the oncogenic behaviour of cancer cells. In breast cancer, we have previously demonstrated that the isoform NaV1.5 is abnormally expressed de novo in tumours and cancer cells, in comparison to non-cancer tissues where it is absent. NaV1.5 contributes to the invasive potential of breast cancer cells by acidifying the extracellular pH through the allosteric activation of the Na+-H+ exchanger type 1 (NHE1), known to be overexpressed in cancers, and the subsequent activation of extracellular matrix-remodelling proteases. In colon cancer cells, NaV1.5 was shown to be expressed at the luminal side plasma membrane and its activity contributed to the invasive potential of colon cancer cells.

In this study, we assessed the expression levels of pore-forming α- and auxiliary β-subunits of NaV in different human colorectal cancer cell lines and colon or rectal cancer patient's biopsies. In all cell lines tested, transcripts of NaV1.5 and NaV1.6 were the more abundantly expressed pore-forming isoforms. The mRNA encoding for the β1 subunit was the most expressed among all regulatory β subunits. Concerning biopsies, a trend to an overexpression of the isoforms Nav1.2, Nav1.4 and Nav1.5 was observed in the rectal cancer samples compared to the matched non-cancerous tissues. The expression of β3 appears increased in the rectum and decreased in the colon. NaV α-subunit functionality was confirmed in SW620 and SW480 cancer cell lines by the recording, using the patch clamp technique, of TTX-inhibited sodium currents. The use of specific pharmacological inhibitors, allowed us to consider the possible involvement of NaV channels and NHE in the regulation of the intracellular pH in SW620 cells, as in breast cancer cells. Mechanistic studies will be necessary to explain the involvement of NaV/NHE in the development of colorectal cancer.

Theme: colorectal cancer

Keywords: colorectal cancer, cell lines, voltage-gated Na+ channels (NaV), expression, functionality.

Synthesis, biological evaluation and 3D pharmacophore obtention by in silico molecular alignments of STAT5 inhibitors in the myeloid leukemias treatments

Marion Polomski,1 Hélène Bret,1 Ludovic Juen,1 Marie Brachet-Botineau,2, § Fabrice Gouilleux,2 Christophe Marot,1 Marie-Claude Viaud-Massuard,1 Gildas Prié.1

1 Equipe IMT "Innovation Moléculaire et Thérapeutique" - GICC UMR 7292 CNRS - Université de Tours - Labex SYNORG - Faculté de Pharmacie - 31 av Monge - 37200 Tours - France.

2 Equipe LNOx "Niche leucémique & métabolisme oxydatif" - GICC UMR 7292 CNRS - Université de Tours - Faculté de Médecine - Bâtiment Dutrochet - 10bis bvd Tonnellé - 37032 Tours - France.

§ CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, 2 bvd Tonnellé - 37044 Tours - France.

Signal Transducers and Activators of Transcription 5 (STAT5) are crucial effectors of tyrosine kinase oncogenes in myeloid leukemias. Inhibition of STAT5 would contribute to reducing the survival of leukemic cells and also tackling their chemoresistance. A first screening experiment, carried out by Ludovic Juen during his PhD work, allowed us to identify one compound, LJ274, as having the most potent antileukemic effect. Moreover LJ274 inhibited the growth of acute and chronic myeloid leukemia cell lines (AML and CML) as well as phosphorylation and transcriptional activity of STAT5. These results suggest that LJ274 might be a new lead molecule targeting STAT5 signaling in myeloid leukemias.1

Pimozide, used for chronic psychotic diseases treatments, also showed a good inhibition of phosphorylation activity of STAT5, on the same CML cell lines as LJ274. Furthermore, it causes a significant decrease in the number of viable cells by stopping the cell cycle and increasing apoptosis.2,3

With these similarities, in silico molecular alignments between LJ274 and pimozide structures were carried out and showed very good volume, connection and load alignments of the two structures. Synthesis was then carried out to combine LJ274 and pimozide key parts from a structure-activity relationship (SAR) perspective, allowing us to obtain new derivatives. These later were biologically evaluated and aligned in silico with LJ274 and pimozide. This allowed us to obtain a 3D pharmacophore (Fig. 1) that can subsequently guide future synthesis.

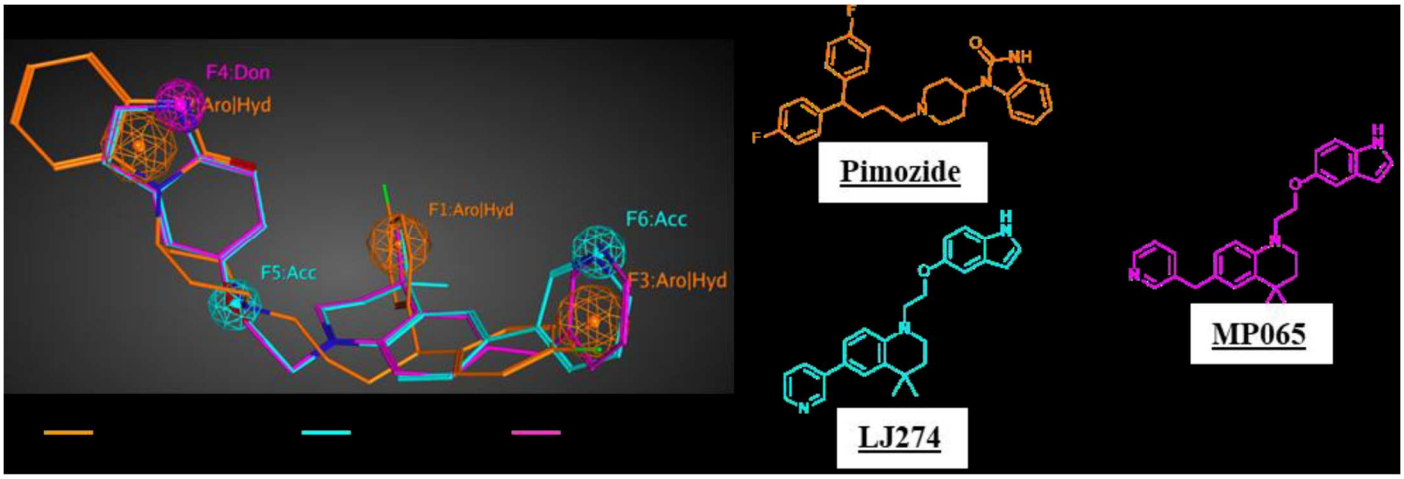


Figure 1: 3D pharmacophore by in silico molecular alignments

References:

(1) Juen et al. J. Med. Chem. 2017, 60 (14), 6119.

(2) Nelson et al. Blood. 2011, 117 (12), 3421.

(3) Rondanin et al. Bioorganic Med. Chem. Lett. 2014, 24 (18), 4568.

Etude métabolomique du variant M918V de l'oncogène RET

Charlotte VEYRAT-DUREBEX1,2, Nathalie BOUZAMONDO1, Morgane LE MAO2, Cédric GADRAS1, Lydie TESSIER1, Pascal REYNIER1,2, Delphine PRUNIER-MIREBEAU1,2*

1Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, 2Institut MITOVASC, CNRS UMR 6214, INSERM U1083, Université d'Angers

**charlotte.veyratdurebex@chu-angers.fr*

Introduction

Les cancers médullaires de la thyroïde (CMT) sont, dans 30% des cas, liés à un variant pathogène germinal dominant du proto-oncogène RET. La corrélation entre le génotype et l'agressivité du CMT a permis de classer les variants pathogènes et d'émettre des recommandations pour le suivi des patients et de leurs apparentés. Cependant de nouveaux variants sont identifiés dont le risque oncogénétique n'est pas établi (variant de signification inconnue VSI), ne permettant pas une prise en charge optimale des patients.

Nous présentons ici une étude du profil métabolomique de lignées cellulaires exprimant le VSI-M918V du gène RET, dans l'optique de proposer une classification de ce variant.

Méthodes

Nous avons généré des lignées stables de fibroblastes murins (NIH3T3) exprimant différents variants du gène RET humain de différents niveaux d'agressivité ainsi que le VSI-M918V. Nous avons quantifié 188 métabolites par spectrométrie de masse avec le kit Biocrates AbsoluteIDQ p180, évaluer l'activation des voies intracellulaires par Western blot et réaliser une courbe de croissance cellulaire sur 72h.

Principaux Résultats et Conclusion

Nous avons montré que le profil métabolique des cellules exprimant le gène RET muté diffère selon le niveau de risque oncogénique. Nous avons construit un modèle statistique nous permettant de prédire le risque oncogénique du variant M918V, 90% des échantillons RET-M918V étant prédit comme possiblement de risque modéré. Ces résultats sont en accord avec les récentes données cliniques publiées pour ce variant. Cette étude préliminaire révèle la faisabilité de l'utilisation de la métabolomique comme outil de caractérisation des variants du gène RET.

CARDIOLOGIE
GASTRO-ENTEROLOGIE
NEPHROLOGIE
TRANSPLANTATION

HIGH SODIUM CONCENTRATION CHANGES OUR HUMAN DENDRITIC CELLS IMMUNE RESPONSE

Sally AL-HAJJ1, Annabelle GOUMARD1.2, Audrey HERAUD1, Sonia GEORGEAULT3, Philippe GATAULT1.2, Mathias BÜCHLER1.2, Roxane LEMOINE1, Christophe BARON1.2, Jean Michel HALIMI1.2.

1EA 4245 ''Cellules Dendritiques, Immunomodulation et Greffes'', Université François Rabelais, Faculté de Médecine, Tours, France, 2Service de Néphrologie-Immunologie clinique, CHU Bretonneau, Tours, France, 3Laboratoire de biologie cellulaire et microscopie électronique, Université François Rabelais, Faculté de Médecine, Tours, France.

Introduction : Excessive Sodium intake is associated to the development of hypertension and to an increases of sodium concentration [Na+] (up to 200 mM) within the skin. Other studies indicate that the transfer of dendritic cells (DCs) from hypertensive to normotensive animals leads to the development of hypertension. DCs modulate both the innate and adaptive immune response. However, the effect of high [Na+] on human DCs is unknown.

Matériel et méthodes : DCs were derived from human blood monocytes that were differentiated for 6 days into DCs in RPMI 10% fetal calf serum (FCS) supplemented with GM-CSF (66 ng/ml) and IL4 (25 ng/ml) then stimulated during 48 h with suboptimal dose of LPS (2.5 ng/ml) at different [Na+] (140 vs 200 mM). We studied DCs morphological changes by actin immunofluorescence staining assessed by confocal microscopy. We analyzed cell viability and expression of CD25, CD83, CD86 and CD80 costimulatory markers as well as FITC-DEXTRAN endocytosis, reactive oxygen species (ROS) production and CCR7 chemokine receptor expression by flow cytometry. We studied DCs CCL19-driven chemotaxis using transwell migration assay with 8 µm pore size. We also measured a panel of secreted cytokines as IL-12p70, IL-6 and IL-10 by ELISA technic.

Résultats : At high [Na+] of 200 mM as compared to normal [Na+] 140 mM, we found that:

1) DCs viability was maintained (over 84.5± 5 %).

2) DCs morphological changes occurred with more elongated aspect.

3) A significant decrease of CD25, CD83 CD80 and CD86 expression were observed

with a respective reduction of (67.7±32.3 %; 60.4±14.5 %; 25±20.8 %; 13.6±10.3 %;

****P < 0.0001).

4) There were less ROS production and a persistence of endocytosis capacity.

5) CCR7 expression (-59.3±15.3 %; ****P < 0.0001) and CCL19-driven chemotaxis

index were significantly reduced.

6) Cytokines measurement showed a significant down-regulation of pro-inflammatory

IL-12p70, IL-6 secreted cytokines with a respective reduction of (78.5±9 %;

66.6±9.2 %; ****P < 0.0001) versus an increase of anti-inflammatory IL-10 cytokine

(111.3±50.7 %; **P < 0.005).

Conclusion : High [Na+] concentration downregulate pro-inflammatory human DCs immune

response to LPS and inhibits their migration towards lymph nodes. However, the implication

of these changes in the development of hypertension remains unknown.

Quantitative ultrasound parameters in ex-vivo fibrotic rabbit livers:

Liver stiffness and tissue microstructure estimation

Jean-Michel Escoffre1, Anthony Novell1, Ayache Bouakaz1,

Yanis M. Benane2, Olivier Basset2, Emilie Franceschini3

1Imagerie et Cerveau, Université François-Rabelais, Inserm, Tours, France

2Creatis, Univ.Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, Lyon, France.

3Aix-Marseille Université, Centre National de la Recherche Scientifique, Centrale Marseille, Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique, Marseille, France

Background, Motivation and Objective

Diagnosis and assessment of liver fibrosis grade required for management is mainly based on blood tests and invasive hepatic puncture-biopsy. Quantitative UltraSound (QUS) techniques provide insight into tissue microstructure and are based on the frequency-based analysis of the signals from biological tissues. This study aims to explore the diagnostic performance of QUS technique in high frequency (10-50 MHz) for detection of liver fibrosis. The changes in QUS parameters of healthy and fibrotic livers were investigated and were compared to the changes in liver stiffness using supersonic shear elastography.

Statement of the Contribution/Methods

CCL4 was s.c. injected in the rabbit neck for 6, 9 or 12 weeks to induce different liver fibrosis stages (2-3 rabbits/group). Attenuation and backscatter coefficients (BSCs) were estimated (in the 10-30 MHz [MS250 probe] and 20-40 MHz [MS550S probe] frequency bandwidth, with Vevo2100 scanner) using the spectral difference method and the reference phantom method, respectively. Effective scatterer diameter and effective acoustic concentration were estimated by fitting the measured BSC to an estimated BSC calculated with a spherical Gaussian model. Liver stiffness was measured using shear wave elastography (SSI). Finally, histopathological analysis of livers was performed using picrosirius red staining in order to rank the livers according to the Ishak fibrosis staging scale (A,B).

Results/Discussion

In agreement with the literature, our data showed that the elastic modulus values were on the order of several thousand of Pascals and increased with the fibrosis grade (C). In addition, mean attenuation at 40 MHz was higher in fibrotic livers: 0.85 dB/cm/MHz for grades 2 and 3, 0.89 dB/cm/MHz for grades 4 and 5, when compared to 0.52 dB/cm/MHz for healthy livers. Mean acoustic concentration estimated in the 10-40 frequency bandwidth was lower in fibrotic livers: 51 dB.cm-3 for grades 3, 4 and 5, and 54 dB.cm-3 for grade 2, when compared to 57 dB.cm-3 in healthy livers (D). These data demonstrated that the microstructures of liver tissue changed during the fibrosis process. Altogether, these results showed that both US imaging tools are complementary to investigate the pathophysiological process of liver fibrosis.

Contributions des modifications physico-chimiques de surface de matériaux à base de titane sur l'adhérence de microorganismes : applications aux chambres implantables

Héloise Fabrea, Jean-Philippe Boucharab, Nathalie Clémentb, Nicolas Delormea, Jerome Brunellièrec, Pascal Marmeyc, Hugues Bourgeoisd, Cedrik Lafondd, Sarah Ghamrawib, Jean-François Bardeau a

a Institut des Molécules et Matériaux du Mans, UMR CNRS 6283, Université du Maine, Université Bretagne –

Loire, Avenue Olivier Messiaen, 72085 Le Mans Cedex 9, France

b Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène, EA 3142, UNIV Angers, UNIV Brest, Université Bretagne –

Loire, Angers, France

c Centre de Transfert de Technologie du Mans, 20 Rue Thalès de Milet – 72000 Le Mans, France

d Clinique Victor Hugo, Centre Jean-Bernard, 18 rue Victor Hugo 72000 Le Mans, France

Les systèmes de port d'accès veineux totalement implantables sont actuellement utilisés pour le traitement du cancer. De tels dispositifs médicaux, composés d'un réservoir en matière plastique spéciale ou à base de titane liée à une veine principale à travers un cathéter, permettent de délivrer des médicaments de chimiothérapie et / ou une nutrition parentérale. Bien qu'ils fournissent un accès veineux fiable à long terme et améliorent la qualité de vie des patients, les complications infectieuses restent préoccupantes pour de nombreux établissements de santé. Dans le cadre d'un projet financé par la région des Pays de Loire (projet MAT-INNO), nous nous sommes intéressés aux contributions des modifications physico-chimiques de surface de matériaux à base de titane sur l'adhérence primaire (analyses in vitro en conditions statiques) de la bactérie Staphylococcus aureus et de la levure Candida albicans.

Des échantillons modèles d'oxyde de titane ont été élaborés avec différentes topographies pour étudier leurs impacts sur l'adhérence de microorganismes. Le greffage de monocouches moléculaires a ensuite permis de fonctionnaliser les surfaces pour étudier l'effet de certaines fonctions chimiques sur l'adhérence de protéines, de bactéries et de levures. Enfin des alliages de titane ont été utilisés pour se rapprocher des matériaux actuellement utilisés en milieu hospitalier.

EMI HiPo :

Effets de l'entraînement des muscles inspiratoires(EMI) en pré opératoire de chirurgie cardiaque sur la réponse inflammatoire péri-opératoire avec collection biologique associée

Yoakim FURON1

1Service Kinésithérapie, CHU Angers

Introduction :

Il a été démontré que l'entrainement des muscles inspiratoires (EMI) préopératoire diminue l'incidence des complications respiratoires ainsi que la durée de séjour chez les patients bénéficiant d'une chirurgie cardiaque, mais les mécanismes expliquant le lien entre EMI et la protection contre les complications postopératoires n'est actuellement pas établi.

Cette étude vise à mieux comprendre quels mécanismes sous-tendent l'efficacité de l'entrainement des muscles respiratoires et vise à tester l'hypothèse d'une prévention des complications par le biais d'une amélioration à la réponse de l'organisme au stress d'ischémie reperfusion provoqué par la chirurgie.

Matériel et méthodes :

Il s'agit d'un essai randomisé, contrôlé, en double aveugle. Les participants sont des patients en attente d'une chirurgie de remplacement valvuaire aortique programmmée, ils bénéficient d'un entrainement des muscles inspiratoires durant les trois à six semaines précédant la chirurgie.

Il est prévu d'inclure 30 patients au total; 15 dans un groupe EMI à haute intensité (EMI à 80% de la pression inspiratoire maximale) et 15 dans un groupe EMI placébo (15% de la pression inspiratoire maximale). Le protocole d'entrainement est identique dans les deux groupes et consiste en deux sessions quotidiennes d'EMI à la valeur réglée initialement.

Critères de jugement :

Les variables mesurées sont la réaction inflammatoire péri opératoire par comparaison des valeurs de sTNFR1 entre les deux groupes avant l'entrainement, en préopératoire, puis, à 2h, 24h et 72h postopératoire, la morbidité post opératoire, en évaluant à 30 jours l'incidence des principaux critères de morbidité définis par la society of thoracic surgeons (STS), la fonction respiratoire en pré et post opératoire, évaluée par exploration à 5 reprises de la fonction respiratoire (CV,VEMS et Pimax), le métabolisme mitochondrial diaphragmatique, reflet de l'entrainement musculaire à partir d'une biopsie diaphragmatique (mesure de l'activité de la citrate synthase et la quantité d'ADN mitochondrial), les durées de séjour en soins intensifs et en hospitalisation, le nombre de ré-intubations et la durée de ventilation mécanique.

Etat actuel de l'étude :

Validé par le CPP Ouest 3 (Poitiers) 27 fevrier 2017. Première inclusion courant octobre 2017.

Imagerie bi-modale IRM-CT des gros animaux sur la plate-forme CIRE

Hans Adriaensen 1, François Lecompte 1, Stephanie Krissian 2, Pierre Layrole 3, Yves Tillet 1, Philippe Rosset2
[1] Plate-forme CIRE, service d'imagerie in vivo. UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Centre INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly
[2] CHRU Tours, service orthopédie, Chambray les Tours
[3] INSERM UMR1238, fac de médecine, Nantes

La plateforme CIRE (Chirurgie et Imagerie pour la Recherche et l'Enseignement) est une structure qui regroupe les moyens de chirurgie et d'imagerie in vivo appliqués aux modèles expérimentaux ovins, porcins et caprins sur le centre Inra Val de Loire à Nouzilly.

Cette plate-forme d'envergure internationale permet d'offrir un service unique pour la recherche, la formation et les collaborations industrielles, dans les domaines de la santé humaine, animale et de l'élevage. Elle est composée de trois services :

• Le service de chirurgie développe des expertises en chirurgie notamment en neurochirurgie et chirurgie abdominale chez les mammifères domestiques.

• Le service de prélèvement qui réalise de nombreux prélèvements post-mortem sur les animaux expérimentaux.

• Le service d'imagerie in vivo, équipé pour l'imagerie par une IRM (Imagerie par Résonance Magnétique), d'un CT (Computerized Tomograpgy) scan, d'un amplificateur de Brillance, d'un cell vizio et d'un echographe.

Ici, nous présenterons un programme européen développé sur la plateforme : REBORNE (Regenerating Bone Defects using New biomedical Engineering approaches).

Il s'intéresse à l'ingénierie tissulaire et au développement de biomatériaux susceptibles de stimuler la formation de tissu osseux en association avec des cellules souches mésenchymateuses amplifiées en culture et donc ainsi améliorer la consolidation osseuse après fracture.

A ce jour, la greffe d'os allogénique est l'alternative dans les pertes de substance osseuse majeures en Chirurgie Orthopédique ou Maxillo-faciale. Néanmoins, elle pose de réels problèmes par son accès limité et ses complications infectieuses. De plus, la revascularisation du greffon reste une des difficultés de cette technique.

L'objectif de cette étude préclinique est de mettre au point un modèle de greffon synthétique pédiculé libre qui pourra être transplanté dans un second temps dans une perte de substance osseuse majeure.

Cette étude a été menée au sein de la plateforme CIRE sur brebis avant de passer en phase d'essai clinique chez l'homme. L'amplificateur de brillance (image ci-contre) a permis de réaliser les interventions chirurgicales. Les acquisitions du CT montrent la progression de cette consolidation au cours du temps. L'IRM permet de suivre l'éventuelle migration des cellules souches mésenchymateuse (CSM) marquées pars des nanoparticules ferromagnétiques (SPIOs) au sein du tissu



Induction de sous-populations de cellules Dendritiques humaines Tolérogènes par des fragments d'anticorps

N. Kakwata-Deluce1,3, L. Lamendour 1, Z. Lakhrif2, A. Nicolas1, A. Di Tommaso2, N. Aubrey2, V. Chabot3, F. Déhaut 1,3, F. Velge-Roussel1

1 Université François-Rabelais de Tours, EA4245, Tours, France

2 Université François-Rabelais de Tours, UMR INRA1282 Tours, France

3 EFS Centre Atlantique, Tours, France

Introduction et but de l'étude : L'induction de tolérance immune reste un challenge important dans le domaine de la transplantation d'organe. Les cellules Dendritiques (DCs), piliers de la réponse immunitaire, jouent un rôle crucial aussi bien dans l'induction d'une immunité spécifique que dans celle d'une tolérance immune. Chez l'homme, il existe au moins quatre types de DCs effectrices majeures, les DCs conventionnelles (cDC), les DCs Plasmacytoïdes (pDCs), les DCs inflammatoires (MoDCS) et les cellules de Langerhans (LCs). L'objectif du projet est de préparer différents sous-types de DCs (cDC, moDCs, pDC, moLCs) afin d'analyser leurs capacités à synthétiser de l'IL-10 et à s'orienter vers un profil pro tolérogène grâce au ciblage des PRRs avec des fragments d'anticorps.

Méthodes : La différenciation des moDCs et moLCs est faite à partir de monocytes CD14+ isolés des PBMCs, en présence des cytokines spécifiques. La purification des pDC est faite avec des billes anti-BDCA-2 à partir des PBMC. Pour chacun des types de DCs, un anticorps bispécifique ciblant les PRRs est construit. L'effet des bi-spécifiques sur les DCs est analysé au niveau phénotypique par l'expression des marqueurs de co-stimulation et de maturation (CD83, CD86, HLA-DR, CD25) et la sécrétion des cytokines pro ou anti-inflammatoires (IL-10, TGF-ß, Il-12p70, IFN-□/□).

Résultats : Les moLCs différenciées sont caractérisées par l'expression de la Langerine (CD207) et de CD1a. Les moDCs se caractérisent par l'expression de CD209 et une plus faible expression de CD1a et les pDCs par l'expression conjointe de CD123 et BDCA-2. Les anticorps bispécifiques induisent une forte synthèse d'Il-10 et peu de cytokine pro-inflammatoires (IL-12p70, d'IFN-□ ou IFN-□) mais aussi une modulation des marqueurs de maturation (CD83, CD25, CD86 et HLA-DR). La modulation d'IL10 est différente entre les sous-types de DCs étudiés au niveau basal comme activé.

Conclusion : les différentes populations de DC étudiées pourraient jouer des rôles distincts dans l'induction de tolérance immune, parce qu'elles présentent des capacités variées, entre autres pour la synthèse d'IL-10. L'induction et la caractérisation de Lymphocytes T régulateurs par les DCs qui sont les marqueurs principaux d'une tolérance immune sont en cours d'analyse.

Stimulation Of P2Y11 Receptor Modulates Cardiac Fibroblasts Secretome Towards Immunomodulatory And Protective Roles After Simulated Ischemia/Reperfusion Injury

Claudie Lefort1, Lauriane Benoist1, Thierry Bourguignon1,2, Stéphanie Chadet1, Elodie Miquelestorena-Standley1,4, Marie Piollet1, Audrey Heraud1, Dominique Babuty1,3, Christophe Baron1,5, Fabrice Ivanes1,3, Denis Angoulvant1,3

1EA 4245 Cellules Dendritiques, Immunomodulation et Greffes, Université François Rabelais de Tours, 37032 Tours, France

2Service de Chirurgie Cardiaque, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37044 Tours, France

3Service de Cardiologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37044 Tours, France

4Service d'Anatomo-Pathologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37044 Tours, France

5Service d'Immunologie Clinique, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, 37032 Tours, France

Introduction : Ischemia/Reperfusion (I/R) injuries are involved in many myocardial pathologic processes. Cardiac fibroblasts (CF) respond to this stress by excessive proliferation and secretion of soluble factors, e.g. ATP, leading to purinergic receptors activation. We previously showed that P2Y11 receptor (P2Y11R) played an immunomodulatory role in human dendritic cells (DC). We aimed to investigate the role of human CF P2Y11R stressed by I/R on immune response modulation and cardiac protection.

Methods : Adult ventricular human CF were subjected to simulated I/R (5h at 1%O2 and 24h at 21%O2). CF secretome (CFS) was analyzed by bioluminescence and Mutiplex assays following reperfusion. DCs maturation markers were analyzed by flow cytometry after a 48h incubation with CFS. Human cardiomyocytes (CM) were subjected to 5h/1h I/R and CFS was added at the onset of reperfusion. CM viability was assessed after I/R. We then investigated the role of P2Y11 signaling in a murine in vivo model of allogeneic heterotopic heart transplantation.

Results : I/R induced CF proliferation (+8,7%, $p<0,001$), ATP secretion (+31,7%, $p<0,001$), and IL-6 secretion (+27,1%, $p<0,05$). Stimulation of CF P2Y11R with NF546 reduced I/R-induced proliferation (-10% vs I/R, $p<0,01$), and decreased ATP and IL-6 secretion (respectively -28%, $p<0,05$ and -31%, $p<0,01$ vs I/R). CFS increased CD83, CD25 and CD86 expression in DC (respectively +30%, +26% and +23%), suggesting a switch of DC from immature to mature phenotype. Pre-treatment of CF with NF546 reduced CFS effect (respectively -16%, -8 and -7% for CD83, CD25 and CD86 vs I/R). P2Y11R inhibition with NF340 abolished this effect. CFS protected CM from I/R injury (+28,7%, $p<0,001$). NF340 inhibited CFS protection on CM (-26,8%, $p<0,01$). In vivo data showed a significant increase in cardiac allograft survival following NF546 injection compared to saline (9.6±1.9 vs 8.2±1.4 days, $p=0.04$), suggesting in vivo protection by P2Y11R stimulation.

Conclusion : Our data demonstrated a paracrine link between CF, CM and DC after I/R suggesting a key role of CF in the cellular reponses to reperfusion. P2Y11R seems to modulate myocardial I/R injuries, especially by acting on CF secretome that may explain part of the in vivo observed beneficial effects.

AMELIORATION DES REPONSES VASCULAIRES AUX LESIONS D'ISCHEMIE/REPERFUSION : ROLE DU RECEPTEUR PURINERGIQUE P2Y11

Marie PIOLLET1, Claudie LEFORT1, Lauriane BENOIST1, Stéphanie CHADET1, Fabrice IVANES1,2, Danina MUNTEAN3, Oana DUICU3, Adrian STURZA3, Denis ANGOULVANT1,2

1 EA4245 Cellules Dendritiques immunomodulation et Greffes, UFR de Médecine, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 TOURS

2 Service de Cardiologie, CHU Trousseau, 37044 TOURS CEDEX

3 Laboratoire de physiopathologie, Université Victor Babes, Timisoara , Roumanie

Introduction : La maladie vasculaire du greffon, caractérisée par une hyperplasie intimale, est responsable à 5 ans post transplantation cardiaque d'environ 50% des pertes de greffon. Ce processus est en parti initié par les lésions d'Ischémie/Reperfusion (I/R) qui vont engendrer une inflammation stérile, une apoptose et activation des Cellules Endothéliales (CE) qui va aboutir à une prolifération et migration vers l'intima des Cellules Musculaires Lisses (CML). Il a été montré que le système Rénine-Angiotensine participait à la physiopathologie des lésions d'I/R. De plus, nous avons montré que l'activation du récepteur purinergique P2Y11 (RP2Y11) avait un effet immunomodulateur sur les cellules dendritiques en situation d'I/R. Nous nous intéressons donc ici à l'effet de la modulation du RP2Y11 sur les réponses aux lésions d'I/R des cellules vasculaires.

Matériel et méthodes : Nous avons dans un premier temps utilisé un modèle in vitro d'I/R simulée : des CML d'artères coronaires humaines (HCASMC) et des CE de veine ombilicale humaine (HUVEC) sont soumises à 5h d'hypoxie (1% O2 – PBS) ou non (CTL) puis à 1h (R-1h) ou 24h (R-24h) de réoxygénation (21% O2 – DMEM 1% SVF). La sécrétion d'ATP extracellulaire (ATPe) est évaluée dans le surnageant des HUVEC par bioluminescence, la prolifération des HCASMC par incorporation d'EdU. De plus, la capacité de vascoconstriction et vasorelaxation des vaisseaux (myographe) ainsi que le relargage d'H2O2 (FOX assay) et de NO sont évalués sur des anneaux aortiques de rats dans un modèle de dysfonction vasculaire induite par l'angiotensine II (30min d'incubation). RP2Y11 est modulé grâce à son agoniste, le NF546 (10µM) et son antagoniste, le NF340 (10µM).

Résultats : Nous avons montré que les deux types cellulaires expriment le RP2Y11 en conditions basales et après une séquence d'H/R. L'activation du RP2Y11 augmente le relargage d'ATPe par les HUVEC et semble diminuer la capacité de prolifération, mesurée par l'incorporation d'EdU, des HCASMC en situation d'H/R. Le sécrétome des HUVEC soumises à une H/R semble induire une augmentation de la prolifération des HCASMC. De plus, nous montrons que l'activation du RP2Y11 réduit la dysfonction vasculaire induite par l'angiotensine II par un mécanisme dépendant des CE, et ce au niveau de la capacité de vascoconstriction et vasorelaxation des vaisseaux ainsi qu'un niveau de leur production d'H2O2 et de NO.

Conclusion : Ces résultats suggèrent que l'activation du RP2Y11 tend à protéger les vaisseaux des lésions induites par l'H/R.

INHIBITION DU COMPLEXE ACTIN RELATED PROTEIN ARP2/3 DANS LE MODELE DE FIBROSE PULMONAIRE INDUITE PAR LA BLEOMYCINE CHEZ LA SOURIS

Fanny LISEE1, Christelle PARENT1, Mélia MAGNIEN1, Damien SIZARET1, Nathalie HEUZE-VOURC'H1, Sylvain MARCHAND-ADAM1,2, Laurent PLANTIER1,2

1CEPR/Inserm UMR1100, Tours, 2Service de Pneumologie et Explorations Fonctionnelles Respiratoires, CHRU de Tours, Tours

Introduction : Le cytosquelette d'actine contrôle la différenciation des cellules mésenchymateuses pulmonaires. Le complexe protéique Arp2/3, régulateur de la polymérisation branchée de l'actine, est surexprimé dans la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI). In vitro, sa sous-unité ARPC2 est requise pour l'expression du collagène-1, dont l'accumulation définit la fibrose. Notre objectif était de démontrer que l'inhibition d'Arp2/3 par la petite molécule CK666 prévient le développement de la fibrose pulmonaire induite par la bléomycine chez la souris.

Matériel et méthodes : Des souris C57/BL6 recevaient une instillation trachéale de bléomycine ou d'un volume équivalent de sérum physiologique, puis étaient traitées par voie intra-péritonéale de J7 à J14 par 5 mg/kg/j de CK666 ou son solvant. Le collagène-1 insoluble était quantifié dans le poumon gauche (méthode Sicrol) à J14. L'expression des transcrits associés à la fibrogénèse était mesurée par rt-qPCR. Le pro-collagène-1, l'activité lysyl oxydase et l'activité collagénase étaient quantifiés dans l'homogénat de poumon droit.

Résultats : Le complexe Arp2/3 était surexprimé dans le poumon des souris ayant reçu une instillation de bléomycine. Après l'administration de bléomycine, le contenu pulmonaire gauche en collagène-1 insoluble et en procollagène-1 était diminué chez les souris traitées par le CK666 par rapport aux souris traitées par le solvant seul, alors que l'ARNm Col1a1 et les activités lysyl oxydase et collagénase n'étaient pas modifiées. Le CK666 tendait à réduire le compte des lymphocytes dans le liquide de lavage alvéolaire.

Conclusion : L'inhibition d'Arp2/3 par le CK666 prévient le développement de la fibrose pulmonaire induite par la bléomycine. Le CK666 pourrait bloquer la traduction de l'ARNm Col1a1.

A qui profite le TIPS avant une chirurgie abdominale réglée chez le patient cirrhotique ?

Nicolas Tabchouri1, Louise Barbier1, Benjamin Menahem2, Jean-Marc Perarnau3, Fabrice Muscari4, Jérôme Dumortier5, Louis D'Alteroche3, Jean Lubrano2, Christophe Bureau6, Ephrem Salamé1.

1Chirurgie Digestive, CHU Tours, 2Service de Chirurgie Digestive, CHU Caen, 3Service de Gastroentérologie, CHU Tours, 4Servive de Chirurgie Digestive, CHU Toulouse, 5Service de Gastroentérologie, CHU Lyon, 6Service de Gastroentérologie, CHU Toulouse.

Introduction :

La chirurgie abdominale extra-hépatique chez le patient cirrhotique est grevée d'une morbi-mortalité postopératoire importante. Dans le but de la réduire, certaines équipes ont proposé la mise en place préopératoire d'un shunt portosystémique (TIPS). Le but de cette étude est d'évaluer l'efficacité et l'innocuité de la pose d'un TIPS avant une chirurgie abdominale extra-hépatique réglée chez le patient cirrhotique.

Matériel et méthodes :

Entre 2005 et 2016, tous les patients cirrhotiques ayant eu un TIPS préopératoire dans 4 CHU français ont été inclus rétrospectivement (groupe TIPS, n=66) et comparés à des patients cirrhotiques sans TIPS préalable (groupe Non TIPS, n=68). Une pondération par l'inverse du score de propension a permis d'analyser les suites postopératoires.

Résultats :

Dix patients (15%) ont été définitivement récusés après la mise en place du TIPS. Le TIPS préopératoire entraînait une diminution de l'ascite abdominale postopératoire (HR=0.33, i.c. 95% 0.14 à 0.78) sans que cela ne soit associé à une amélioration de la morbi-mortalité postopératoire. Les patients ayant un gradient de pression hépatique ≤13 mmHg et un score MELDNa ≤15 semblaient bénéficier le plus de la mise en place d'un TIPS préopératoire en termes de complications postopératoires graves (HR=0.21, 0.05 à 1.02 et HR=0.16, 0.03 à 1.05, respectivement). Les patients TIPS dans les sous-groupes chirurgie colorectale et gradient de pression hépatique >13 mmHg avaient plus souvent recours à la transfusion peropératoire (HR=15.03, 1.71 à 132.17 and HR=4.10, 1.16 à 14.47, respectivement).

Conclusion :

Cette étude n'a pas réussi à démontrer l'efficacité et l'innocuité de la mise en place d'un TIPS avant chirurgie abdominale réglée. Certains patients sélectionnés pourraient en bénéficier (gradient de pression hépatique ≤13 mmHg et MELDNa ≤15) mais une évaluation prospective est nécessaire pour le confirmer.

Promising silicones modified with cationic biocides for the development of antimicrobial medical devices

Sarah Ghamrawia, Jean-Philippe Boucharaa,b, Oksana Tarasyukc, Sergiy Rogalskyc, Lyudmila Lyoshinad, Olga Bulkod, Jean-François Bardeaue

a Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène, EA 3142, UNIV Angers, UNIV Brest, Université Bretagne –

Loire, Angers, France

b Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire, Angers, France

c Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, National Academy of Science of Ukraine, 50 Kharkivske Schose, Kyiv 02160, Ukraine

d Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of National Academy of Science of Ukraine, 48 Academika

Zabolotnoho Str., Kyiv 03143, Ukraine

e Institut des Molécules et Matériaux du Mans, UMR CNRS 6283, Université du Maine, Université Bretagne –

Loire, Avenue Olivier Messiaen, 72085 Le Mans Cedex 9, France

Commercial polydimethylsiloxane films containing cationic polyhexamethylene guanidine dodecylbenzenesulfonate (PHMG-DBS), or ionic liquids 1-octyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate (OMIM-BF4) or 1-dodecyl-3-methylimidazoliumtetrafluoroborate (DMIM-BF4) as antimicrobial additives have been prepared by cold curing and tested against the major relevant bacterial and yeast species in health care-associated infections (HCAI). Our study conducted according to the international standard ISO 22196 revealed that silicones containing 2% or 5% DMIM-BF4 or 5% PHMG-DBS presented the highest antimicrobial activity, leading to a logarithmic growth reduction of 3.03 to 6.46 and 3.65 to 4.85 depending on the bacterial or fungal species. After 33 days, the release ratio of cationic biocide from silicone films containing 5% of DMIM-BF4 was found to be 5.6% in pure water and 1.9% in physiological saline solution, respectively. No leaching of PHMG-DBS polymeric biocide was detected under the same conditions. These results demonstrate unambiguously that silicones containing 2% DMIM-BF4 or 5% PHMG-DBS present high antimicrobial activity, aswell as high leaching resistance and therefore may be good candidates for the development of safer medical devices.

This study was funded by Société d'Accélération du Transfert de Technologie (SATT) Ouest Valorisation as part of the “NOSILIBIO DV 1158” project.

DERMATOLOGIE
RHUMATOLOGIE

REALISATIONS INSUFFISANTES D'OSTEODENSITOMETRIES APRES UNE FRACTURE DE L'AVANT-BRAS CHEZ LES FEMMES DE 50 ANS ET PLUS: RESULTATS ISSUS DU SNIIRAM UNE BASE DE DONNEES DE L'ASSURANCE MALADIE.

Elsa CATTELAIN-LOPEZ1, Delphine CHU MIOW LIN2, André HAPPE3, Philippe GOUPILLE1, François JACQUOT4, Philippe TAUVERON4, Emmanuel OGER5, Denis MULLEMAN1

1Service de rhumatologie, CHRU de Tours, Tours, Université François-Rabelais de Tours, Tours;

2Service de rhumatologie, CHRU de Tours, Tours;

3Upres-ea 7449 reperes, CHRU de Brest, Brest;

4Cabinet de rhumatologie, Centre de l'ostéoporose, Tours;

5Centre régional de pharmacovigilance, pharmaco-épidémiologie et information sur le médicament, Upres-ea 7449 reperes, C HRU de Rennes, Rennes

Introduction :

Les fractures du poignet font partie des fractures ostéoporotiques les plus fréquentes. Malgré l'existence de traitements anti-ostéoporotiques efficaces, l'ostéoporose est sous diagnostiquée et insuffisamment traitée. L'objectif principal de notre étude était d'évaluer le nombre de densités minérales osseuses (DMO) réalisées dans l'année après une fracture du poignet chez les femmes de plus de 50 ans en région Centre.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé pour ce faire la base de données médico-administratives : le système national informationnel inter-régimes de l'assurance maladie (SNIIRAM) qui couvre la quasi-totalité de la population française. Nous avons identifié les fractures du poignet chez les femmes de 50 ans et plus en région Centre entre le 01/01/2011 et le 31/12/2012 et les remboursements de DMO dans l'année ayant suivi la fracture. Nous avons évalué remboursement des traitements anti-ostéoporotiques après fracture et nous avons analysé les facteurs pouvant influencer la réalisation d'une DMO : âge des patientes, traitements favorisant l'ostéoporose avant la fracture (corticoïdes, anti-aromatases), accessibilité aux ostéodensitomètres en fonction du département de résidence des patientes et affection longue durée. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SAS.

Résultats :

4120 femmes ont eu une fracture du poignet en 2011 et 2012 en région Centre et 546 (13,3%) d'entre elles ont eu une DMO dans un délai médian de 4 mois après la fracture. Parmi ces 4120 femmes, 399 (9,7%) ont débuté un traitement antiostéoporotique dans l'année suivant la fracture. Parmi les patientes ayant eu une DMO, 168/546 (30,8%) ont reçu un traitement anti-ostéoporotique après la fracture contre 231/3574 (6,5%) des patientes n'ayant pas eu de DMO ($p<0,001$). L'âge était significativement inférieur dans le groupe des patientes ayant eu une DMO : 67,4 vs 74,6 ans, OR= 0,94 (IC 95% 0,93-0,94). Les femmes ayant eu un remboursement d'anti-aromatases avaient significativement plus de DMO après fracture du poignet que les patientes qui n'en avaient pas eu, OR=3,2 (IC 95 % 2,0-5,3). En revanche, il n'y avait pas d'association entre la réalisation d'une DMO et la prise de corticoïdes avant la fracture, p=0.439, OR=0.9 (IC 95% 0,6-1,2).

Conclusion :

Dans cette large population moins de 15% des femmes de 50 ans et plus ont eu une DMO et moins de 10% ont reçu un traitement anti-osteoporotique dans l'année qui a suivi une fracture du poignet.

Intérêt des régimes dans l'urticaire chronique spontanée : revue systématique de la littérature

Hélène CORNILLIER1,2; Bruno GIRAUDEAU1,3,4; Florence HACARD5; Mahtab

SAMIMI1,2; Stéphane MUNCK6; Annabel MARUANI1,2,4 ; Centre de Preuves en

Dermatologie.

1Université François Rabelais Tours, 37000 Tours, France

2CHRU Tours, Dermatologie, 37044 Tours Cedex 9, France

3CHRU Tours, Centre d'Investigation clinique - INSERM 1415, 37044 Tours Cedex 9,

France

4Université de TOURS et NANTES, SPHERE - INSERM 1246

5Centre hospitalier universitaire de Lyon, Dermatologie, 69230 Lyon, France

6Université Nice Sophia Antipolis, Département d'Enseignement et de Recherche de

Médecine Générale, 06107 NICE, France

Introduction :

L'urticaire chronique spontanée (UCS) est une maladie cutanéo-muqueuse immuno-inflammatoire, qui résulte de l'activation des mastocytes provoquant une décharge histaminique. L'alimentation peut être responsable d'urticaire, en apportant un excès d'histamine ou en stimulant l'histamino-libération des mastocytes. Le traitement de l'UCS repose, en première intention, sur les anti-histaminiques H1 ; en cas d'UCS réfractaire aux anti-H1, des stratégies médicamenteuses comportant anti-H2, montelukast, immunosupresseurs ou omalizumab sont proposées. La place des régimes alimentaires est mal codifiée. L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'intérêt des régimes d'éviction alimentaire dans le traitement de l'UCS en réalisant une revue systématique de la littérature.

Matériel et méthodes :

La recherche documentaire a été faite sur MEDLINE, EMBASE et CENTRAL. Était éligible tout article original rapportant l'efficacité de régimes d'éviction alimentaire chez des patients atteints d'UCS, enfants ou adultes. Les articles concernant l'urticaire aiguë, l'urticaire physique et les vascularites urticariennes ont été exclus. La sélection des articles et l'extraction des données a été faite en doublon indépendant.

Résultats :

Sur les 278 articles trouvés, 20 ont été inclus (7 cas cliniques et 13 études prospectives), impliquant au total 1734 patients ; 5 articles rapportaient des régimes d'exclusion alimentaire personnalisée, adaptés aux sensibilisations du patient, et 15 articles décrivaient 4 types de régimes d'éviction systématique : régime pauvre en pseudo-allergènes (n=1555 patients), régime pauvre en histamine (n=223), et régime sans poisson ou crustacé (n=47), régime sans gluten chez 3 patients atteints de maladie coeliaque, Ces régimes induisaient respectivement 4,8%, 11,7%, 10,6% et 100% de rémission complète. Une rémission complète était obtenue dans 74,6% des cas pour les 63 patients ayant suivi un régime d'éviction personnalisé.

Conclusion :

Il existe un faible niveau de preuve quant à la réalisation de tests allergologiques ou régimes systématiques dans l'UCS.

Epidémiologie et traitements de l'urticaire chronique spontanée chez l'enfant : revue systématique

Hélène CORNILLIER1, MD; Bruno GIRAUDEAU2, PhD; Stéphane MUNCK3, MD; Florence HACARD4, MD; Annie-Pierre JONVILLE-BERA2,5, MD; Gwenaëlle d'ACREMONT6, MD; Bach-Nga PHAM7, MD, PhD; Annabel MARUANI1,2, MD, PhD
1Université François Rabelais Tours, CHRU Tours, Dermatologie, 37044 Tours Cedex 9, France 2Université de Tours and Nantes, SPHERE - INSERM 1246
3Université Nice Sophia Antipolis, Département d'enseignement et de recherché en médecine générale, 06107 Nice, France 4CHU de Lyon, Allergologie et Immunologie, 69230 Lyon, France
5CHRU Tours, Département de pharmacologie, 37044 Tours Cedex 9, France
6Pédiatrie, 75009 Paris, France 7CHU de Reims, Laboratoire d'Immunologie, 51092 Reims, France

Introduction :
L'urticaire chronique spontanée (UCS) est rare chez l'enfant. Des recommandations existent pour la prise en charge de l'UCS chez l'adulte, et des essais randomisés contrôlés réalisés chez l'adulte ont inclus des adolescents âgés de 12 à 18 ans. Toutefois, chez l'enfant de moins de 12 ans, il y a une carence en données épidémiologiques et thérapeutiques.
L'objectif de ce travail a été d'évaluer les comorbidités chez les enfants de moins de 12 ans atteints d'UCS, ainsi que l'efficacité et la sécurité des traitements, en réalisant une revue systématique de la littérature.
Matériel et méthodes :
La recherche documentaire a été faite sur MEDLINE, EMBASE, CENTRAL et LILACS, et a inclus des articles publiés entre 2005 et novembre 2016. Était éligible tout article original rapportant un traitement ou des données épidémiologiques dans l'UCS chez les enfants de moins de 12 ans. La sélection des articles et l'extraction des données a été faite en doublon indépendant.
Résultats :
Notre revue systématique incluait 9 publications sur les données épidémiologiques, incluant 633 enfants. Six comorbidités cliniques ou anomalies biologiques associées à l'UCS ont été trouvées : 28,1% des enfants avaient un antécédent personnel d'atopie ; 36,8% avaient un test au sérum autologue positif ; 6,4% avait des anomalies biologiques thyroïdiennes ; la séroprévalence d'Helicobacter pylori était de 21,1% ; un taux faible de 25 OH-Vitamine D était trouvé dans 69,1% des cas. Aucune de ces études ne présentait de groupe contrôle. Enfin, une étude recherchant des troubles psychiatriques variés chez 54 enfants au total incluait un groupe contrôle, trouvés chez 70,4% des enfants atteints d'UCS versus 25,9% des témoins. Notre revue incluait 10 études concernant les traitements, chez 322 enfants âgés de moins de 12 ans atteints d'UCS, décrivant 5 classes thérapeutiques, principalement les antihistaminiques H1 (n=230). Un seul essai contrôlé randomisé était trouvé, et comparait la rupatadine monodose à la desloratadine monodose et au placebo ; 46 enfants avaient pris des anti-H1 à doses multiples. La ciclosporine était efficace et aucun effet secondaire n'était rapporté sur 18 enfants au total. L'omalizumab, le montelukast et la cefuroxime étaient rapportés dans des cas anecdotiques (respectivement 5, 1 et 1 patients).
Conclusion :
Cette revue a pour limite principale de n'avoir inclus des publications que sur les 10 dernières années. Elle permet de conclure que les antihistaminiques H1 sont efficaces chez les enfants de moins de 12 ans atteints d'UCS, avec des données de sécurité rassurantes à monodose. Les antihistaminiques à doses multiples et la ciclosporine semblent efficaces et bien tolérés, mais le niveau de preuve est faible. Les autres traitements ont été anecdotiquement rapportés.

Deux approches complémentaires pour le ciblage des secteurs d'activité pour la prévention du syndrome du canal carpien, à partir d'une analyse médico-économique

Chloé Gervès-Pinquié 1, Natacha Fouquet 1,2, Yves Roquelaure 2,3

1 INSERM, U1085, IRSET, Equipe ESTER, Université d'Angers, Angers, France

2 Santé publique France, Saint-Maurice, France

3 CHU Angers, Angers, France

Introduction : En France, le syndrome du canal carpien (SCC) représente 31 % des troubles musculo-squelettiques (TMS) indemnisés en maladies professionnelles (MP). Les frais associés aux affections périarticulaires en 2016 correspondent à 793 M€, soit 36% des coûts imputés au titre des MP. Afin d'identifier les priorités d'action pour la prévention du SCC, cette étude s'intéresse à l'impact des secteurs d'activité sur les sinistres associés au SCC. Dans un second temps, leur impact sur les différents coûts associés au SCC a été analysé.

Matériel et méthodes : Les TMS reconnus en MP entre 2008 et 2016, ainsi que les coûts associés, ont été identifiés à partir d'une base de données fournie par la Caisse d'Assurance Retraite et de la SAnté au Travail des Pays de la Loire. Des régressions logistiques ont été implémentées afin d'analyser l'influence des secteurs d'activité sur la présence d'un SCC. Dans un second temps, des régressions quantiles ont été utilisées afin d'analyser l'association des secteurs avec le montant des frais médicaux et celui des indemnités journalières liés à la prise en charge du SCC.

Résultats : Un total de 14 343 SCC a été reconnu en MP entre 2008 et 2016 dans la région, dont 54,4 % de femmes et avec un âge médian de 47 ans. Les secteurs d'activité identifiés comme à risque de SCC ($p<0,001$) sont au nombre de 9 : l'industrie du cuir et de la chaussure ; le commerce de détail ; l'hébergement ; la restauration ; l'assurance ; les activités liées à l'emploi ; les services relatifs aux bâtiments et aménagements paysagers; l'administration publique et défense et l'action sociale sans hébergement. Parmi les sinistrés, 5 secteurs présentent un coût de prise en charge élevé. La moyenne des coûts médicaux (639,2€ ± 1073,5€) et/ou des frais d'indemnités journalières (4601,9€ ± 6271,4€) est significativement plus élevée dans les secteurs de l'industrie alimentaire et de l'industrie du papier et du carton et cette différence positive avec les autres secteurs d'activité s'accroît d'autant plus que les frais augmentent ($p<0,05$).

Conclusion : Ces résultats montrent une différence entre les secteurs à risque de SCC et les secteurs présentant un coût de prise en charge élevé. Deux stratégies préventives distinctes pourraient donc s'avérer nécessaires pour réduire le coût social associé au SCC. Une stratégie de prévention primaire ciblant les secteurs à risque afin de réduire le nombre de cas pourrait s'accompagner d'une stratégie de prévention secondaire visant quant à elle les secteurs présentant un coût de prise en charge élevé.

L'OBTENTION D'UN TISSU OSSEUX RESISTANT ET DE BONNE QUALIT2 NECESSITE UNE SECRETION EQUILIBREE ENTRE LE GIP ET LA XENINE

Benoît GOBRON1,3, Béatrice BOUVARD1,3, Erick LEGRAND1,3, Daniel CHAPPARD2,3, Guillaume MABILLEAU2,3

1 Service rhumatologie, CHU Angers

2 UF pathologie osseuse, CHU Angers

3 GEROM UPRES EA 4658, Université d'Angers

Introduction :

Les ostéoporoses sont des ostéopathies fragilisantes qui surviennent en cas d'altération de la quantité et/ou de la qualité osseuse par modification du remodelage osseux. Le remodelage osseux est sous la dépendance de plusieurs facteurs tels que des facteurs mécaniques, facteurs locaux et facteurs hormonaux. Les incrétines sont des hormones intestinales qui sont produites par des cellules endocrines enchâssées dans l'épithélium intestinal. Ces hormones ont pour principale fonction de potentialiser la sécrétion d'insuline en présence de glucose suite à un repas. Des résultats récents semblent suggérer que le remodelage osseux serait également sous la dépendance de facteurs produits peu de temps après la prise d'un repas. L'une des hypothèses est que les hormones intestinales pourraient être impliquées dans ce processus.

Matériel et méthodes :

Pour tester cette hypothèse, nous avons étudié les effets osseux d'invalidation des cellules entéro-endocrine K (souris GIP-DT), produisant le GIP et la xénine. Nous avons également validé cette approche en regardant le phénotype osseux de souris invalidées pour le GIP (souris GIP-GFP-KI) ou l'administration exogène de GIP et de xénine. Le phénotype osseux a été comparés aux animaux wildtype ou ayant reçu une solution saline. Le test de Mann-Whitney a été utilisé pour mesurer la significativité des résultats ($p<0.05$).

Résultats :

Les souris GIP-DT ne présentent pas d'altération de qualité osseuse que ce soit à l'échelle tissulaire ou moléculaire. A l'échelle tissulaire, les souris GIP-GFP-Ki présentent une diminution significative de la masse osseuse trabéculaire (-28%). L'administration exogène de GIP conduit à une augmentation significative de 26% de la masse trabéculaire alors que l'administration de la xénine conduit à une diminution significative de 13% de ce paramètre. A l'échelle moléculaire, les souris GIP-GFP-KI montre une diminution significative de la maturité du collagène (-25%). L'administration de GIP ou de xénine entraine respectivement une augmentation (12%) et une diminution (-38%) significative de ce paramètre, respectivement. Aucune altération de la phase minérale de la matrice osseuse n'a été retrouvée dans ces modèles animaux.

Conclusion :

En conclusion, ces résultats suggèrent un rôle important des produits de sécrétion des cellules entéro-endocrines K sur la physiologie osseuse. De plus, un rôle opposé du GIP et de la xénine sur la physiologie osseuse semble apparaitre dans cette étude. Ces résultats encourageants sont à confirmer chez l'homme afin d'étudier le rôle des hormones intestinales dans les ostéopathies fragilisantes.

TITRE DE L'ABSTRACT

Quantification of the circulating vesicle-bound pools of adipocytokines reveals that MFG-E8 and MIF are conveyed by plasmatic EVs

Jérémy Amosse1, Maëva Durcin1*, Marine Malloci1, Luisa Vergori1, Séverine Dubois1,2,*

Gilles Simard1,2, Olivier Hue3, M. Carmen Martinez1, Ramaroson Andriantsitohaina1 and Soazig Le Lay1

**Equally contributed*

1INSERM U1063, Oxidative stress and metabolic pathologies, Angers University, France

2Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers, France

3Adaptation to Tropical Climate and Exercise Laboratory, EA3596, University of the French West Indies, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France

Introduction :

Obesity-associated metabolic diseases are linked to dysregulated production of many factors secreted by adipose tissue, known as adipocytokines. Accumulating evidences suggest a role for circulating EVs, significantly increased in obesity, in obesity-associated metabolic dysfunctions. Since EVs may convey hormones and metabolites, we aimed to evaluate their contribution in the secretion of adipocytokines.

Matériel et méthodes :

EV subsets, including microvesicles (MVs) and exosomes (EXOs), were isolated from plasma samples collected from patients suffering of metabolic syndrome (MS) and quantified by NTA and flow cytometry. Patients were classified according to their body mass index (BMI): Control (BMI<27), Overweight (27<BMI<30) and Obese (BMI>30). 22 adipocytokines circulating concentrations were successively measured on total, MV- and EV-depleted plasma samples by multiplex immunoassays.

Résultats :

We first showed that circulating MV and EXO populations were significantly increased with BMI supporting a role of these vesicles as metabolic relays in the context of obesity. Multiplex analysis of plasmatic adipocytokines confirms dysregulated production of these factors with increased BMI. Sequential depletion of MVs and EXOs from all plasma patients did not modify adipocytokine circulating levels, at the exception of MFG-E8 (Milk Fat Globule-EGF-Factor VIII) and MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor), which were decreased. Of interest, 37.3% of circulating MFG-E8 and 57.3% of circulating MIF were associated to EVs. Notably, MFGE-E8 preferentially associated to EXOs (24%) whereas MVs carried more than half of circulating MIF (50.6%). Nonetheless, EV-associated proportions of these two adipokines were unchanged with obesity suggesting that MFG-E8 and MIF constitutively used EVs as secretory pathways. Sorting of MIF via MVs was a cellular conserved process as we demonstrated MIF association with plasma MVs or MVs derived from adipocytes or lymphocytes.

Conclusion :

Since MIF and MFG-E8 adipocypocytokines have been identified as mediators of metabolic dysfunctions associated with obesity, this study emphasizes the importance to consider EV secretory pathways in the metabolic actions of adipocytokines.

This study was approved by Angers University hospital ethical committee (NCT: 00997165) and received written consent from patients. This work was funded by a research national grant (ANR MilkChEST n°ANR-12-BSV6-0013-04), by GIS APIS-GENE and the Francophone Society of Diabetes.

IL-26 CONFERS STING-DEPENDENT PROINFLAMMATORY PROPERTIES TO EXTRACELLULAR DNA

Caroline POLI1, 2, 3, Jean François AUGUSTO2, 3, 4, Jonathan DAUVE5, Laurence PREISSER2, Pascale PIGNON2, Simon BLANCHARD2, Helmut FICKENSHER6, Pascale JEANNIN1, 2, 3, Yves DELNESTE2

1laboratoire d'Immunologie, CHU Angers, Angers

2Equipe 7 Immunité Innée et Immunothérapie, INSERM U1232, Angers

3UFR Santé, Université Angers, Angers

4Service de néphrologie dialyse transplantation, CHU Angers, Angers

5Institut de Cancérologie de l'ouest, Angers

6Institute for Infection Medicine, Christian Albrecht, University, Kiel, Germany

Introduction : In physiological conditions, self-DNA released by dying cells is not detected by intracellular DNA sensors. In chronic inflammatory disorders, unabated inflammation has been associated with a break in innate immune tolerance to self-DNA (1, 2). However, to gain access to intracellular DNA sensors, extracellular DNA has to complex with DNA-binding molecules (3). IL-26 is a member of the IL-10 cytokine family, overexpressed in numerous chronic inflammatory diseases, which biological activity remains unclear. Initially, IL-26 was reported to induce IL-8 and/or IL-10 by some human epithelial cell lines through a receptor composed of IL-20R1 and IL-10R2. IL-26 also triggers pro-inflammatory cytokine production by human myeloid cells and NK cells, in the absence of IL-20R1, suggesting that IL-26 is not a classical cytokine (4,5).

In this study, we investigated whether IL-26 may render monocytes and neutrophils, which are major contributors to chronic inflammation, able to sense extracellular self-DNA.

Results : We demonstrate here that IL-26 binds to genomic DNA, mitochondrial DNA and NETS and shuttles them in the cytosol of human myeloid cells. As a consequence, IL-26 allows extracellular DNA to trigger proinflammatory cytokine secretion by monocytes, in a STING- and inflammasome-dependent manner. Supporting these biological properties, IL-10-based modelling predicts two DNA-binding domains, two amphipathic helices, and an in-plane membrane anchor in IL-26, structural features of cationic amphipathic cell-penetrating peptides. In line with these properties, patients with active autoantibody-associated vasculitis (AAV), a chronic relapsing autoimmune inflammatory disease associated with extensive cell death, exhibit high levels of both circulating IL-26 and IL-26-DNA complexes. Moreover, in patients with crescentic glomerulonephritis, IL-26 is expressed by renal arterial smooth muscle cells and deposits in necrotizing lesions. Accordingly, human primary smooth cells secrete IL-26 in response to pro-inflammatory cytokines.

Conclusion : In conclusion, IL-26 is a unique cationic protein more similar to a soluble pattern recognition receptor than to conventional cytokines. IL-26 expressed in inflammatory lesions confers pro-inflammatory properties to DNA released by dying cells, setting up a positive amplification loop between extensive cell death and unabated inflammation.

Unbalanced rather than balanced randomized controlled trials are more often positive in favor of the new treatment: an exposed and non-exposed study

Clarisse Dibao-Dina family physician1,2,3,4, Agnès Caille assistant professor of biostatistics 1,2,3,5, Bruno Giraudeau professor of biostatistics1,2,3,5.

1 INSERM UMR 1246, Tours, France

2 INSERM CIC 1415, Tours, France

3 Université François-Rabelais de Tours, PRES Centre-Val de Loire Université, Tours, France

4 Université François-Rabelais de Tours, PRES Centre-Val de Loire Université, Département Universitaire de Médecine Générale, Tours, France

5 CHRU de Tours, Tours, France

Introduction:

Clinical equipoise (i.e., uncertainty within the expert clinical community) is considered as a prerequisite for a randomized controlled trial (RCT). Indeed, a RCT must start with an “honest null hypothesis”, which indicates controversy in the clinical expert community about the superiority of one of the 2 compared interventions. At the planning stage, randomization may reflect the clinical uncertainty, namely, by the randomization ratio. A 1:1 ratio appears to best fit this state of uncertainty. We aimed to assess whether the clinical equipoise principle is satisfied in unbalanced RCTs (i.e., with an unequal probability of subjects being allocated to one group than another).

Study Design and Setting:

Observational and comparative study between unbalanced and balanced RCTs. We searched the “core clinical journals” of MEDLINE to identify reports of two-parallel–group superiority unbalanced RCTs published between January 2009 and December 2010. For each unbalanced RCT, we identified a maximum of 4 reports (to maximize power) of matched balanced RCTs dealing with the same population. Our primary outcome was the proportion of positive RCTs (i.e., with statistically significant results for the primary outcome [$P<0.05$], showing greater efficacy with the new treatment than the control treatment).

Results:

We selected 46 reports of unbalanced RCTs and 164 of balanced RCTs; 65.2% unbalanced RCTs and 43.9% of balanced RCTs were positive [odds ratio 2.38; 95% confidence interval: 1.23, 4.63]. As compared with balanced RCTs, unbalanced RCTs were more often industry-funded and their control treatments were more often inactive. Adjusting for these latter variables did not modify the results.

Conclusion: This result questions the respect of clinical equipoise in unbalanced RCTs.

Healthcare use before and after critical illness: a population-based study among septic shock and acute respiratory distress syndrome survivors

Youenn Jouan(1); Noémie Teixera(2); Claire Hassen-Khodja,(3); Antoine Guillon(1); Christophe Gaborit(3); Leslie Grammatico-Guillon(3); Stephan Ehrmann(1)

(1) Médecin Intensive & Réanimation, CHRU Hôpitaux de Tours, (2) Service des urgences, CHRU Hôpitaux de Tours, (3) Service d'information médicale, épidémiologie et économie de la santé, CHRU Hôpitaux de Tours.

Introduction :
Intensive care unit (ICU) admission is known to lead, among survivors, to numerous and persistent disabilities and impairments after discharge, forming the "post intensive care syndrome" (PICS). Consequences of PICS in term of healthcare use is less studied. Recent data tend to demonstrate that ICU survivors have increased healthcare use after ICU. However, little is known about healthcare use for the most severely ill patients, which are supposed to be at higher risk of PICS. Moreover, in how extent critical illness per se is responsible for prolonged increased healthcare use, compared to pre-existing comorbidities and pre-ICU healthcare trajectories remains unknown.
Patients & Methods:
We conducted a retrospective multicenter study using comprehensive administrative hospital discharge databases of the Centre Val de Loire region, France (2.5 millions of inhabitants). Based on an ICD-10 algorithm, we included all adult patients admitted in an ICU for septic shock or acute respiratory distress syndrome (ARDS) from 2010 to 2012, and invasively ventilated at least 5 days. Performance of the selection algorithm was validated through review of a subsample of medical charts. Comorbidities were also extracted from ICD-10 coding. Healthcare use (hospitalization and ambulatory care) and comorbidities were analyzed two years before (pre-ICU period) and two years after ICU (post-ICU period). We also performed a cluster analysis to explore pre-ICU healthcare trajectories, using K-means clustering method based on quarterly healthcare use.
Results:
1612 patients were selected, of which 730 (45%) died during the hospital stay. Thus, 882 patients were included in the study. Mean ±SD age was 61±15 years, mean SAPS2 was 49±17 and median ventilation duration was 11 days (Q1=8; Q3=20).
During the post-ICU period, the two-year mortality rate was 15%, and we found a global and significant increase in healthcare use, compared to the pre-ICU period. Pre/post-ICU periods within-individual analysis revealed a significant increase in the mean numbers of hospitalizations per patient (1,7 vs 2,4; $p<0,0005$), as well as a significant increase in the mean total length of stay for these hospitalizations (14 vs 22 days, $p<0,0005$). Similarly, proportions of patients with chronic cardiac, renal and respiratory diseases were significantly increased in the post-ICU period.

Time-trend analysis of healthcare use revealed, during the pre-ICU period, a global increase in healthcare use 6 months before ICU admission. During post-ICU period, the highest healthcare use level was observed during the first six months.

Cluster analysis of healthcare use during the pre-ICU period lead to the constitution of 5 clusters. The main cluster (n=479) was characterized by a stable and moderate healthcare use (1-2% of the days spent at hospital by quarter) during the whole pre-ICU period. Interestingly, this cluster had an increased healthcare use after ICU, which was persistent and stable at two-year (4-5% of the days spent at the hospital by quarter), compared to the pre-ICU period. By contrast, the four other clusters had higher level of healthcare use in the pre-ICU period and a higher two-year mortality.

Discussion & Conclusion:
Survivors of critical illness had increased healthcare use after ICU compared to pre-ICU. However, pre-ICU healthcare trajectories analysis revealed different phenotypes. Notably, a sub-group of patients with moderate healthcare use and stable trajectory switched to a more important healthcare use that persisted over the two years post-ICU, suggesting a pivotal role of acute critical illness in healthcare trajectories. These results add to the concept of PICS epidemiologic arguments and might help researchers to further determine targets and goals for future interventions.

RECHERCHE/TUTORAT DE SCIENCES HUMAINES DANS LE CURSUS MEDICAL

MAISONS VALENTIN 1 CANTDIOT AGATHE 1

1-Faculté de Médecine, Tours

La faculté de Médecine de Tours est l'une des seules en France à proposer un cursus de recherche en Sciences-Humaines structuré et adapté aux aspirants-médecins. En effet, mener un double cursus est particulièrement difficile, le faciliter a été une des priorités pour les enseignants-chercheurs de l'Université François-Rabelais.

De cette émergence de profils spéciaux scientifiques avec une valence Science-Humaines est né « Génération Med-SHS ». Ce collectif a deux grandes missions principales :

- Générer un tutorat afin que le compagnonnage s'opère entre les étudiants avancés dans le cursus et ceux qui souhaitent se lancer dans l'aventure.
- Diffuser les sciences humaines en médecine à travers les 5 disciplines travaillées à la faculté : Histoire de la médecine, Philosophie, Ethique, Psychologie, Santé Publique.

Avec ce poster nous présentons à la fois le parcours des étudiants en double cursus, le travail effectué par le collectif Génération Med-SHS et deux exemples demémoires de Master.

Ces mémoires sont particulièrement importants car le thème de recherche est choisi en toute liberté par l'étudiant. Celui-ci mène ses recherches, aidé par son directeur de mémoire et les chercheurs de son unité. Ces derniers ont parfois un but de réflexion pure, d'introspection, de développement personnel ou collectif... Dans d'autres cas des mises en applications sont envisagées. Les sciences-humaines en médecine ont de beaux jours devant eux.

Mots clés : Sciences Humaines, Histoire de la médecine, Philosophie, Ethique, Psychologie, Santé Publique, Littérature, Tutorat, Double Cursus, Master, Faculté de Médecine de Tours, Université François Rabelais, Génération Med-SHS.

EPIDEMIOLOGIE
SCIENCES HUMAINES

PAPRICA (Problematic use and Addiction in Primary Care) : exploration des trajectoires addictives de patients suivis en addictologie et leur repérage en soins primaires par un outil de médecine narrative.

Maxime PAUTRAT – médecin généraliste, CCU MG TOURS, Paul Brunault – PH Psychiatre Addictologue, PH Régional 37 « Jeu »

Contexte : Les Conduites et Consommations Problématiques et les Poly-dépendances (CCPP) avec ou sans substances induisent une morbidité, une mortalité et des dommages sociaux considérables. Les professionnels de santé en soins primaires ont une place privilégiée pour réaliser le repérage des CCPP. De nombreux test de repérage ont été validés en soins primaires dont ASSIST en 2008, recommandé par l'OMS. L'HAS a diffusé une aide méthodologique début 2015. Malgré cela, il persiste de nombreux freins au repérage des CCPP en soins primaires. Dans un cas sur deux, les troubles liés à l'alcool et au cannabis ne sont pas repérés.

Objectif : Rechercher les freins au repérage des addictions en soins primaires par l'exploration des trajectoires addictives.

Méthode : Etude qualitative de récit de vie recueilli par entretien. Utilisation d'un guide d'entretien de médecine narrative validé en soins primaires : MINI (McGill Illness Narrative Interview). Population cible : patients au parcours de vie emblématiques des personnes suivis en addictologie. Analyse après retranscription intégrale, codage sur NVivo11©, et triangulation des données. Autorisation CPP accordée.

Résultats préliminaires : Un premier entretien auprès d'une patiente de 54 ans a été mené. Sa trajectoire addictive commence par l'usage de benzodiazépines à partir de 17ans, puis d'héroïne à 24 ans. L'analyse de son récit permet de préciser son modèle explicatif grâce aux raisonnements narratif, prototypique et causal : détermination des facteurs de vulnérabilité aux addictions (solitude, difficultés socio-professionnelles, carence affective), éléments conceptuels expliquent le retard au repérage : deal médical, déni médico-social, limitation d'accès aux soins. Le repérage à 33 ans de ses addictions a nécessité l'intervention des professionnels de santé, de la famille et de ses pairs à l'occasion d'un facteur aggravant, une grossesse.

Conclusions préliminaires : Ce premier entretien a permis l'exploration d'une trajectoire addictive emblématique. En utilisation un outil original de médecine narrative, nous avons explicité des représentations de type contiguïté temporelle, représentation prototypique ou attribution causale, afin de révéler les freins au repérage des addictions. La suite de ce travail inédit, avec 4 autres entretiens à venir, permettra de conceptualiser ces éléments pour construire un modèle explicatif du sous-repérage des CCPP en soins primaires.

TITRE :

Écouter, comprendre et soigner : les Sciences Humaines rencontrent la santé

EQUIPE : Tours, Université de Tours, Faculté de Médecine

Béatrice Birmelé (beatrice.birmele@univ-tours.fr)

Vincent Camus (vincent.camus@univ-tours.fr)

Robert Courtois (robert.courtois@univ-tours.fr)

Maël Lemoine (lemoine@univ-tours.fr)

Concetta Pennuto (concetta.pennuto@univ-tours.fr)

Emmanuel Rusch (emmanuel.rusch@univ-tours.fr)

Introduction :

En 2017, peut-on encore exercer la médecine sans se questionner sur l'écoute du patient, de son entourage et des autres acteurs de santé ? Que signifie écouter en médecine ? Comment administrer le soin étant confronté à l'autre ?

Matériel et méthodes :

À la Faculté de Médecine de l'Université de Tours un groupe d'enseignant.e.s-chercheur.se.s assure des enseignements issus de leurs recherches en Sciences Humaines dans le domaine de la santé. Ces recherches en Sciences Humaines se caractérisent par le dialogue entre disciplines : médecine, philosophie, éthique, histoire, psychologie, psychiatrie, santé publique.

Résultats :

La relation médecin-patient, la notion de soin et de maladie, l'étude des systèmes de santé et de leurs acteurs, la réflexion sur les gestes et le vécu de la maladie, le questionnement sur la vie et la mort, les âges de la vie, les transformations et les métamorphoses du corps sont autant de thématiques de la recherche en sciences Humaines à la Faculté de Médecine de Tours.

Conclusions :

Le poster propose une présentation de la manière dont ce groupe d'enseignant.e.s-chercheur.se.s interroge la recherche SH fondamentale et appliquée à la clinique pour l'amélioration des pratiques du soin.

MOTIVATIONS, ATTENTES ET RÉTICENCES DES MÉDECINS DU CHER À PARTICIPER À UN PREMIER RASSEMBLEMENT CONFRATERNEL DÉPARTEMENTAL: ÉTUDE MIXTE SÉQUENTIELLE

Entre pénurie médicale, demande de soins croissante et contraintes administratives, les médecins expriment un exercice au quotidien plus difficile et une solitude grandissante. L'Association des Jeunes Médecins du Cher organisait le 6 septembre 2015 une première rencontre intergénérationnelle et transdisciplinaire entre tous les médecins du département du Cher dans un cadre ludique et convivial.

L'objectif principal de cette étude était de décrire les motivations, les attentes et les réticences des médecins du Cher à participer à ce premier rassemblement confraternel, nommé Confraterni'Day (CD).

Une première étude consistait à recueillir les motivations, attentes et réticences par une méthode mixte séquentielle exploratoire. Un questionnaire ouvert était envoyé avant la CD à 100 médecins tirés au sort. La seconde étude quantitative était réalisée après la CD par questionnaire envoyé aux 85 médecins ayant participé à la CD.

Rencontrer les confrères pour mettre un visage sur un nom, encourager ce type d'initiative, accueillir les nouveaux médecins et s'interroger sur la médecine de demain sont les motivations les plus fréquemment citées dans le premier questionnaire et jugées les plus importantes par les médecins ayant participés à la CD. Fédérer la profession et améliorer les futures collaborations sont les deux principales attentes des deux populations de médecins interrogées. Le manque de temps dominical et le risque de regroupement entre visages connus sont les deux principales réticences retrouvées dans le premier questionnaire mais non confirmées par les médecins ayant participé à la CD.

La CD est un support innovant pour favoriser les échanges confraternels

Contexte : Le médecin généraliste prend en charge des patients atteints de pathologies chroniques, les suit dans le temps et coordonne les actions des différents professionnels de santé. Selon le Haut Conseil de la Santé Publique, en 2010, les maladies chroniques touchent près de 20 % de la population française. On estime qu'environ 50% des malades chroniques adhérent à leur traitement en France. Une revue de la littérature, en 2007, conclue que l'observance médicamenteuse a un impact beaucoup plus important sur les résultats cliniques que les avancées thérapeutiques

Objectif : Evaluer les échelles d'observance pour les patients atteints de pathologies chroniques en soins primaires

Méthode : Revue systématique de la littérature réalisée à partir des bases de données Pubmed, PsycINFO et The Cochrane Library. L'algorithme de recherche était notamment constitué des termes MeSH (ou adaptés aux vocabulaires des autres bases) pour associer 3 items : échelle d'évaluation, observance et soins primaires. Tous les articles originaux ont été retenus quelle que soit la langue de rédaction. Les articles inclus devaient :

- Comporter l'évaluation du développement, de la validation ou de la fiabilité d'une ou plusieurs échelles d'évaluation de l'observance

- Se dérouler en soins primaires

Résultats : 1023 articles ont été sélectionnés. 18 études ont été incluses dans l'analyse. 17 échelles d'observance ont été étudiées en soins primaires, la plupart ciblait une seule pathologie. La plus citée est la MMAS Morisky Medication Adherence Scale. 4 Échelles étaient développées pour des patients atteints de pathologies chroniques multiples dont la DAMS Diagnostic Adherence to Medication Scale et l'instrument d'évaluation de l'observance pour chaque médicament individuel pris par un patient développé par l'équipe de Stéphanie Sidorkiewicz. L'analyse est actuellement en cours.

Conclusion : Nous avons mis en évidence des échelles développées et validées en soins primaires pour évaluer l'observance de patients atteints de pathologies chroniques multiples. Une échelle d'évaluation de l'observance en soins primaires simple, fiable, reproductible permettrait d'évaluer les impacts d'actions développées pour amélioration l'observance : entretien motivationnel, éducation thérapeutique du patient, protocole ASALÉE.

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
PEDIATRIE

DOIT-ON REMETTRE EN CAUSE LA GENITOPLASTIE FEMINISANTE PRECOCE POUR LES HYPERPLASIES CONGENITALES DES SURRENALES A CARYOTYPE XX ?

Aurélien BINET1 ,2, Hubert LARDY1, Dorothée GESLIN3, Marie-Laurence POLI-MEROL1

1Chirurgie Pédiatrique - Hopital Gatien de Clocheville - CHU de TOURS, TOURS, France, 2Chirurgie Pédiatrique - American Memorial Hospital - CHU de REIMS, REIMS, France, 3Chirurgie Pédiatique - CHU de TOURS, ANGERS, France

Introduction :

Alors qu'il apparaît évident et sans équivoque pour les médecins qu'un individu présentant une hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) de caryotype XX a une identité de genre féminin, les associations renouvellent leur volonté d'inscrire l'HCS au rang des intersexes et de suspendre toute prise en charge chirurgicale.

Le but de cette étude est de d'évaluer la légitimité de la génitoplastie féminisante dans ce cas précis.

Matériel et méthodes :

Etude cas-témoins rétrospective sur 40 ans dans 3 centres incluant 21 patientes. Chaque patiente et leurs parents ont été contactés indépendamment et interrogés au sujet de leurs relations interpersonnelles, de l'impact psychologique de la génitoplastie, de l'identité de genre et de leur avis sur une prise en charge optimale.

3 couples parents-enfants témoins ont été appariés.

Résultats :

L'identité de genre assignée à la naissance apparaît en concordance avec celle perçue par les patientes dans 85,7% des cas. 89,7% des patientes et 100% des parents pensent qu'une génitoplastie féminisante doit être réalisée dans la première année de vie à l'instar du groupe témoin qui opterait pour une prise en charge tardive. Aucune différence n'est mise en évidence pendant l'enfance tant au niveau des relations parents-enfant qu'au niveau de l'intégration sociale. A l'adolescence par contre, le vécu de la relation parents-enfant a une tendance à être significativement plus douloureux pour le groupe HCS. L'intégration du rôle parental est significativement plus difficile dans le groupe HCS-DSD. L'épanouissement sexuel dans la population des femmes HCS ayant eu une génitoplastie n'est pas inférieur à celui de la population témoin.

Conclusion :

L'assignation au sexe féminin apparaît légitime selon cette étude et le développement de l'identité de genre chez ces patientes est concordant. La mise en adéquation rapide de l'anatomie génitale avec le sexe de genre assigné est recommandée par les patientes elles-mêmes ainsi que par leurs parents.

UN REGIME HYPOPROTIDIQUE PENDANT LA GESTATION ET/OU LA LACTATION INFLUENCE L'ABONDANCE ISOTOPIQUE NATURELLE EN 15N DES ORGANES DE LA DESCENDANCE CHEZ LA SOURIS

Karine BERNARDO1,2,3, Céline JOUSSE4,5, Pierre FAFOURNOUX4,5, Anne-Marie SCHIPHORST6, Mathilde GRAND6, Richard ROBINS6, Régis HANKARD1,2,3, Arnaud DE LUCA1,2

1Inserm UMR 1069, Tours

2CHU Tours, Tours

3Université F Rabelais, Tours

4UMR INRA 1019, Clermont-Ferrand

5Univ. Clermont-Ferrand

6CEISAM, CNRS-Université de Nantes, UMR 6230, Nantes

Introduction :

L'abondance isotopique naturelle (AIN) en 15N peut être mesurée dans tous les tissus et dépend de l'AIN de l'alimentation et du renouvellement protéique. Le but de l'étude était de mesurer l'effet de l'alimentation et de la croissance sur l'AIN 15N dans les tissus de souris soumises à un régime normoprotidique ou hypoprotidique pendant la gestation et/ou la lactation.

Matériel et méthodes :

Des souris gestantes ont été soumises à un régime isocalorique normoprotidique (NPD : 22% de protéines) ou hypoprotidique (LPD : 10% de protéines). L'alimentation des mères a été maintenue ((NPD/NPD or LPD/LPD)) ou modifiée pour l'autre régime (NPD/LPD or LPD/NPD) jusqu'au sevrage à 30 jours. Après le sevrage, toutes les souris ont reçu la même alimentation standard (A03). Les poils, le foie et le muscle des souriceaux ont été prélevés à J1 (foie seulement), J11, J30, J60 et J480 après sacrifice et à J1 pour les mères. La croissance a été modélisée comme une fonction exponentielle pour le groupe suivi jusqu'à J480. L'AIN 15N a été mesurée par Spectrométrie de Masse de Rapport Isotopique couplée à un Analyseur Elémentaire. Les analyses utilisées étaient une ANOVA hiérarchisée avec facteurs fixes (le temps et le groupe) et tests post-hoc de Tukey pour les comparaisons à plus de deux groupes.

Résultats :

Des AIN 15N plus élevées dans l'alimentation entraînaient des AIN 15N plus élevées dans les tissus. Le changement de régime a modifié l'AIN 15N dans chaque organe. Bien que les mères et les souriceaux avaient le même environnement isotopique pendant la gestation, l'AIN 15N était plus élevée à J1 chez les mères. La vitesse de croissance ne différait pas entre les groupes et diminuait entre 1 et 5 mois. L'AIN 15N était différente selon les organes et était influencée par la croissance et le régime alimentaire.

Conclusion :

L'AIN 15N du régime alimentaire est un déterminant majeur de l'AIN 15N des tissus. L'AIN 15N dépend de l'organe et de l'âge (i.e. croissance) suggérant un effet du métabolisme et/ou d'espace de dilution. Le régime NPD post-natal chez les souris allaitantes inverse l'effet du régime LPD pendant la gestation sur la croissance de la descendance. La mesure de l'AIN 15N dans différents tissus pourrait ouvrir un champ d'applications pratiques pour étudier l'origine pré- et post-natale des maladies.

OUTILS UTILISABLES EN CONSULTATION DE MEDECINE GENERALE NON PROGRAMMEE POUR LE REPERAGE DES TROUBLES DU LANGAGE DE L'ENFANT

Isabelle ETTORI-AJASSE1, 2, Franck BEUCHER2, Jean-Pierre LEBEAU1, 2

1 Equipe Enseignement Ethique Santé

2 Département Universitaire de Médecine Générale, Faculté de médecine du Centre-Val de Loire, Université François Rabelais

Introduction :

Les troubles spécifiques du langage affectent entre 5 % et 10 % des enfants. Les conséquences des troubles du langage sur la vie quotidienne des enfants puis des adultes, sur l'insertion scolaire puis professionnelle peuvent être prévenues ou atténuées par des prises en charge précoces adaptées. Pour cela, un outil d'aide au repérage validé et adapté aux soins premiers est nécessaire.

Objectif : Lister les outils de repérage des troubles du langage de l'enfant, utilisables en consultation de médecine générale non programmée. Evaluer leur validité et faisabilité.

Matériel et méthodes :

Revue systématique de la littérature réalisée à partir des bases de données Pubmed, Lilacs, PsycInfo, SUDOC et The Cochrane Library. Seuls les articles évaluant la validité ou la faisabilité d'un outil de repérage en soins premiers ont été inclus dans l'analyse.

Résultats :

2941 articles ont été sélectionnés, 29 études ont été incluses dans l'analyse. 30 tests ont été référencés : 12 tests directs et 18 questionnaires parentaux. L'ERTL4 et les IDFC étaient les 2 seuls outils en langue française. Ils permettaient le repérage des troubles du langage à 4 ans ou à 12-18-24 mois. Leur temps de passation était inférieur à 10 minutes mais ils étaient globalement méconnus des médecins généralistes interrogés. La qualité et la comparabilité des études étaient limitées par les différences de critères de validité, par l'hétérogénéité des populations, des recrutements et des langues évaluées. Aucun test ne permettait le repérage des troubles du langage écrit.

Conclusion :

Parmi les tests directs et questionnaires parentaux disponibles, l'ERTL4 et les IDFC version courte apparaissent adaptés aux soins primaires où une évaluation rapide du langage de l'enfant est nécessaire. Bien qu'il y ait encore certains freins à une utilisation aisée lors d'une consultation non programmée, il semble maintenant nécessaire d'évaluer leur acceptabilité sur de larges échantillons de médecins généralistes.

ETUDE DE FAISABILITE DU DPL3 EN MEDECINE GENERALE POUR LE REPERAGE DES TROUBLES DU LANGAGE DE L'ENFANT

Isabelle ETTORI AJASSE1,2, Karine VILLEROY2, Jean ROBERT,2

1 Equipe Enseignement Ethique Santé

2 Département Universitaire de Médecine Générale, Faculté de médecine du Centre-Val de Loire, Université François Rabelais

Introduction :

Les retards de développement du langage peuvent avoir des conséquences multiples et graves pour l'enfant, et sa vie d'adulte. Ils touchent 5 à 10% de chaque classe d'âge. De nombreux travaux ont évalué les pratiques des médecins dans le repérage des troubles du langage, ainsi que la faisabilité des tests de repérage les plus connus, en soins primaires. Le DPL3 est un outil rapide qui a été créé et validé pour le repérage des troubles à un stade précoce chez l'enfant de 3 ans.

Objectif : Evaluer la faisabilité du DPL3 en cabinet de médecine générale pour le repérage des troubles du langage chez l'enfant de 3 ans.

Matériel et méthodes :

Il s'agissait d'une enquête prospective, descriptive, sur un échantillon de médecins volontaires. Elle comprenait 3 phases : formation spécifique au repérage des troubles du langage et à l'utilisation du DPL3, utilisation de l'outil pendant 3 mois en remplissant une fiche de recueil spécifique, puis questionnaire à distance auprès des médecins.

Résultats :

15 médecins ont été inclus. La majorité des passations du test ont été réalisées au cours d'une consultation pour pathologie aigue. Les principaux freins identifiés sont le temps nécessaire et les troubles liés à la santé de l'enfant. 50 % des médecins ont considéré le test réalisable en soins primaires, dans le cadre de bilans ou de consultations dédiées. Cet outil, plus performant que l'évaluation empirique du médecin, permet d'objectiver une absence de troubles et de rassurer les parents dans la moitié des cas.

Conclusion :

Le DPL3 paraît être un test faisable en cabinet de médecine générale pour le repérage des troubles du langage chez l'enfant de 3 ans. Les orientations vers l'orthophonie sont plus ciblées. C'est un outil qui permet au médecin généraliste de retrouver un rôle essentiel dans le suivi médical de l'enfant dans notre système de soins.

Rotation Manuelle à dilatation complète versus expectative en cas de variété Occiputo Sacrée (RMOS) : Protocole de l'essai contrôlé randomisé

Verhaeghe C 1, Bouet PE1, Gillard P1, Descamps P1, Legendre G1,2

1. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Angers, 49933 Angers Cedex, France.

2. CESP-INSERM, U1018, Equipe 7, Genre, Santé Sexuelle et Reproductive, Université Paris Sud, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France

Background :

La fréquence des variétés postérieures au cours du travail est d'environ 20 % parmi lesquelles 5 % persisteront en fin de travail. Les présentations en variétés postérieures sont associées à un taux de césariennes et d'extractions instrumentales plus élevées. La rotation manuelle d'une variété postérieure afin de positionner le foetus dans une variété antérieure a été proposé pour réduire le taux d'extraction foetale. Aucune étude randomisée n'a comparé son efficacité par rapport à l'expectative. Nous proposons donc un protocole d'étudeprospective, randomisée, interventionnelle, monocentrique pour démontrer une supériorité sur le taux d'accouchement par voie basse de la rotation manuelle d'une variété postérieure à dilatation complète par rapport à une attitude d'expectative.

Méthodes:

Toutes les grossesses singletons présentant une suspicion clinique de variété postérieure à plus de 37 SA, bénéficieront d'une échographie de présentation à dilatation complète. En cas de confirmation de la variété postérieure à l'échographie la patiente sera randomisée soit dans le groupe expérimental (rotation manuelle) soit dans le groupe contrôle (attitude expectative). Pour une puissance de 90 % et une hypothèse d'augmentation de 20 % du pourcentage d'accouchement voie basse, 238 patientes sont à inclure. Le critère de jugement principal sera le taux d'accouchements voie basse. Les critères de jugement secondaires seront le taux d'extractions foetales (césarienne ou instrumentale) et des critères de morbi-mortalité maternelle et foetale. L'étude sera réalisée en intention de traiter sur une période de 24 mois.

Discussion :

L'efficacité de la rotation manuelle n'étant pas démontrée par des études de niveau de preuves élevées, la pratique de cette technique n'est pas systématiquement recommandée par les sociétes savantes et donc réalisées par les gynécologues-obstétriciens.

Si notre hypothèse de supériorité de la rotation manuelle se confirme, notre étude permettra de modifier les pratiques obstétricales en cas de variété postérieure. L'amélioration du taux d'accouchement voie basse permettra de diminuer la morbi-mortalité de la césarienne à court et à long terme.

La rotation manuelle est une méthode simple et efficace avec un taux de succès proche de 90 %.Plusieurs études pré liminaires montrent que les rotations manuelles sont associées à une réduction du taux d'extraction foetale et de complications maternelles : Shaffer montre que le taux de césarienne est plus faible chez les patientes dont la rotation manuelle a été un succès (2%) avec un taux de césarienne de 9 % quand la rotation manuelle est réalisée, contre 41 % lorsqu'il n'y a pas de rotation manuelle. Leray montre que la rotation manuelle réduit de manière significative le taux d'extraction par voie basse (23,2 % vs 38,7 % $p<0,01$). Cependant la rotation manuelle n'est pas réalisée de façon systématique faute de preuve de son efficacité devant ces études rétrospectives ou quasi-expérimentales avant-après.

MALADIES INFECTIEUSES

FHL2 regulates natural killer cell development and activation during Streptococcus pneumoniae infection

Thomas Baranek1, 2, Eric Morello1, 2, Alexandre Valayer1, 2, Rose-France Aimar1, 2, Déborah Bréa1, 2, Clemence Henry1, 2, Anne-Gaelle Besnard1, 2, Emilie Dalloneau1, 2, Emilie Narni-Mancinelli3, Eric Vivier3, 4, Fabrice Laurent5, Yu Wei6, Christophe Paget1, 2, and Mustapha Si-Tahar1, 2

Affiliations:

1 INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), UMR 1100, 37032 Tours, France

2 Université François Rabelais de Tours, 37000 Tours, France

3 Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, Université d'Aix-Marseille UM2, Inserm, U1104, CNRS UMR7280, 13288 Marseille, France

4 Immunologie, Hôpital de la Conception, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Aix-Marseille Université, 13005 Marseille, France

5 ISP, INRA, Université Tours, 37380, Nouzilly, France

6 Hépacivirus et immunité innée, Institut Pasteur, 75015, Paris, France

The LIM-only protein FHL2 is a transcription co-factor that was predicted in silico, to be a major transcriptional regulator of mouse NK cells (Bezman, 2012). However, the role of FHL2 in NK cell biology is unknown.

Objective : in this study, we aimed to investigate the implication of FHL2 in NK cell development, homeostasis in peripheral organs and activation during a pulmonary infection with Streptococcus pneumoniae.

Results: first, we confirmed that FHL2 is expressed in mouse NK cells at both the mRNA level and the protein level. We showed that purified human NK cells also expressed FHL2. We next used FHL2-deficient mice (FHL2-/-), and we found that the number of NK cells in several peripheral organs was significantly lower in those mice compared to wild-type (WT) mice. Moreover the absence of FHL2 results in alterations in NK cell progenitors at the

early stages of development in the bone marrow. Next, to evaluate the importance of FHL2 in NK cell activation, FHL2-/- mice were intranasally infected with Streptococcus pneumoniae. We observed that FHL2-/- mice are highly susceptible to this infection. The activation of the remaining NK cells in the lungs of FHL2-/- mice is altered, as assessed by CD69 and CD11b expression. Interestingly, the transfer of purified WT NK cells into FHL2-/- mice at the time of infection rescued the infected mice. Finally, we demonstrated that FHL2 is implicated in IFN production during S. pneumoniae leading to an impaired recruitment and activation of neutrophils in the bronchoalveolar lavages of FHL2-/- mice compared to WT mice. As a consequence of this neutrophilic defect, the control of the bacterial burden was impaired in FHL2-/- mice compared to WT mice, leading to the enhanced mortality of these mice.

Conclusions : collectively, our data reveal that FHL2 is a new transcription co-factor implicated in NK cell development and activation during pulmonary bacterial infection and paves the way for further investigations to delineate the molecular mechanisms by which FHL2 regulates the physiologic and pathologic states of NK cells.

Bezman, N.A., Kim, C.C., Sun, J.C., Min-Oo, G., Hendricks, D.W., Kamimura, Y., Best, J.A., Goldrath, A.W., and Lanier, L.L. (2012). Molecular definition of the identity and activation of natural killer cells. Nat. Immunol. 13, 1000–1009.

IL-26 inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes

Élodie Beaumont1,†, Vincent Larochette2,3,†, Laurence Preisser2,3, Pascale Pignon2,3, Simon Blanchard2,3,4, Jonathan Dauvé5, Minna Poranen6, Alain Morel2,3,5, Helmut Fickenscher7, Yves Delneste2,3,4,‡, Philippe Roingeard1,‡, Pascale Jeannin2,3,4,‡

1 INSERM unit 966, François Rabelais University of Tours, Tours, France ; 2 CRCINA, INSERM, University of Nantes, University of Angers, Angers, France; 3 Labex ImmunoGraftOnco, Angers, France; 4 Laboratory of Immunology and Allergology, University Hospital of Angers, Angers, France; 5 Paul Papin ICO cancer center, Angers, France; 6 Department of Biosciences, University of Helsinki, Helsinki, Finland; 7 Institute for Infection Medicine, Christian Albrecht University of Kiel and University Medical Center Schleswig-Holstein, Kiel, Germany

† These authors contributed equally to this work.

‡ These authors jointly supervised this work.

Introduction:

Interleukin-26 (IL-26) is a cationic amphipathic cytokine initially identified as overexpressed in virus-transformed human T lymphocytes. IL-26 was shown to modulate the infection of epithelial cells by different enveloped viruses, but its precise antiviral properties remain uncharacterized. We recently reported that IL-26 expression is increased in hepatitis C virus (HCV)-infected patients (Miot *et al*, Gut 2015).

Materials and methods:

We investigated the mechanism(s) by which IL-26 may exert an antiviral activity againt HCV using complementary approaches evaluating: (i) its capacity to interfere with HCV entry into hepatocytes; (ii) its ability to induce the expression of antiviral interferon-stimulated genes in HCV-infected cells; (iii) its capacity to penetrate into infected cells, interact with viral RNA, and interfere with HCV replication.

Results:

We demonstrated that IL-26 penetrates into HCV-infected hepatocytes, independently of the heterodimeric IL-20R1/IL-10R2 receptor, and interacts with HCV double-stranded RNA, leading to an inhibition of viral replication. IL-26 was shown to interfere with viral RNA-dependent RNA polymerase in infected cells, inhibiting the neosynthesis of viral genomic single-stranded RNA.

Conclusion:

Collectively, our results highlight a novel direct protective role of IL-26 against HCV infection, independent of the immune system. This study sheds new light on the complex biology of IL-26 and increases our understanding of the antiviral defense mechanisms contributing to control HCV infection.

Etude des propriétés phénotypiques du VIH-1 associées à l'établissement d'une nouvelle infection

M. Beretta1, A. Moreau1, M. bouvin-pley1, A. Essat2, C. GOUJARD3, M.-L.C. Baudier4, L. Meyer5, F. Barin1, M. Braibant1

1INSERM Unit 966, TOURS, France, 2INSERM U1018 - CESP, Le Kremlin-Bicêtre, France, 3APHP, Le Kremlin-Bicêtre, France, 4Hôpital Saint Louis - APHP, PARIS, France, 5APHP, Le Kremlin-Bicetre, France

Introduction : L'étude de la transmission sexuelle du VIH-1 a révélé que le plus souvent un seul ou un nombre limité de variants viraux parmi ceux présents chez le donneur étaient transmis, soulignant un phénomène de restriction au moment de la transmission. Il en résulte une population virale génétiquement très restreinte en début d'infection, par opposition à celle retrouvée chez les sujets chroniquement infectés très hétérogène. La question qui se pose est de savoir si ce processus de restriction est un événement stochastique ou s'il sélectionne des virus présentant des propriétés biologiques particulières qui les prédisposent à établir plus efficacement de nouvelles infections. Pour étudier ce phénomène, il est extrêmement difficile d'avoir accès à des prélèvements de sujets « donneurs » et de sujets « receveurs » identifiés au stade de primo infection. Un moyen indirect est d'identifier des clusters de transmission définis par un groupe de virus très proches génétiquement et provenant de différents patients en stade de primo infection, formant ainsi une chaîne de transmission.

Matériel et méthodes : A partir du plasma de ces patients, nous avons généré des virus pseudotypés exprimant à leur surface les glycoprotéines d'enveloppe représentant la population virale de chaque patient. Ce modèle d'étude permet de se focaliser uniquement sur les caractéristiques de l'enveloppe possédant un rôle principal dans les étapes précoces de l'infection cellulaire.

Résultats : La sensibilité à la neutralisation des virus pseudotypés a été testée en présence d'un panel d'anticorps largement neutralisants ciblant les principaux sites de vulnérabilité de la glycoprotéine d'enveloppe. Les résultats ont montré une homogénéité de sensibilité/résistance à l'intérieur de chaque cluster de transmission. Ce phénomène témoigne de la conservation antigénique de l'enveloppe du variant transmis, renforçant l'hypothèse d'une sélection lors de la transmission. De plus certains épitopes ciblés, comme le site de fixation au CD4, la boucle variable V3 et l'interface gp120/gp41 possèdent des profils de neutralisation sensibles et homogènes entre nos différents clusters, indiquant une conservation importante de ces trois régions. Par la suite nous avons réalisé différents tests fonctionnels pour analyser la nature potentielle de l'avantage sélectif des variants transmis. Nous avons identifié une homogénéité intracluster pour la sensibilité au T20 (inhibiteur de fusion) et au Maraviroc (inhibiteur du co-récepteur CCR5), ce qui pourrait témoigner d'un avantage sélectionné au cours de l'évènement de transmission.

Conclusion : Ces résultats supportent l'hypothèse d'un évènement de sélection du variants transmis lors de la transmission.

Genetic transformation of the emerging pathogenic yeast Candida auris

*Tatiana A. Defosse1,2, Yohann Le Govic1,3, Patrick Vandeputte1,3, Vincent Courdavault2, Marc Clastre2, Jean-Philippe Bouchara1,3, Anuradha Chowdhary4, Nathalie Giglioli-Guivarc'h2 and Nicolas Papon1**

1Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène (EA 3142), GEIHP, UNIV. Angers, Université Bretagne-Loire, Angers, France

2Université François-Rabelais de Tours, Biomolécules et Biotechnologies Végétales, EA 2106, Tours, France

3Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France

4Department of Medical Mycology, Vallabhbhai Patel Chest Institute, University of Delhi, Delhi, India

** Corresponding author. nicolas.papon@univ-angers.fr*

The yeast Candida auris has recently emerged as a global cause of severe nosocomial fungal infections. Since its first description in 2009, C. auris has rapidly spread across all developed countries, causing several outbreaks of healthcare-associated invasive infections. This pathogenic yeast displays clonal inter- and intra-hospital transmission and, due to an alarming multi-drug resistance profile, C. auris is particularly difficult to treat. Because of the recent availability of the whole genome sequence of C. auris, it becomes possible now to determine the molecular mechanisms underlying the antifungal resistance of this yeast and to identify virulence factors that could represent new targets for drug development. However, this requires the design of functional genomic approaches.

With this in mind, we developed here an efficient procedure to genetically transform the C. auris VPCI 479/P/13 reference strain. First, we designed a synthetic construct composed of a mycophenolic acid-resistant cassette combined to an expression cassette including the yemCherry fluorescent protein gene as reporter. The reference strain was successfully transformed with this expression vector using an adapted electroporation procedure since resistant colonies were selected onto mycophenolic acid-containing plates when yeasts were electroporated with this transforming DNA. In addition, strong red fluorescence signals were directly observed from freshly formed colonies and single cells by epifluorescence microscopy, confirming the expression of the yemCherry reporter gene and therefore the functionality of the synthetic construct in C. auris.

In conclusion, we describe here the first genetic transformation system adapted to C. auris. The availability of this versatile vector will certainly accelerate functional genomic approaches in this emerging pathogenic yeast by allowing: (i) the expression of homologous or heterologous genes, (ii) subcellular localization studies by fusing genes of interest with the yemCherry-coding sequence, and (iii) gene disruption by integrating the adapted mycophenolic acid-resistance cassette at targeted loci.

CHARACTERIZATION OF THE ANTI-ASPERGILLUS RESPONSE IN A NEUTROPENIC RAT MODEL

David CHAUVIN1, Adélaïde CHESNAY1, Emilie DALLONEAU1, Maria del Carmen PIQUERAS4, , Sanjoy K. BHATTACHARYA4, Eric BAILLY2, Carolyn CRAY3, Jacques CHANDENIER1,2, Nathalie HEUZE VOURC'H1, Guillaume DESOUBEAUX1,2,3

1. Université François-Rabelais, CEPR - INSERM U1100 / Équipe 3, Faculté de Médecine, Tours – France

2. CHU de Tours, Service de Parasitologie – Mycologie – Médecine tropicale, Tours - France

3. University of Miami Health System, Division of Comparative Pathology, Department of Pathology & Laboratory Medicine, Miller School of Medicine, Miami FL – U.S.A.

4. University of Miami Health System, Bascom Palmer Eye Institute, Miller School of Medicine, Miami FL – U.S.A.

Introduction : Invasive pulmonary aspergillosis (IPA) is a life-threatening airborne infection caused by the ubiquitous mold Aspergillus fumigatus. It is responsible for high mortality rates, especially in immunocompromised patients, and partly because its diagnosis is challenging and thus often delayed. In order to improve its medical management, further understanding of the IPA physiopathology is needed, together with the identification of new diagnostic biomarkers. A neutropenic rat model was challenged intra-tracheally with A. fumigatus spores to attempt better characterization of the host response during IPA: changes in immune cells recruitment and variation of relative representation of tissue/blood proteins were addressed.

Matériel et méthodes : Flow cytometry was performed to determine proportions of the various subsets of immune cells (neutrophils, macrophages, lymphocytes and dendritic cells) in infected lung samples vs. healthy lungs. Identification and relative quantitation of host proteins were performed in blood and lung tissues of challenged rats and compared to controls, using mass spectrometry iTRAQ® (isobaric tags for relative and absolute quantitation) technology.

Résultats : A. fumigatus infection elicited a significant recruitment of B-lymphocytes (≥ 3.0-fold; $p < 0.05$) and dendritic cells (≥ 3.0-fold; $p < 0.001$), whereas neutrophils were diminished by ≥ 2.0-fold ($p < 0.001$) vs. non-infected rats. iTRAQ® analysis showed that 15 and 33 proteins were differentially expressed vs. controls, either positively or negatively ≥ 4.0-fold, respectively in blood and lungs. Several signaling pathways were identified with relative enrichment ranging from 1.2 to 98.1-fold). They were committed for example to blood coagulation, angiogenesis, cadherin or FGF, that are all involved in repair processes for injured tissue. Signaling pathways, like Wnt or Interleukin signaling pathway, were also shown to be significantly enriched (3.9- and 1.3-fold in blood and lung, and 2.1-fold in lung respectively), suggesting inflammation and immune cell recruitment processes.

Conclusion : Altogether, our findings pointed at the relevance of our rat model for investigating IPA physiopathology. They also brought valuable insights into proteins and signaling pathways that are actually involved in the host response.

L'APOLIPOPROTEINE E INFLUENCE PLUSIEURS ETAPES CRUCIALES DU CYCLE DE VIE DU VIRUS DE L'HEPATITE C

Julie Dreneau, Anne Bull, Amélie Dumans, Philippe Roingeard, Audrey Boyer et Jean-Christophe Meunier

INSERM U966, Faculté de Médecine de Tours, Université François Rabelais et CHRU de Tours.

Introduction : Chez les patients infectés chroniquement par le virus de l'hépatite C (VHC), les particules virales circulent dans le sang sous forme de LipoViro Particules (LVP), particules hybrides associant des composants d'origine virales (ARN, protéine de capside et d'enveloppe) et cellulaires (lipoprotéines, apolipoprotéine B, C1 et E (ApoB, ApoC1 et ApoE)). Les glycoprotéines d'enveloppe E1E2 du VHC s'associent précocement avec l'ApoE cellulaire par des interactions protéine-protéine. Cette association est responsable de l'initiation de la morphogenèse des LVPs. Nous avons axé nos recherches sur la caractérisation de cette association E1E2-ApoE.

Matériel et méthodes : Nous examinons ce phénomène dans le système d'étude du VHC en culture cellulaire (HCVcc, génotype 2a, souche JFH-1 et JFH1 HA-A4). Nous avons en premier lieu modifié des cellules Huh7.5 afin d'inhiber de façon croissante la production d'ApoE (shRNA ApoE). Celles-ci ont été inoculées via des particules rétrovirales afin d'y exprimer un shRNA ApoE (ou shRNA contrôle négatif). Les cellules ont ensuite été sélectionnées avec une quantité croissante de puromycine (de 2 à 20 µg/mL) afin d'obtenir une gamme croissante d'inhibition d'ApoE. Nous avons observé en Western Blot, une inhibition croissante de l'expression d'ApoE dans les différents lots de cellules shApoE-Huh7.5 lorsque nous augmentons la pression de sélection en puromycine. Ce système va nous permettre d'observer l'impact de cette inhibition sur l'ensemble du cycle de vie du virus.

Résultats : Les premiers résultats démontrent une corrélation entre l'inhibition d'ApoE et la diminution de l'infectivité du HCVcc produit dans le surnageant des différents lots cellulaires. Nos analyses en western blot indiquent que ce phénomène pourrait s'expliquer par une diminution de la production des glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 et/ou par une altération du repliement de ces protéines. De plus, nos tests d'immunocapture de particules observées par microcopie électronique montrent qu'il y a une modification de la structure et de la taille moyenne des particules HCVcc produites dans les différents lots de cellules, en fonction de la pression de sélection.

Conclusion : Nos premiers résultats indiquent donc que l'ApoE peut influencer le repliement des glycoprotéines d'enveloppe, mais aussi la lipidation dans la voie de sécrétion des particules virales. L'ApoE semble donc être un élément central dans la morphogenèse du VHC. Au-delà de l'exploration de la complexité de l'interaction ApoE-E1E2, la possibilité qu'ApoE puisse agir comme chaperonne pour les protéines d'enveloppe du VHC ouvre de nouvelles perspectives d'investigation sur l'interaction virus hépatiques/protéines de l'hôte.

Nous prévoyons maintenant de déterminer (en système de culture HCVcc) l'influence de l'inhibition progressive de l'expression d'ApoE sur la production et le repliement de E1E2 en réalisant des co-Ip E1E2-ApoE (suivies de WB en conditions réductrices ou non-réductrices) ainsi qu'en déterminant l'efficacité de production de particules virales intracellulaires ou relarguées dans le surnageant (dosage ARN et efficacité d'infectivité). Nous examinerons la capacité des particules HCVcc produites dans les différents lots à être neutralisées par un Ac anti-ApoE. Nous regarderons également si l'ajout d'ApoE extracellulaire sur les particules produites par les différents lots shApoE-Huh7.5 restaure l'efficacité d'infectivité. Pour finir, afin d'optimiser l'inhibition d'ApoE, une sélection clonale va être réalisée afin d'obtenir des lignées homogènes exprimant plus ou moins ApoE.

HISTIDINE KINASE HYBRIDE DU GROUPE III : NOUVELLE CIBLE THERAPEUTIQUE DE SCEDOSPORIUM APIOSPERMUM ?

Anaïs HERIVAUX1, Patrick VANDEPUTTE1,2, Charlotte GODON1, Jean-Philippe BOUCHARA1,2, Amandine GASTEBOIS1, Jean-Paul LATGE3, Nicolas PAPON1

1Groupe d'Etude des Interactions Hôte Pathogène, GEIHP, EA 3142, UNIV Angers, UNIV Brest, UNIV Bretagne-Loire, Angers, France

2Laboratoire de Parasitologie – Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France

3Unité des Aspergillus, Institut Pasteur, Paris, France

Introduction :

Scedosporium apiospermum se situe au deuxième rang parmi les champignons filamenteux colonisant les voies aériennes des patients atteints par la mucoviscidose. Sa thermotolérance, son aptitude à disséminer par voie sanguine et sa faible sensibilité aux antifongiques actuels font de lui un pathogène difficile à traiter. C'est pourquoi il est essentiel aujourd'hui d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles : les histidine kinases hybrides (HHKs). Chez S. apiospermum, 6 HHKs appartenant à 6 groupes différents ont été identifiées. Parmi elles, on retrouve en particulier une HHK de groupe III (HHKIII) qui a été décrite comme étant impliquée dans la pathogénicité chez d'autres champignons filamenteux. Dans cette étude, nous nous proposons d'étudier la fonction de l'HHKIII chez S. apiospermum.

Matériel et méthodes :

Nous avons développé une stratégie nous permettant d'invalider le gène HHKIII qui consistait: i) tout d'abord, à construire une cassette d'invalidation dans un plasmide contenant le gène de résistance à l'hygromycine (HygR) et un système permettant le recyclage de HygR ; ii) à transformer ensuite notre champignon en utilisant le principe de la recombinaison homologue ; iii) puis, à valider les transformants ainsi obtenus par PCR et Southern blot ; iv) et à obtenir une souche complémentée ; v) enfin, à réaliser des études phénotypiques.

Résultats :

Les mutants ΔHHKIII ont été obtenus après insertion de la cassette d'invalidation dans notre souche fongique, et validés par Southern blot. Etant donné le peu de molécules antifongiques disponibles pour sélectionner les transformants chez S. apiospermum, il était indispensable en amont de tester un système de recyclage du marqueur de sélection. La souche complémentée étant en cours de construction, nous avons initié des études phénotypiques préliminaires chez les souches mutantes. Ces premiers résultats nous ont notamment permis de mettre en évidence des défauts dans la morphogénèse des hyphes ainsi qu'une hypersensibilité au stress osmotique de nos mutants.

Conclusion :

Les résultats des études phénotypiques préliminaires sont encourageants. De nouvelles études sont en cours, en particulier sur la sensibilité des mutants ΔHHKIII vis-à-vis du stress oxydatif. Cependant, il sera indispensable de confirmer ces résultats en présence de la souche complémentée afin de pouvoir affirmer que les phénotypes observés sont liés à la perte du gène HHKIII dans nos mutants.

Human but not Mouse Kallikrein-Related Peptidase 5 Activates H3N2 Influenza Virus

Melia Magnen(1,2), Petr Kasparek (3), Fabien Gueugnon(1,2), Antoine Guillon(1,2), Agnès Petit-Courty(1,2), Simon J. de Veer(4), Radislav Sedlacek(3), Jonathan Harris(4), Mustapha Si-Tahar(1,2), Yves Courty(1,2)

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

2. Université François Rabelais, Tours, France

3. Laboratory of Transgenic Models of Diseases, Institute of Molecular Genetics, Vestec, Czech Republic.

4. Queensland University of Technology, Brisbane, Australia

Keywords: influenza virus; hemagglutinin; activation; lung; KLK5

Abstract:

Influenza A viruses (IAVs) cause acute infection of the respiratory tract that affects millions of people during seasonal outbreaks every year. Influenza virus hemagglutinin (HA) must be activated by proteolysis before virus infection of host cell. Previous studies indicated that HA cleavage is driven by membrane-bound or extracellular serine proteases in the respiratory tract. Human KLK5, one of the 15 serine proteases known as the kallikrein-related peptidases (KLKs) was identified as a candidate for this activation by B. S. Hamilton and G. R. Whittaker in 2013. We studied the ability of both mouse and human KLK5 to activate H1N1 or H3N2 influenza A virus. The nasal instillation of virions in both WT and Klk5 deficient mice, resulted in weight loss and lethal outcomes. In vitro, mKlk5 didn't promote the infectivity of A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) and A/Scotland/20/74 (H3N2) virions in MDCK cells unlike hKLK5. Moreover, the secretion of hKLK5 in the human lower respiratory tract is enhanced during influenza. We also show that pretreatment of airway secretions with a KLK5-selective inhibitor significantly reduced the activation of influenza A/Scotland/20/74 virions, providing further evidence of its importance. In conclusion, we demonstrate that the secreted human but not mouse KLK5 is efficient in promoting the infectivity of H3N2 IAV in vitro and in vivo. In this way, the mouse model could be not relevant for identifying influenza activating proteases. Furthermore, we found that hKLK5 secretion was selectively enhanced in the human lower respiratory tract during a seasonal outbreak dominated by an H3N2 virus. Collectively, our data support the clinical relevance of this protease in human influenza pathogenesis.

NOUVELLES APPROCHES PHENOTYPIQUES POUR L'EXPLORATION DES ECHECS DE TRAITEMENT DE L'HEPATITE B CHRONIQUE

Julien Marlet 1, Clément Lier 1, Denys Brand 1, Catherine Gaudy-Graffin 1*

1 INSERM U966, CHRU Tours, Faculté de Médecine, Université François-Rabelais, 10 Bd Tonnellé 37000 Tours

** Auteur correspondant : jul.marlet@gmail.com*

Introduction : Le traitement de première intention de l'hépatite B chronique (VHB) repose sur l'entécavir ou le ténofovir, deux analogues nucléos(t)idiques, inhibiteurs de l'ADN polymérase virale à activité transcriptase inverse (ADNpol/RT). La résistance primaire à ces deux molécules est rare (<1%). En cas d'échec thérapeutique chez un patient observant (diminution insuffisante ou reprise de la réplication virale), une recherche de mutations de résistance peut être réalisée par simple séquençage de la polymérase virale. Lorsque le séquençage n'est pas contributif malgré une forte suspicion de résistance, il est possible de réaliser un test phénotypique de résistance en laboratoire spécialisé.

Matériel et méthodes : Nous avons appliqué cette approche phénotypique à 9 patients en échec thérapeutique inexpliqué à l'entécavir, en utilisant un virus VHB recombinant exprimant une polymérase clonée à partir des prélèvements cliniques.

Résultats : Nous avons pu mettre en évidence une résistance du virus à l'entécavir pour 3 patients sur 9, confirmant l'apport du test phénotypique en seconde ligne après le séquençage. Trois nouvelles mutations potentiellement associées à la résistance ont été identifiées dans la polymérase de ces virus : L217R, M250L et N238T.

Conclusion : Le rôle des mutations identifiées dans la résistance est en cours d'étude par mutagenèse dirigée et modélisation moléculaire. Chez les patients restant en échec inexpliqué, le test phénotypique sera élargi à l'étude du génome entier du VHB pour identifier une éventuelle résistance non détectée avec les tests précédents. L'objectif est d'aboutir à une prise en charge optimisée et personnalisée des patients pour une prévention efficace des complications hépatiques de l'infection par le VHB.

ROLE OF NEUTROPHILS IN THE DEVELOPMENT OF INNATE IMMUNE RESPONSE TO RESPIRATORY BACTERIAL INFECTIONS

Maya Hassane1, Dieter Demon2, Daphnée Soulard1, Josette Fontaine1, Lance E. Keller3, Emmanuel C. Patin1, Rémi Porte1, Immo Prinz4, Bernhard Ryffel5, Aras Kadioglu6, Jan-Willem Veening3, Jean-Claude Sirard1, Christelle Faveeuw1, Mohamed Lamkanfi2, François Trottein1 and Christophe Paget1

1Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 - UMR 8204 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, F-59000 Lille, France. 2Inflammation Research Center, VIB, B-9052 Zwijnaarde, Belgium; Department of Internal Medicine, Ghent University, B-9000 Ghent, Belgium. 3Molecular Genetics Group, Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute, Centre for Synthetic Biology, University of Groningen, Groningen, The Netherlands. 4Institute of Immunology, Hannover Medical School, 30625 Hannover, Germany. 5CNRS, UMR7355, Experimental and Molecular Immunology and Neurogenetics, University, Orléans, France and IDM, University of Cape Town, RSA. 6Department of Clinical Infection, Institute of Infection and Global Health, University of Liverpool, Liverpool, UK.

Summary :

Traditionally regarded as simple foot soldiers of the innate immune response limited to the eradication of pathogens, neutrophils recently emerged as more complex cells endowed with a set of immunoregulatory functions. Using a model of invasive pneumococcal disease, we highlighted an unexpected key role for neutrophils as accessory cells in innate IL-17A production by lung resident Vγ6Vδ1+ T cells via NLRP3 inflammasome-dependent IL-1β secretion. In vivo activation of the NLRP3 inflammasome in neutrophils required both host-derived and bacterial-derived signals. Elaborately, it relies on (i) alveolar macrophage-secreted TNF-α for priming and (ii) subsequent exposure to bacterial pneumolysin for activation. Interestingly, this mechanism can be translated to human neutrophils. Our work revealed the cellular and molecular dynamic events leading to γδT17 cell activation, and highlighted for the first time the existence of a fully functional NLRP3 inflammasome in lung neutrophils. This immune axis thus regulates the development of a protective host response to respiratory bacterial infections.

ETUDE FONCTIONNELLE DU SYSTEME CRISPR/CAS DE TYPE II-A DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN FONCTION DES LIGNEES PHYLOGENETIQUES

Adeline PASTUSZKA1,2,3, Emilie CAMIADE1,2, Clément LIER3, Laurent MEREGHETTI1,2,3, Philippe LANOTTE1,2,3

1Université François Rabelais de Tours, UMR1282 ISP, Faculté de Médecine, Equipe Bactéries et risque materno-foetal, F-37032 Tours, France, 2INRA, UMR1282 ISP, Equipe Bactéries et risque materno-foetal, F-37380 Nouzilly, France, 3CHRU de Tours, Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène hospitalière, F-37044 Tours, France

Introduction :

Les systèmes CRISPR/Cas constituent un mécanisme important de défense développé par les bactéries, composés de deux grandes régions : le locus CRISPR, constitué d'unités repeat-spacer et l'opéron cas, en amont de ce locus. Streptococcus agalactiae, pathogène humain majeur, possède un système de type II-A, composé des gènes cas9, cas1, cas2 et csn2. Des travaux préliminaires ont montré que les souches appartenant au ST17, considérées comme étant hypervirulentes au sein de l'espèce, possèdent significativement moins de spacers que les souches des autres lignées. Ce nombre limité de spacers pourrait être expliqué par un système CRISPR/Cas peu ou pas fonctionnel chez ces souches.

Matériel et méthodes :

Les séquences du locus CRISPR-Cas et de son environnement génétique ont été comparées à l'aide de l'outil Blastn sur un panel d'environ 300 souches. Puis, l'activité du promoteur de l'opéron cas a été mesurée par fusion transcriptionnelle, avant d'étudier l'expression de cas9 par PCR quantitative en temps réel. Enfin, la fonctionnalité des systèmes a été testée par des expériences d'interférence.

Résultats :

L'alignement des séquences de la région promotrice en amont de l'opéron cas a mis en évidence une délétion de 103pb chez les souches de ST17, entrainant la disparition du promoteur de l'opéron cas. L'analyse par fusion transcriptionnelle confirme l'absence d'activité de ce promoteur chez ces souches, corroborée par l'analyse par RT-qPCR, qui montre une expression très faible de cas9, à la limite de la détection. Malgré ces observations, les expériences d'interférence ont montré que le système CRISPR/Cas des souches de ST17 est toujours capable de reconnaître et de cliver une séquence étrangère, complémentaire d'un spacer déjà présent au sein du locus CRISPR.

Conclusion :

Nous avons montré que le promoteur de l'opéron cas est délété et inactif chez les souches de S. agalactiae de ST17, impactant l'expression des gènes cas. Cependant, la capacité de défense du système, vis-à-vis d'un spacer déjà intégré dans le locus CRISPR, semble intacte. Nous envisageons par la suite de challenger les souches, par l'intermédiaire de phages ou de plasmides, pour étudier la capacité d'acquisition de nouveaux spacers et ainsi conclure sur la fonctionnalité du système CRISPR/Cas de S. agalactiae dans son ensemble

L'auto-prélèvement urinaire proposé comme alternative au frottis cervico-utérin

C. Lefeuvre1, A. Pivert1, P. Veillon1, C. Carreau1, M. Gasté1, L. Giet1, V. Tourrel1, AS. Le Duc Banaszuk2, F. Lunel Fabiani1, A. Ducancelle1

1 Laboratoire de Virologie, Institut de Biologie en Santé, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49000 Angers, France

2 Cap Santé 49 ; structure de gestion des dépistages des cancers du sein, colorectal, et col de l'utérus, 49000 Angers, France

Introduction :

En France, le dépistage du cancer du col utérin (CCU) repose sur la réalisation d'un frottis cervico-utérin (FCU) tous les 3 ans pour les femmes de 25 à 65 ans après 2 FCU normaux espacés de 1 an. Malgré des campagnes et des courriers d'incitation au FCU, un tiers des femmes ne participe pas à ce dépistage.

Dans l'objectif d'augmenter la couverture de dépistage du CCU en Maine-et-Loire, des études pilotes (CapU1, CapU2) ont été menées afin de proposer une recherche des Papillomavirus Humains (HPV) dans les urines. En collaboration avec Cap Santé 49, ces études ont permis de détecter 3 lésions cervicales de haut grade qui ont pu être traitées. Depuis septembre 2016, une 3ème étude, CapU3, a pour objectif d'inviter 13 000 femmes de 35 à 65 ans n'ayant pas répondu aux 4 courriers d'incitation au FCU depuis 7 ans.

Matériel et méthodes :

La recherche des HPV Haut Risque (HR) dans les urines est réalisée par une technique de PCR en temps réel (Anyplex II HPV28 Detection) détectant 19 génotypes HR. Les patientes avec un résultat positif sont invitées à réaliser au plus vite un FCU pour rechercher la présence de lésions cervicales. En cas de test HPV négatif, la réalisation d'un FCU dans un délai de 1 an reste recommandée chez ces femmes qui n'ont pas de suivi gynécologique régulier.

Résultats :

Le taux de réponse provisoire est de 15,6% (783/5008 courriers envoyés), et le taux de participation est de 12,9% (648 prélèvements). Sur les 612 prélèvements analysés, 71 sont positifs pour au moins 1 HPV HR soit 11,6%. Une coinfection par deux ou plus HPV HR a été mise en évidence dans 28% des cas (20/71). Les génotypes 31, 53 ou 66 représentent 40% des infections, souvent en co-infections (17/35). Vingt-six FCU ont été réalisés chez les patientes positives et l'histologie a identifié 3 CIN3 (néoplasie cervicale intraépithéliale de grade 3), 1 CIN2 et 1 CIN1.

Conclusion :

Le prélèvement d'urine pour la recherche d'HPV, non invasif et ne nécessitant pas d'assistance médicale pourrait être une alternative chez les femmes réticentes au FCU. Sur les premiers résultats cytologiques et histologiques, 5 lésions du col de l'utérus dont 2 lésions de haut grade ont été identifiées suite à un test HPV urinaire positif.

Transduction des HepaRG par la technologie lentivirale : un nouvel outil innovant de production protéique

Adeline Pivert1, Caroline Lefeuvre1, Cong Tri Tran1, Claude Baillou2, David Durantel3, Hélène Le Guillou-Guillemette1, François Lemoine2, Françoise Lunel-Fabiani1, Alexandra Ducancelle1

(1) Laboratory of Virology, University Hospital & LUNAM University and HIFIH laboratory, UPRES EA 3859, SFR 4208, Angers, France

(2) Sorbonne Universités, UPMC/Paris 06, UMR-S INSERM U1135, CNRS ERL 8255, Center d'Immunologie et Maladies Infectieuses (CIMI-Paris) , Paris, France

(3) Cancer Research Center of Lyon (CRCL), INSERM, U1052, CNRS, University of Lyon, UMR_5286, LabEx DEVweCAN, Lyon, FranceKey words: HepaRG cells; transduction; lentiviral vectors; GFP

Introduction :

Il existe actuellement un manque d'outils in vitro simples et efficaces pour l'étude des affections hépatiques en lien avec les virus des hépatites. De plus, certains virus hépatotropes comme le VHB, ne sont pas cultivables ce qui complique l'étude de la biologie de ces virus. Récemment, une lignée hépatocytaire non cancéreuse a été développée et a permis de grandes avancées dans la compréhension de certains mécanismes cellulaires en lien avec l'infection virale.

Matériel et méthodes :

Afin d'améliorer les connaissances sur l'implication des protéines du VHB dans la fibrose hépatique, nous avons mis au point un outil de transduction des HepaRG en utilisant la technologie lentivirale. Dans un premier temps, nous avons validé ce modèle en utilisant le gène de la GFP afin de pouvoir facilement vérifier l'efficacité de la transduction des HepaRG, l'expression de la protéine d'intérêt et la stabilité de la production protéique dans le temps.

Résultats :

Nous avons montré par plusieurs techniques de titration que notre modèle était fonctionnel, notamment en quantifiant l'ADN proviral intégré dans les cellules transduites. Nous avons également pu vérifier en microscopie électronique et en cytométrie en flux que les séquences codantes portées par le vecteur d'expression de la particule lentivirale étaient bien intégrées dans le génome cellulaire et subissaient les deux étapes de transcription et de traduction. Nous avons également montré que l'expression de la GFP était stable sur plusieurs semaines même après le passage des HepaRG.

Conclusion :

La transduction des HepaRG par des particules lentivirales est efficace, fonctionnelle et stable dans le temps. Cet outil innovant ouvre la voie à de nouvelles études de production protéiques dasn la lignée HepaRG, notamment dans le cadre de l'étude de la physiopathologie du VHB

Etude observationnelle de l'efficacité de la vaccination contre l'hépatite B (HB) commencée dès la naissance et suivi du programme élargi de vaccination comprenant la valence PEV-HB, chez les enfants nés de mère AgHBs positives, dans le district de Tokombéré, Cameroun, étude ANRS 12303.

Pascal Veillon1, Jacques Birguel2, Richard Njouom3, Adeline Pivert1, Alexandra Ducancelle1, Hélène Le Guillou-Guillemette1, Agnès Gautheret4, Thierry Yaouba3, Pierre Amta3, Abdal Deudeu3, Christian Aurenche2, Jean-Pierre Adoukara2, Françoise Lunel-Fabiani1

1Laboratoire Virologie, CHU Angers, 49933 Angers, France ; 2Laboratoire de l'hôpital de Tokombéré, Cameroun ; 3Centre Pasteur du Cameroun, Yaoundé, Cameroun ; 4 Laboratoire de Virologie CHU Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France.

Contexte : La vaccination contre le virus de l'hépatite B (HB) reste le meilleur moyen de se protéger contre ce virus (VHB) qui infecte chroniquement 248 millions de personnes à travers le monde. En Afrique, la prévalence de cette infection peut atteindre jusqu'à 20% de la population selon le pays et l'accès à cette vaccination reste difficile, en particulier au Nord Cameroun, région très pauvre. En Afrique, le risque de transmission du VHB de la mère AgHBs positive à l'enfant (TME) est de 38,3% si la mère est AgHBe+ et de 4,8% si elle AgHBe négatif. Au Cameroun, la prévalence de l'AgHBs va de 5,4 à 25,3% selon les régions. Notre but était d'évaluer une stratégie de lutte contre la TME du VHB dans un hôpital du Nord-Cameroun à Tokombéré par un schéma de vaccination spécifique et d'analyser la cause des échecs en cas de transmission du virus.

Patients et méthodes : Nous réalisons une étude observationnelle de l'efficacité de la vaccination contre le VHB dès le jour de la naissance puis à 6, 10 et 14 semaines. Les femmes enceintes (FE) ont un dépistage du VIH et du VHB (AgHBs Vikia) au 6ème mois de la grossesse. Les FE présentant un AgHBs positif ont été inclues dans cette étude et leurs enfants ont une recherche de l'AgHBs par un test rapide (Vikia) avant leur cinquième année. Une biothèque (sérums et papiers buvards) a été réalisée pour chaque couple (mère/enfant). Pour les mères, la charge virale du VHB est quantifiée (Panther Hologic, seuil de quantification 10 UI/mL) et l'AgHBe est dépisté.

Résultats : 606 couples mère-enfants ont été inclus entre mai 2015 et juillet 2017. Parmi ces 606 enfants, 37 (6,11%) ont un AgHBs détectable. Parmi 251 mères, 56 (22,3%) sont porteuses d'un AgHBe positif pour 58 enfants. Parmi les 37 enfants AgHBs+, nés de 35 FE, 19/20 des mères sont détectées AgHBe+ (95%). La charge virale des FE qui ont transmis le VHB est significativement plus élevée que celle des FE qui n'ont pas transmis le virus, CV = 8,07 ± 1,31 log10 UI/mL [8,91 – 3,00 ; 8,44], n=20 vs. 2,77 ± 2,73 log10 UI/mL [9,17 – 0,70 ; 1,84], n=247 ; P = 1,62E-17. Parmi les 268 CV VHB réalisées, 148 sérums ont une charge virale quantifiée pour 125 FE (55,2%) et 53 (42,2%) de celles-ci sont AgHBe positives. Parmi 37 enfants AgHBs+, seulement 25 (67,6%) ont eu une vaccination complète (injection à la naissance et 3 rappels) sans respecter les délais des différents rappels (0/25) avec seulement 20 enfants qui ont reçu la primo-vaccination le jour de la naissance.

Conclusion : Notre étude montre que malgré une stratégie précoce de vaccination à la naissance, il reste une TME du VHB importante, 6,11%. La cause principale actuellement identifiée est une positivité de l'AgHBe et une très forte virémie chez la mère comme attendu, ainsi qu'un manque de respect des schémas de vaccination.

Discrimination auditive corticale chez les patients avec presbyacousie

Charles Aussedat1,2,3, Elsa Legris1,2,3, Marie Gomot2,3, Sylvie Roux2,3, David Bakhos1,2,3

1- CHU de Tours, service ORL et Chirurgie Cervico-Faciale

Boulevard Tonnellé, 37044 Tours, France

2- INSERM U930, 37044 Tours, France

3- Université François-Rabelais de Tours, CHRU de Tours, UMR-S930, 37044 Tours, France

Introduction : Chez les patients presbyacousiques, les troubles de la compréhension peuvent altérer les interactions sociales. L'amplification par audioprothèses permet de réhabiliter l'altération périphérique de l'audition. La réhabilitation par audioprothèses est parfois inefficace. L'hypothèse d'un trouble de la discrimination corticale a été émise pour expliquer cette inefficacité. La discrimination auditive corticale peut être explorée en utilisant des protocoles de mismatch negativity (MMN) et late discriminative negativity (LDN). L'objectif de cette étude était d'étudier la discrimination auditive corticale dans cette population.

Matériel et méthodes : Douze patients ont été inclus (moyenne d'âge : 75 ans). Les scores d'intelligibilité et de qualité de vie suite à la réhabilitation audioprothétique ont été recueillis. Les potentiels évoqués auditifs corticaux (ondes P1-N1-P2-N2), la MMN et la LDN ont été enregistrés en condition sans et avec audioprothèses.

Résultats : Les latences et amplitudes des ondes P1, N1, P2 et N2 ne différaient pas entre les deux conditions, alors qu'une amélioration significative a été retrouvée sur l'amplitude de la MMN ($p=0.03$) et la LDN ($p=0.01$) en condition avec audioprothèses.

Conclusion : Les amplitudes de la MMN et la LDN sont augmentées en condition avec audioprothèses. La LDN pourrait être explorée chez un échantillon plus important de patients. Cela pourrait permettre de retrouver un marqueur neurophysiologique prédictif de la qualité de la réhabilitation audioprothétique.

NEUROPSYCHIATRIE

NEUROLOGIE

ORL

Revue de l'exhaustivité de la description de l'intervention dans les essais contrôlés randomisés évaluant la rTMS dans la dépression.

Romain Chantebel1, Elsa Tavernier1,2, Adélise Chesneau1, Wissam El Hage1,2, Agnès Caille1,2

1CHU, Tours 2 CIC, Tours

Introduction :

La rTMS est une option thérapeutique innovante dans la dépression. Pour permettre une implémentation en pratique clinique, une description complète des procédures est essentielle dans les rapports des essais. L'objectif de cette thèse est d'évaluer l'exhaustivité de la description de l'intervention dans les essais contrôlés randomisés évaluant la rTMS dans la dépression.

Méthodologie :

Une revue de la littérature a été effectuée pour identifier les essais éligibles jusqu'en août 2016. La qualité de la description a été évaluée dans le texte des articles et dans les sources complémentaires via une version adaptée du TIDieR (Template for Intervention Description and Replication). Les auteurs ont également été contactés par e-mails.

Résultats :

Une sélection systématique a identifié 98 essais rapportant 134 interventions. Aucune intervention n'était complètement décrite dans le texte de l'article ni après la revue des sources de données complémentaires. Après contact des auteurs, 16 interventions (11,9%) étaient complètement décrites. Concernant les items principaux, indispensables à la réplication, 61 interventions (46,0 %) étaient complètement décrites dans le texte des articles. Ce chiffre reste stable après consultation des sources des données complémentaires. Après contact des auteurs, 73 interventions (54%) décrivaient complètement les items principaux dans les articles.

Discussion:

Des données principales manquent dans près de la moitié des descriptions des interventions de rTMS. Une amélioration méthodologique pourrait être obtenue notamment par une approche transdisciplinaire permettant une révision conceptuelle prenant en compte les facteurs de confusion propres à la psychiatrie.

Title: Doctor , I'm too tired. I think it's because I take too many drugs…
(the patient is always right)
Short title: Polypharmacy in a dialysis patient

Authors:
Valeria Columbano (1,2), Bianca Covella (1,3), Valentina Demelas (1), Jean Philippe Coindre (1), Giorgina Barbara Piccoli (1, 5). 1. Nephrologie, Centre Hospitalier le Mans, Le Mans, France 2. Napoli 3. Bari 5. Dipartimento di ScienzeCliniche e Biologiche, Università di Torino, Italia Address for correspondence: Piccoli Giorgina Barbara Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, Italia; Nephrologie, Centre Hospitalierle Mans, Le Mans, France; Avenue Roubillard;72000 Le Mans France. *Acknowledgements: no funding and no conflict of interest for this case report.*

The case

A 65 year old woman, on dialysis since 2001 for a multi-factorial nephropathy, in the context of a maniac depressive psychosis, tells her doctor:

"Doctor, I'm too tired. I think it's because I take too many drugs…"

The patient's medical history is indeed complex: she was treated by lithium for about 20 years (20 to 40 of age), which was discontinued for the presence of CKD, at least partly attributed to lithium therapy; in the last years she has been in a good psychophysics balance, and is an intelligent, independent acculturated woman who lives alone in the French countryside.

She started smoking when she was 19 (30 cigarettes/day) and developed a smoke-related COPD (Chronic obstructive pulmonary disease), eventually also an additional cause in her CKD; she's still an active smoker. She was obese since early adulthood, and arterial hypertension was first diagnosedat age 30; two years later, she was diagnosed with type 2 diabetes mellitus. She was initially treated by oral hypoglycemic drugs, but eventually lost about 20 kilograms, allowing discontinuing antidiabetic drugs.

She underwent thyroidectomy for papillary carcinoma at age 41, and started levothyroxine since them after surgery. Due to progressive reduction of the kidney function she started haemodialysisat age 50.

At age 57 she underwent left hemicolectomy for colon adenocarcinoma, and at age 59 left quadrantectomy followed by radiotherapy for a ductal mammary adenocarcinoma. Over time, she developed severe hyperparathyroidism, needing subtotal parathyroidectomy a 62. Due to the presence of sever scoliosis, and of the development of peripheral neuropathy (clinically evident at age 63), she regularly uses pain-killers. Her blood pressure control is often difficult, needing two-three drugs.

In spite of the heavy co-morbidity, dialysis tolerance is good, dialysis efficiency is high on pre-diluitional haemodiafiltration, four hours, three time a week (Daugirdas 2 Kt/V: 1.78 January -1.59 February, 1.4 Mars).

Her last daily treatment includes: antihypertensive drugs (Aldactone 100 mg, Amlodipine 5 mg, Perindopril 2.5 mg), antipsychotic drugs (Valproic acid 600 mg, Lamotrigine 100 mg), thyroid hormone (Levothyrox 150 µg), vitamin, bicarbonate and calcium supplements (Calcium carbonate1 g, Sodium bicarbonate 500mg, Vit C 500 mg/week, folate 5 mg/week, vitamin D 25-OH 100.000 Units once a month), potassium and phosphate binders (Kayexelate as needed, Sevelamer 2.4 g), Darbopoietin 20 µcg once weekly (recently reduced).

Her last biochemical data are reported in table 1.

The clinical examination reveals a woman in relatively good general condition, with relatively preserved nutritional status (BMI: 24 Kg/m2; Subjective global assessment: A, on the account of the weight stability; Malnutrition inflammation index: 10, revealing moderate signs of malnutrition in the context of high comorbidity; Charlson index was calculated as 9). Beside signs of chronic bronchitis, and a atherosclerotic hearth bruit (2/6) the clinical examination did not lead to any clue for explaining her complaints; arterial blood pressure was 150/90 mmHg, with mild orthostatism (135/80 mmHg), cardiac frequency about 68 bpm.

Cholesterol Crystal Embolism Syndrome in Dialysis Patients: overlooked or underreported?

Valentina DEMELAS1, Giorgina Barbara PICCOLI1

1Service de Néphrologie, CH Le Mans, LE MANS

Introduction : Cholesterol crystal embolism syndrome (CCE) is a potentially severe systemic disease in which emboli of cholesterol crystals, coming from arteriosclerotic aortic plaques, cause the occlusion of small arterial vessels in the affected organ or apparatus, particularly if highly vascularized ones, such as the kidneys or skin. While CCE is increasingly recognized as an important cause of end-stage renal failure, very few cases are reported in chronic dialysis patients.

Methods : The diagnostic criteria of the present study were: skin lesions, inflammatory serologic signs, hypereosinophilic movement (in one case), absence of vascular obstruction at Doppler ultrasound, presence of normal peripheral tissue oxygenation (transcutaneous tension of partial oxygen pressure or TcpO2) and presence of ulcerated plaque at abdominal CT scan (in one patient).

Results : CCE was diagnosed in 2 dialysis patients, a 81 years-old woman and a 84 years-old man, between May and July 2017 (of 100-110 on chronic treatment). Both had severe vasculopathy. Diagnosis was clinical, serological and supported by imaging study. The therapeutic approach consisted of corticosteroids, statins and modification of oral and intra-dialytic anticoagulation.

Conclusion : Since acute or subacute kidney injury is a common part of the CCE syndrome, it is conceivable that the absence of the main target organ masks the signs of CCE in dialysis. Furthermore, the clinical differential diagnosis of distal skin lesions in dialysis is difficult, as it includes a series of different affections, from ischemic lesions to calciphylaxisis, vasculitis, infectious lesions and iatrogenic lesions (in particular by oral anticoagulants).

La Pulsatilité Cérébrale en Ultrasons et en IRM : un nouveau marqueur en neuroimagerie de la biomécanique cérébrale et des lésions cérébrovasculaires ?

Thomas DESMIDT1,2

1 CHU de Tours, France

2 INSERM U930 Tours, France

Introduction : Les progrès récents en neuroimagerie, que ce soit en Ultrasons ou en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), ont permis l'essor de nouvelles méthodes de mesures des propriétés biomécaniques du cerveau, en particulier de la Pulsatilité Cérébrale (PC). Le cerveau se déplace en effet spontanément dans la boite crânienne sous l'influence des pulsations des artères et des propriétés du parenchyme cérébral. Certaines modifications de la PC pourraient constituer des facteurs favorisant certaines lésions du parenchyme cérébral et conduire à la survenue d'anomalies cérébrovasculaires. Notre équipe INSERM U930, en partenariat avec le Geriatric Psychiatry Neuroimaging Lab de Pittsburgh, Etats-Unis, a étudié les modifications de la PC avec l'âge et dans certaines pathologies neuropsychiatriques comme la dépression.

Matériel et méthodes : La PC peut être mesurée par la méthode en Ultrasons de la Tissue Pulsatility Imaging (TPI) développée en particulier au sein de notre unité INSERM 930. Le principe de la TPI est proche de celui du Doppler Trans-crânien à l'exception du mode échographique utilisé, le mode Echo-B, qui permet d'enregistrer environ 10cm3 de parenchyme cérébral avec un niveau de détection de l'ordre du micromètre. Un traitement de signal sophistiqué permet d'extraire un ensemble de mesures relatives à la PC. Nous avons mis en oeuvre la TPI dans plusieurs études impliquant des volontaires sains mais aussi certaines pathologies neuropsychiatriques comme la dépression. La PC peut également être mesurée par IRM et une équipe canadienne a développé une méthode d'extraction de la PC à partir du signal BOLD, méthode que nous avons améliorée en partenariat avec le Geriatric Psychiatry Neuroimaging Lab de Pittsburgh, Etats-Unis, et mise en oeuvre sur une cohorte de sujets âgés dépressifs.

Résultats : Avec l'outil en Ultrasons de la TPI, nous avons montré que la PC diminuait avec l'âge (Desmidt et al, en cours de publication ; Bouazzaoui et al, en cours de révision), qu'elle était négativement corrélée à la présence de lésions de la substance blanche cérébrale (Ternifi et al, 2014), positivement avec le volume cérébral (Desmidt et al, en cours de publication), qu'elle était diminuée chez les patients avec hypotension orthostatique (Biogeau et al, 2017) et qu'elle était augmentée chez les adultes d'âge moyen avec dépression (Desmidt et al, 2017). En outre, une étude en cours dans notre équipe vise à mesurer les changements de la PC pendant la diffusion de protoxyde d'azote dont les propriétés antidépressives ont été montrées récemment. Avec l'outil en IRM, Il a été montré que la PC était augmentée dans la maladie d'Alzheimer et dans la dépression du sujet âgé (Desmidt et al, en cours de publication).

Conclusion : La mesure de la PC en Ultrasons et en IRM pourrait bien constituer un outil innovant et utilisable en pratique clinique pour caractériser la physiopathologie des anomalies vasculaires cérébrales dans la dépression par exemple et fournir à terme des marqueurs pronostics et thérapeutiques fiables et performants.

Biogeau J, Desmidt T, Dujardin P-A, Ternifi R, Eudo C, Vierron E, et al (2017). Ultrasound Tissue Pulsatility Imaging Suggests Impairment in Global Brain Pulsatility and Small Vessels in Elderly Patients with Orthostatic Hypotension. J Stroke Cerebrovasc Dis 26: 246–251.

Desmidt T, Brizard B, Dujardin P-A, Ternifi R, Réméniéras J-P, Patat F, et al (2017). Brain Tissue Pulsatility is Increased in Mid-Life Depression: A Comparative Study using Ultrasound Tissue Pulsatility Imaging. Neuropsychopharmacology

Ternifi R, Cazals X, Desmidt T, Andersson F, Camus V, Cottier J-P, et al (2014). Ultrasound measurements of brain tissue pulsatility correlate with the volume of MRI white-matter hyperintensity. J Cereb Blood Flow Metab 34: 942–944.

Bénéfices de l'implantation cochléaire chez les patients atteints de surdité unilatérale : résultats d'une étude multicentrique

Dorbeau C1, MD; Marx M, MD, PhD2; Galvin J PhD3; Fu QJ PhD3; Legris E1; Bakhos D, MD, PhD1, 4.

(1) CHRU de Tours, service ORL et Chirurgie Cervico-Faciale, boulevard Tonnellé, 37044 Tours, France

(2) CHU Toulouse, Hôpital Purpan, Service d'Otologie-Otoneurologie, Place du Docteur Baylac, 31059 Toulouse

(3) Department of Head and Neck Surgery, David Geffen School of Medicine, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA, USA

(4) Université François-Rabelais de Tours, CHRU de Tours, UMR-S930, Tours, France

Introduction

La perte de la fonction auditive binaurale a des conséquences en termes de localisation sonore, de démasquage binaural et de sommation de la sonie. L'objectif de cette étude était d'analyser les bénéfices suite à la récupération de la fonction binaurale par un implant cochléaire (IC) chez des patients présentant une surdité unilatérale (SU).

Matériel et méthode

Il s'agissait d'une étude prospective multicentrique, 19 patients atteints d'une SU réhabilités depuis au moins un an par IC ont été inclus et comparés à un groupe de 15 normo-entendants (NE).

La localisation sonore était évaluée par un système composé de 12 haut-parleurs, placés à l'arrière du patient, permettant la détermination du Root Mean Square Error (RMSE) score. La discrimination auditive était évaluée en condition diotique et dichotique. Chaque test était réalisé en condition monaurale sans l'IC, puis en condition binaurale avec l'IC. La sévérité des acouphènes et la qualité de vie, étaient évaluées par 3 questionnaires avant, et à un an de l'implantation.

Résultats

Le RMSE moyen pour les patients NE était de 16,9°, et de 61° pour les patients SU en condition monaurale. En condition binaurale, le RMSE était significativement amélioré ($p<0,05$) avec un score moyen de 45,7°. Les scores en condition dichotique étaient significativement améliorés avec l'IC ($p<0,05$). Après un an de réhabilitation par un IC, les patients présentaient une diminution significative de l'intensité des acouphènes ($p<0,05$), et une amélioration significative de la qualité de vie ($p<0,05$).

Conclusion

L'implantation cochléaire, en restaurant la fonction binaurale chez les patients atteints de SU, a permis une amélioration des performances auditives et de la localisation sonore.

U-shaped relationship between serum leptin concentration and cognitive performance in older adults: findings from the SEED study

Guillaume T Duval, MD, MS 1, Cedric Annweiler, MD, PhD 1,2, Dan Milea, MD, PhD 3,4,5,6, Heather E. Whitson, MD, MHS 7,8,9, Ching-Yu Cheng, MD, PhD 3, 4,10, Tien-Yin Wong, MD, PhD 3, 4,10, M. Kamran Ikram, MD, PhD 3,11, Ecosse L. Lamoureux, MD, PhD 3, 4,10, Charumathi Sabanayagam, MD, PhD 3,4,10

1: Department of Neuroscience, Division of Geriatric Medicine, Angers University Hospital; University Memory Clinic of Angers; UPRES EA 4638, University of Angers, UNAM, Angers, France; 2: Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, Ontario, Canada; 3: Singapore Eye Research Institute, Singapore, Singapore; 4: Singapore National Eye Centre, Singapore, Singapore; 5: Duke-NUS, Neuroscience and Behavioural Disorders, Singapore, Singapore; 6: Department of Neuroscience, Division of Ophthalmology, Angers University Hospital, Angers, France; 7: Departments of Medicine and Ophthalmology, Duke University Medical School, Durham, North Carolina, USA; 8: Duke Aging Center, Duke University, Durham, NC, USA; 9: Durham VA Medical Center, Geriatrics Research Education and Clinical Center, Durham, NC, USA; 10: Ophthalmology and Visual Sciences Academic Clinical Program, Duke-NUS, Graduate Medical School, Singapore; 11: Memory Aging & Cognition Centre, National University Health System, Singapore

Background. Despite experimental evidence in favor of an involvement of leptin in brain health and function, previous epidemiological literature could not provide consistent results. The objective of our study was to determine in older community-dwellers whether both lower and higher concentrations of circulating leptin were associated with cognitive disorders, while accounting for all potential confounders.

Methods. Circulating leptin concentration of 1,061 participants (mean, 70.6±6.4y, 41.6% female, mean leptin concentration 12.1±15.5ng/mL) from the Singapore Kidney Eye Study was categorized into quintiles. Cognition was assessed using the Abbreviated Mental Test (AMT). Age, gender, history of smoking and alcohol consumption, education level, body mass index, mean arterial pressure, subjective memory complaint, anxiodepressive disorders, circulating concentrations of glycosylated hemoglobin and low density lipoprotein cholesterol, and estimated glomerular filtration rate were used as potential confounders.

Results. Compared to the highest mean AMT score of 9.1±1.2 met in the intermediate quintile of leptin concentration (Q2), the AMT score was lower in the lowest (Q1) and highest quintiles (Q5): respectively, 8.8±1.6 and 8.2±2.0ng/mL, $P<0.001$. Q1 and Q5 of leptin were inversely associated with the total AMT score (respectively, fully adjusted $\beta=-0.25$, $P=0.028$; fully adjusted $\beta=-0.31$, $P=0.027$). Q1 was not associated with domain-specific cognitive subscores compared to Q3 as a reference. In contrast, Q5 was associated with worse subscores on anterograde and retrograde episodic memories compared to Q3 (respectively, $\beta=-0.09$, $P=0.027$; $\beta=-0.10$, $P=0.021$).

Conclusions. We report a complex U-shaped relationship, with both lower and higher concentrations of leptin being associated with cognitive disorders in older adults in Singapore

Neuroprotective effect of the alpha 7 nicotinic receptor agonist PHA 543613 in an in vivo excitotoxic adult rat model and involvement of heme oxygenase-1

Introduction

Neuroinflammation is a key component of the pathophysiology of neurodegenerative diseases (ND). During chronic neuroinflammation, activated microglial cells produce elements responsible for neuronal death, which in turn stimulates microglial activation. Regulating neuroinflammation represents a challenge in the management of patients affected by ND. The link between nicotine intake and positive outcome has been established, suggesting a role played by nicotinic receptors (nAChRs), especially α7nAChRs. The objective of this study was to evaluate the potential dose effects of PHA 543613, a potential agonist of α7nAChRs, on both neuronal survival and microglial activation in an in vivo neuroinflammatory excitotoxic rat model based on quinolinic acid (QA) intrastriatal injection. The second phase of the study was to assess the participation of an antioxidant enzyme involved in the cholinergic anti-inflammatory pathway, the heme oxygenase-1 (HO-1), in the observed effects.

Materials and methods

A preliminary study was performed in primary cultures of neurons and astrocytes by calcium fluorimetry to confirm PHA 543613 agonist properties on α7nAChRs. In our study, thirthy eight rats were lesioned in the right striatum with QA and received either vehicle or PHA 543613 at 6 or 12mg/kg twice a day until sacrifice at Day 4 post-lesion. The effects of PHA 543613 on microglial activation and neuronal survival were evaluated through [3H]DPA-714 binding (TSPO binding) and immunofluorescence staining (Ox-42, NeuN) on adjacent brain sections. The influence of PHA 543613 12 mg/kg treatment on HO-1 expression was evaluated by western blot quantification. Groups of rats were compared using the Mann-Whitney test and comparisons between the binding in the ipsi-lateral (IL) and contra-lateral (CL) sides were performed using the Wilcoxon one-tailed test. The level of significance was $p<0.05$.

Results

The relative difference in fluorescence was significantly higher for cells incubated with PHA 543613 than for cells incubated with PHA 543613 and α-bungarotoxin, a high-affinity antagonist for nicotinic acetylcholine receptors (58.5 ± 10.3 vs 20.64 ± 5.7%, respectively). The relative difference in TSPO binding in the IL versus CL striatum was significantly lower in the QA-PHA12 group than in the Sham group (731 ± 34% vs 967 ± 64%, respectively) but no significant difference was observed in the QA-PHA6 versus Sham group. PHA 543613 effects on TSPO binding were dose-related in our model. As a result of this finding, we decided to conduct further experiments with the highest dose of PHA 543613 (12 mg/kg). The proportion of activated microglia (Ox-42 positive cells) in the IL striatum of QA-PHA12 rats was significantly lower than in Sham rats (-34%). The number of stained neurons in the IL side was 93% higher in the QA-PHA12 than in the Sham group and the neuronal loss in the IL vs CL striatum was significantly lower in the PHA12 than in the Sham group (44.5 ± 4% and 68 ± 7%, respectively). HO-1 expression in the IL striatum of QA-PHA group, corresponding to the region of interest of our neuroinflammatory excitotoxic rat model, was significantly higher than in the QA-Sham group (+144%). Concerning the overall level of α7nAChR in CL and IL striatum, no significant difference was observed between the animals.

Conclusion

This study reinforces the hypothesis that α7nAChR agonists can provide beneficial effects in the treatment of neurodegenerative diseases through potential modulation of microglial activation. The unilateral intrastriatal injection of QA is admitted as an animal model mimicking the early stages of Huntington's disease and induced a massive inflammatory reaction. The pathways activated following the stimulation of α7nAChR in the brain are poorly understood. The increase of HO-1 expression independently of α7nAChR density seems to underlie the effects observed. These observations reinforce the hypothesis that the cholinergic anti-inflammatory pathway identified in the periphery has a brain counterpart in the central nervous system. Considering that PHA 543613 can target both of the processes involved in most neurodegenerative diseases, α7nAChRs agonists could represent a major therapeutic challenge in neurology.

ETUDE IN VITRO DU CONCEPT RETRONOSE POUR L'ADMINISTRATION D'UN SPRAY A VISEE NASALE

Le Pennec D.1, Regard A.2, Fauritte F.2 et Vecellio L.1

1Université François Rabelais (UFR), CEPR, UMR 1100 - Equipe 3, Tours, France

2Nemera, La Verpillère, France

Introduction :

Pour le traitement des pathologies rhino-sinusiennes, de nombreux dispositifs d'administration de médicaments (aérosol ou spray) sont utilisés. Or le passage de l'aérosol par le nez a des limites, il se dépose majoritairement dans les premiers centimètres des fosses nasales et ne pénètre donc que très peu dans des zones d'intérêt. Il est donc nécessaire d'améliorer les dispositifs de délivrance de médicaments à visée nasale afin d'améliorer l'efficacité thérapeutique.

Un nouveau concept d'administration à visée nasale a été développé et vise à administrer un aérosol de fines particules par voie orale pendant la phase expiratoire du patient (Concept Retronose). Ce concept a été adapté avec un dispositif de type aérosol doseur pressurisé.

L'objectif de cette étude est d'étudier et sélectionner les paramètres optimaux pour le dépôt de l'aérosol dans les cavités nasales.

Matériels et méthode :

Les quantités et la distribution du dépôt de l'aérosol ont été évaluées dans un modèle simplifié de voies aériennes supérieures en fonction de différents paramètres d'administration (débit expiratoire et de profondeur de pénétration de l'embout dans la bouche) et de génération de spray (volume de gaz et angle de spray).

Par la suite, les paramètres permettant un dépôt optimal dans les cavités nasales ont été évalués dans un modèle anatomique représentant les voies aériennes supérieures en fonction trois tailles de particules (3, 12 et 20 µm) et de trois débits expiratoires (30, 60 et 90 L/min).

Le dispositif de type aérosol doseur délivre une dose de 100 µg de principe actif. Le dépôt dans différentes zones anatomiques d'intérêt du modèle a été quantifié le dépôt par dosage spectrophotométrique

Résultats :

La pénétration de l'aérosol dans les cavités nasales est significativement plus importante lorsque le débit expiratoire est à 90 L/min Vs. 30 L/min (41% Vs 26% respectivement) et lorsque l'embout est positionné plus profondément dans la bouche (41% Vs 26%). De plus le dépôt est plus important lorsque le volume de gaz est faible (40µL-38% Vs 90µL-30%).

Ces paramètres ont été sélectionnés et testés dans le modèle anatomique. Les résultats du dépôt dans le modèle en fonction de la taille de particules et du débit expiratoire seront présentés sur le poster.

Conclusion :

A l'issue de cette étude, les paramètres optimaux d'administration et de génération d'aérosol seront connus pour permettre un dépôt ciblé dans les cavités nasales.

Cortical reorganization after cochlear implant activation for adults with single-sided deafness

Authors: E. Legris1, 2; S. Roux1; J. Galvin3; M. Gomot1; J.M. Aoustin2; M. Robier2; M. Marx4; D. Bakhos1, 2

1- Université François-Rabelais de Tours, CHRU de Tours, UMR-S930, Tours, France;

2- ENT department, Tours, France;

3- House Ear Institute, Los Angeles, CA, USA;

4- ENT department, Toulouse, France

Background: Adults with single sided deafness (SSD) experience a loss of binaural function, which is associated with difficulties in sound source localization, poorer speech understanding in noise, and a reduction in quality of life. For SSD patients, restoration of bilateral auditory input is possible only with a cochlear implant (CI). The aim of this study was to investigate cortical reorganization over time after cochlear implantation in order to better understand the effects of restored binaural function.

Method: Nine right-handed adult SSD CI patients participated in the study. Cortical auditory evoked potentials (CAEPs) were recorded before cochlear implantation, and then at 6 and 12 months post-implantation. CAEPs were elicited using speech stimuli (/ba/) delivered in sound field at 70 dBA. The latencies and amplitudes of components P1, N1, P2 and N2 were measured at the central electrode; T-complex waves Na, Ta and Tb in the temporal and mastoid scalp electrodes were also analyzed. Behavioral measures (sentence recognition in quiet and in noise, with and without spatial cues) were collected at the same intervals as for the CAEPs.

Results: At 6 and 12 months post-implantation, a significant increase in the T-complex was observed at the mastoid and temporal sites contralateral to the CI ($p<0.05$). Scalp maps potentials showed contralateral activation on the temporal side of the ear implanted. The increase in T-complex amplitude was correlated with duration of deafness (M2: $r^2 = -0.75$, $p = 0.026$; P8: $r^2 = -0.81$, $p = 0.011$). In the fronto-central electrodes, no significant change was observed for amplitude or latency for P1, N1 and P2 waves. However, there was a significant change in N2 amplitude and latency at 12 months ($p<0.05$). A significant improvement for speech understanding in noise was observed at 12 months when speech was presented to the CI ear and noise to the normal-hearing ear ($p=0.02$).

Conclusion: After cochlear implantation, speech understanding significantly improved when speech and noise were spatially separated. The correlation between T-complex amplitude and duration of deafness highlights the importance of early implantation for SSD patients. The absence and then

restoration of the T-complex and N2 wave before and after cochlear implantation may reflect cortical reorganization and restoration of binaural function in SSD CI patients.

Etude génétique d'une cohorte française de patients atteints de Sclérose Latérale Amyotrophique Sporadique

Sylviane Marouillat1, Céline Brulard1, Catherine Antar1, Rose-Anne Thépault1, Cindy Maurel1, Hélène Blasco1,2, Stéphane Beltran1,3, Philippe Couratier4, Christian Andres1,2, Philippe Corcia1,3, Patrick Vourc'h1,2

1-INSERM U930-Université de Tours, France ; 2-Service de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours, France ; 3-Service de Neurologie et Centre SLA, CHRU de Tours ; 4-Service de Neurologie et Centre SLA, CHRU de Limoges, France.

INTRODUCTION. La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative de l'adulte caractérisée par la mort progressive des neurones moteurs. 5 à 10% des cas de SLA sont familiaux (SLAF), et l'étude de ces familles a conduit à l'implication de plus d'une trentaine de gènes. La part génétique dans l'étiologie des formes sporadiques de SLA (SLAS) reste à préciser.

OBJECTIFS. Notre objectif était d'étudier 31 gènes identifiés dans la SLAF dans une population de 650 patients français atteints de SLAS. Les diagnostics ont été réalisés dans de plusieurs Centres SLA membres du réseau FILSLAN (Filière de Santé Maladies Rares Sclérose Latérale Amyotrophique et Maladies du motoneurone).

METHODES. L'Expansion de répétitions d'hexanucléotides (HRE) dans le gène C9ORF72 a été étudiée par PCR-repeat/Genescan. Les 30 autres gènes de la SLA ont été analysés par séquençage Sanger (3130xl Applied) et Séquençage haut débit (NGS, MiSeq Illumina). Une approche par capture a été utilisée pour le NGS. Les librairies générées, par capture des exons et régions de jonction exon-intron (panel à façon Haloplex, Agilent), ont été qualifiées et quantifiées, séquencées sur MiSeq et analysées par un pipeline informatique développé à Tours (INSERM U930-Centre SLA du CHRU de Tours).

RESULTATS. La cohorte de patients SLAS était constituée à 56% d'hommes et 44% de femmes. L'âge moyen d'apparition des premiers symptômes était de 59 ans. L'étude génétique de cette cohorte a mis en évidence la présence d'une 15aine de mutations hétérozygotes dans plusieurs gènes. Le gène C9ORF72 était muté chez 4,5% des patients ; 20 % d'entre eux rapportaient la présence de troubles comportementaux (démence fronto-temporale, Alzheimer) dans leurs familles. Les gènes SOD1 (1,2%), TARDBP (0,8%) et FUS (0,5%) étaient les autres gènes les plus fréquemment mutés. Plusieurs variations de séquence de fréquences alléliques inférieure à 1% (bases 1000 genomes et ExAC) ont été observées. Leur pathogénicité est en cours d'analyse. De nouvelles mutations non décrites à ce jour ont été identifiées, comme par exemple la mutation p.Y526C du gène FUS chez une femme de 25 ans. Cette mutation dans le dernier codon de la séquence codante était associée à une SLA à début bulbaire et à évolution rapide (Corcia et al., 2017). Nous avons par ailleurs observé chez des patients plusieurs variations de séquence, certaines suggérant un mécanisme bi-génique.

DISCUSSION-CONCLUSION. Les diagnostics moléculaires de la SLA portent majoritairement sur l'étude des cas familiaux. Nous nous sommes intéressés aux formes sporadiques de la maladie. Les informations rapportées ici (fréquences de mutations, etc) dans

la SLAS sont importantes dans le cadre des réflexions au sein de la filière de soin FILSLAN. Nous avons par ailleurs décrit de nouvelles mutations, certaines intéressantes pour des études structure-fonction, et avons montré l'intérêt croissant du NGS dans le diagnostic moléculaire de la SLA.

L'INHIBITION DE LA SUMOYLATION REDUIT LA FORMATION D'AGREGATS TDP43 POSITIFS DANS DES MODELES IN VITRO DE LA SLA

Maurel C (1), Chami A (1), Marouillat S (1), Thépault R-A (1), Brulard C (1), Blasco H (1,2), Corcia P (1,3), Andres C R (1,2), Vourc'h P (1,2)

(1) UMR INSERM U930, Université François-Rabelais, 37032 Tours, France. (2) CHRU de Tours, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, 37044 Tours, France. (3) CHRU de Tours, Service de Neurologie, CHRU de Tours, 37044 Tours, France. Mail : cindy.maurel@etu.univ-tours.fr

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative caractérisée par la présence d'agrégats protéiques dans le cytoplasme des motoneurones en dégénérescence. Elle implique des facteurs génétiques dont les gènes SOD1 et TARDBP. Notre équipe a récemment montré l'implication du mécanisme post-traductionnel de SUMOylation dans la formation des agrégats dans un modèle in vitro surexprimant SOD1 mutée [1]. Ce travail porte sur l'étude du rôle de la voie de SUMOylation dans la formation des agrégats TDP43 positifs, présents chez plus de 90% des patients SLA, qu'ils soient porteurs ou non d'une mutation du gène TARDBP codant TDP43.

Nous avons surexprimé les protéines GFP-TDP43 sauvage (WT) ou GFP-TDP43K136R, mutée pour son unique site de SUMOylation, dans une lignée motoneuronale de souris (NSC34) et dans des motoneurones d'embryons de souris en culture. Les cellules GFP-TDP43WT présentaient, comme attendu, de nombreux agrégats GFP positifs dans le cytoplasme. De manière très intéressante, nous avons observé que les cellules GFP-TDP43K136R présentaient des agrégats nucléaires et non cytoplasmiques. La surexpression de la forme mutée GFP-TDP43K136R était également associée à une neuritogenèse augmentée et à une réduction de toxicité par rapport à la condition TDP43WT. Nous avons ensuite étudié l'effet d'une molécule inhibitrice de l'étape d'activation de la voie de la SUMOylation, l'acide anacardique, sur des cultures NSC34 reproduisant les agrégats caractéristiques de la SLA (surexpression de TDP43WT ou d'un mutant SLA TDP43A315T). Les premiers résultats montrent une réduction d'agrégats dans les cellules traitées avec 25 µM d'acide anacardique.

Ces résultats supportent l'idée d'un rôle de la voie de la SUMOylation dans la régulation du transport nucléo-cytoplasmique de TDP43 et dans la formation des agrégats protéiques cytoplasmiques dans la SLA. Ils font de cette voie une cible thérapeutique intéressante et de l'acide anacardique une molécule d'intérêt pour de futurs travaux dans des modèles in vivo de SLA.

[1] A. Dangoumau et al., "Inhibition of Pathogenic Mutant SOD1 Aggregation in Cultured Motor Neuronal Cells by Prevention of Its SUMOylation on Lysine 75," Neurodegener. Dis., Nov. 2015.

Mots-clefs : TDP43, agrégats, SUMO Financements : ARSLA, projet européen STRENGH

Profils métabolomiques et lipidomiques d'une fraction purifiée combinant mitochondries et réticulum endoplasmique de fibroblastes humains

Metabolomics and lipidomics profiling of a combined mitochondrial plus endoplasmic reticulum fraction of human fibroblasts: a robust tool for clinical studies

Charlotte VEYRAT-DUREBEX1,2, Cinzia BOCCA2, Stéphanie CHUPIN1, Judith KOUASSI NZOUGHET2, Gilles SIMARD1, Guy LENAERS2, Pascal REYNIER1,2, Hélène BLASCO2,3,4

1Département de Biochimie et Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Angers, 2Equipe Mitolab, Institut MITOVASC, UMR CNRS 6015, INSERM 1083, Université d'Angers, Angers, 3Université François-Rabelais, INSERM U930, Tours, 4Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours, Tours

charlotte.veyratdurebex@chu-angers.fr

Abstract

Mitochondria and endoplasmic reticulum (ER) are physically and functionally connected. This close interaction, via mitochondria-associated membranes, is increasingly explored and supports the importance of studying these two organelles as a whole. Metabolomics and lipidomics are powerful approaches for the exploration of metabolic pathways that may be useful to provide deeper information on these organelles functions, dysfunctions and interactions. Here, we developed a quick and simple experimental procedure for the purification of a mitochondria-ER fraction from human fibroblasts. We applied combined metabolomics and lipidomics analyses by mass spectrometry with an excellent reproducibility. Seventy two metabolites and 418 complex lipids were detected with a mean coefficient of variation around 12 % among which many specific of the mitochondrial metabolism. Thus this strategy based on robust mitochondria-ER extraction and "omics" combination will be useful for investigating the pathophysiology of complex diseases

Signature lipidomique du liquide céphalo-rachidien de patients atteints de Sclérose Latérale Amyotrophique

Lipidomics reveals cerebrospinal-fluid signatures of ALS

*Hélène BLASCO1,2,3, Charlotte VEYRAT-DUREBEX3,4, Cinzia BOCCA4, Franck PATIN1,2, Patrick VOURC'H1,2, Judith KOUASSI NZOUGHET4, Guy LENAERS4, Christian R ANDRES1,2, Gilles SIMARD3,5, Philippe CORCIA*1,6,7, Pascal REYNIER*3,4*

1Université François-Rabelais, INSERM U930, Tours, 2Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire, CHRU de Tours, Tours, 3Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, 4Institut MITOVASC, UMR CNRS6015-INSERM1083, Université d'Angers, Angers, 5INSERM U1063, Université d'Angers, Angers, 6Centre de Ressources et de Compétences SLA, Service de Neurologie, CHRU Bretonneau, Tours, 7Fédération des CRCSLA Tours et Limoges, LITORALS

**Equal contribution*

charlotte.veyratdurebex@chu-angers.fr

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), the commonest adult-onset motor neuron disorder, is characterized by a survival span of only 2-5 years after onset. Relevant biomarkers would provide powerful tools for the management of ALS. The main objective of this study was to investigate the cerebrospinal fluid (CSF) lipidomic signature of ALS patients by mass spectrometry to evaluate the diagnostic and predictive values of the profile.

We showed that ALS patients (n=40) displayed a highly significant specific CSF lipidomic signature compared to controls (n=45). Phosphatidylcholine PC(36:4), higher in ALS patients (p=0.0003) was the strongest biomarker, and ceramides and glucosylceramides were also highly relevant. Analysis of targeted lipids in the brain cortex of ALS mouse model confirmed the role of some discriminant lipids such as PC. We also obtained good models for predicting the variation of the ALSFRS-r score from the lipidome baseline, with an accuracy of 71% in an independent set of patients. Significant predictions of clinical evolution were found to be correlated to sphingomyelins and triglycerides with long-chain fatty acids. Our study, which shows extensive lipid remodelling in the CSF of ALS patients, provides new biomarkers of the disease and its evolution with good predictive performance

Implication du récepteur GABAB dans la déficience intellectuelle : identification d'une nouvelle mutation de novo dans le gène GABBR2 par Whole Exome Sequencing.

Marie-Laure Vuillaume 1, 2, Médéric Jeanne 1, 2, Sophie Blesson 1, Anne-Sophie Denommé-Pichon3,4, Lie Xue 5, Servane Alirol 2, Céline Brulard 2,6, Estelle Colin3,4, Bertrand Isidor7,8, Brigitte Gilbert-Dussardier9, Sylvie Odent 10,11, Philippe Parent 12, Audrey Donnart13, Richard Redon13, Stéphane Bézieau7,14, Philippe Rondard 5, Frédéric Laumonnier 1, 2, Annick Toutain 1, 2

1 Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, 2 Boulevard Tonnellé, 37044 Tours cedex 9, France
2 UMR INSERM 930, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France 3 Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France 4 UMR INSERM 1083 - CNRS 6015, Faculté de Médecine, 2 rue Haute de Reculée, 49045 Angers cedex, France 5 Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF), CNRS UMR5203 - INSERM U1191, Université de Montpellier - Montpellier - France 6 Plateforme Biologie Moléculaire des Cancers, Centre Hospitalier Universitaire, 2 Boulevard Tonnellé, 37044 Tours cedex 9, France 7 Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, 9 quai Moncousu, 44093 Nantes Cedex 1, France 8 INSERM, UMR-S 1238, 1 Rue Gaston Veil, 44035 Nantes, France 9 Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, BP577, 86021 Poitiers, France
10 Service de Génétique Clinique, Centre Hospitalier Universitaire, 16 Boulevard de Bulgarie, 35203 Rennes, France
11 CNRS UMR 6290 IGDR, Université de Rennes1, Faculté de médecine, rue Henri Le Guilloux, Rennes
12 Génétique médicale, Centre Hospitalier Universitaire, 29609 Brest, France 13 INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, l'institut du thorax, Nantes, F-44000 France 14 CRCINA, Inserm, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, France.

L’acide γ-aminobutyrique, GABA, est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central, chez l’homme, à l’âge adulte. Ce neurotransmetteur active les récepteurs ionotropes, GABAA, et métabotropes, GABAB. Le récepteur GABAB est formé de deux sous-unités GABAB1 et GABAB2 qui s’hétérodimérisent. En conditions normales, la liaison du neurotransmetteur GABA au domaine extracellulaire « Venus fly trap » de la sous-unité GABAB1 entraîne un changement de conformation du récepteur puis le recrutement et l’activation des protéines G et des voies de signalisation en aval responsables de l’inhibition neuronale. Certains modulateurs allostériques synthétiques peuvent également se lier au domaine transmembranaire de la sous-unité GABAB2 et potentialiser l’effet du neurotransmetteur GABA augmentant ainsi l’inhibition neuronale. Jusqu’à présent, la majorité des anomalies génétiques du système GABAergique ont été retrouvées au niveau du récepteur ionotrope GABAA. Récemment, trois mutations faux-sens, de novo, ont été identifiées dans le récepteur GABAB au niveau de la sous-unité GABAB2 codée par le gène GABBR2. Deux de ces mutations, situées au niveau du 6ème domaine transmembranaire de la sous-unité GABAB2, ont été rapportées chez deux enfants présentant une encéphalopathie épileptique. Une mutation récurrente localisée au niveau du 3ème domaine transmembranaire a également été rapportée chez 5 patients présentant un phénotype de type Rett sans épilepsie. Certains auteurs ont suggéré que la sévérité du phénotype serait corrélée à l’impact de la mutation sur l’activité du récepteur. Nous avons identifié, par séquençage de l’exome, une nouvelle mutation faux-sens, de novo, dans le gène GABBR2, située dans le 6ème domaine transmembranaire de la sous-unité GABAB2 et retrouvée chez une patiente présentant une déficience intellectuelle sévère sans épilepsie. Cette mutation, c.2119G>A, p.(Ala707Thr), absente dans les bases de données contrôles (Gnomad, Exac, dbSNP), affecte un nucléotide et un acide aminé très conservés et est prédite pathogène par les logiciels de prédiction in silico (SIFT, Mutation Taster, Polyphen 2). Du fait de sa localisation, elle pourrait perturber la liaison du récepteur aux modulateurs allostériques et entraîner un défaut de signalisation en aval du récepteur. Afin d’élucider son mécanisme d’action et son impact sur l’activité du récepteur, nous conduisons actuellement des expériences in vitro en mesurant l’activité du récepteur via des effecteurs secondaires après co-transfection des sous-unités GABAB1 et GABAB2 sauvage et mutées dans des cellules HEK-293. Les premiers résultats de cette étude confirment que les trois mutations précédemment décrites altèrent l’activation du récepteur GABAB dans les cellules HEK-293 en présence de GABA. De manière intéressante, ces trois mutations confèrent une forte activité constitutive au récepteur GABAB supérieure à celle observée à l’état sauvage, activité constitutive plus ou moins bloquée par un antagoniste compétitif du GABA, le CGP54626. Notre mutation, quant à elle, semble entraîner un défaut d’expression du récepteur à la fois à la surface membranaire et dans la cellule. Ces résultats confirment le caractère pathogène de ces mutations et leur impact sur l’activité du récepteur. Ils élargissent également le spectre mutationnel de GABBR2 et renforcent l’implication du récepteur GABAB dans la déficience intellectuelle sévère.

REANIMATION

ANESTHESIE

PNEUMOLOGIE

An eye tracking adaptation of the Montreal-Toulouse aphasia test (MT-86) for intensive care patients to evaluate comprehension

Tessa CHARUEL1,2, Antoine PAPAZIAN1,3, Lucille PERSICO1,3, Aurélie AUBREY1, Anouck BAROUGIER1, Stephan EHRMANN1, Laetitia BODET-CONTENTIN1

1Médecine Intensive-Réanimation, CHRU Tours, 2Ecole Orthophonie, Bordeaux, 3Ecole Orthophonie, Tours

Introduction

In intensive-care units, intubated patients, who can't speak and patients unable to designate because of physical weakness are strongly limited for communicating with relatives and caregivers, despite cognitive function which may be preserved. There is a lack of validated tools to assess oral comprehension, adapted to those patients. Outside of the critical care setting the Montreal-Toulouse aphasia test (MT-86) is a validated tool to assess language and communication capabilities. It includes an evaluation of the lexical and syntaxic comprehension. This preliminary study aimed to adapt the oral MT-86 to overcome physical limitations of intensive-care unit patients using eye-tracking technology.

Methods

A simplified version of the comprehension tasks from the MT-86, assessing the receptive lexicon and syntax was used. 47 item slides (2 or 4 pictures) were digitalized and integrated into an 8 minutes automated protocol, presented on a computer screen. The patient's ocular fixation on pictures, when instructed to do so (human voice), was recorded by an eye-tracking device (see Figure, patient instructed to "look at the button"). For patients regaining capability, the MT-86 paper version was performed.

Results

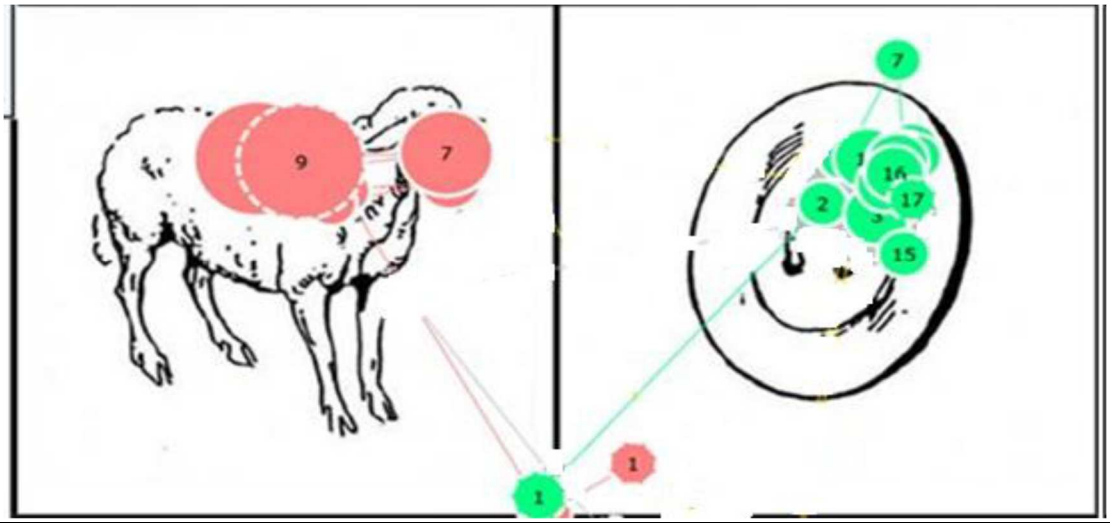
11 control subjects (21-70 years old, 2 men/9 women) were used for device development which enabled to defining the response validation criterion after 3.5 seconds of fixation on the instructed picture. 19 non-intubated patients (12 women/7 men, 24-84 years old) were tested with both versions, and 4 intubated patients with the eye-tracking version. No side effect was noted. 4 types of responses were observed: response validation, sporadic fixation time (no choice), shortened fixation time (low awareness), no fixation.

Two patients interrupted the test in both versions, at the same point, demonstrating the same resource cost from both modalities. The Figure presents 2 patients' ocular fixation (each color corresponds to one patient). Green patient answered successfully and the total fixation duration was the most important for the area of interest "button". Pink patient ocular fixation answered not successfully (phonological distractor).

Conclusion

This study shows feasibility of passing the MT-86 using eyetracking technology among critically ill patients. The tool appeared easy to use thanks to its brevity and automation. Further development may provide intensive care unit healthcare workers with a new device to assess comprehension and attention capacities of patients. This study may provide a new evaluation tool for patients among whom classical tests cannot be conducted.

Figure 1



Outcomes in intensive care randomized controlled trials: interest and limitations of "mechanical ventilation duration" and "ventilator-free days"

Laëtitia BODET-CONTENTIN1, Denis FRASCA1, Elsa TAVERNIER1, Fanny FEUILLET1, Antoine ROQUILLY2, Stephan EHRMANN3, Yohann FOUCHER1, Bruno GIRAUDEAU1

1Equipe INSERM SPHERE U1246, Tours et Nantes, 2 CHU Nantes, 3Médecine Intensive Réanimation, Tours

Introduction

The primary outcome of randomized controlled trials in intensive care was usually "mortality at day 28". However, with reduction of mortality in intensive care units, applying an effective intervention to reduce mortality even more is difficult. Therefore, outcomes related to exposure to mechanical ventilation are used. "Mechanical ventilation duration" (MVD) was first used but raises problems when the mortality is high: the intervention might be considered effective (i.e., reduction of MVD) when actually this reduction is due to increased mortality. "Ventilator-free days" (VFDs) combines mortality and MVD. However, interpreting VFDs is challenging.

Methods

This study collected the different outcomes definitions related to mechanical ventilation used in randomized controlled trials and analyzed the different interpretations of the VFDs outcome and the different approaches for their statistical analysis.

We performed a systematic review of articles published over 10 years and found all definitions for outcomes related to mechanical ventilation and identified the items that needed to be specified to define MVD and VFDs. Then we built an iso-VFDs curve, which illustrated that a VFDs value corresponded to very different combinations in terms of mortality and MVD, using an analytical development. We also used a hypothetical example to compare the student t test, Wilcoxon rank sum (WRS) test and Gray test (which accounts for death as a competing event with extubation) in comparing exposition to mechanical ventilation.

Results

We retained 128 reports. MVD was reported in 105 (82%) articles. In 20 of these articles (19%), the authors detailed how the MVD was calculated, with 9 distinct definitions. VFDs were reported in 55 (43%) articles. In 34 of these (61%), the authors detailed how the VFDs were calculated, with 13 distinct definitions.

A median VFD value of 10 days may mean that 10% of the patients died while survivors were ventilated during a median of 14 days or that 40% died while survivors were ventilated during a median of 5 days.

Changing the time horizon affected the Student t test but not the WRS result. The Gray test was more relevant that both the Student t test and WRS test in identifying differences in group showing highly different MVD, despite equal median VFD.

Conclusion

The review of reports of randomized controlled study of adults in intensive care units, revealing that MVD and/or VFDs are rarely precisely defined and greatly heterogeneous in definition, calls for an international expert-based work to define MVD and VFDs. We showed that parametric (Student t test) and non-parametric (Wilcoxon test) statistical analyses are not adapted to compare mechanical ventilation exposure because mortality competes with extubation. Competitive risk analysis is a more suitable approach and is illustrated.

Regulation of cathepsin V by heparan sulfate :
putative pathophysiological consequences in mucopolysaccharidosis

Thibault Chazeirata, Sergey Samsonovb, François Labarthec, Marine Tardieuc, Florient Mallèvred, Thierry Livached, Ahlame Saïdia, Fuming Zhange, Robert Linhardte, Dieter Brömmef, Gilles Lalmanacha, Fabien Lecaillea
aINSERM, UMR 1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Equipe "Mécanismes protéolytiques dans l'inflammation", Université François Rabelais, Tours, France. bDepartment of Theoretical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Gdansk, Poland. cMédecine Pédiatrique, Hôpital Clocheville, CHRU Tours, France. dChimie de la Reconnaissance et Etudes des Assemblages Biologiques, UMR SPrAM 5819, Institut Nanosciences et Cryogénie, Grenoble, France. eBiocatalysis and Metabolic Engineering Rensselaer Polytechnic Institute Biotech, NY, USA. fDepartment of Oral Biological and Medical Sciences, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Canada.

Introduction:

Mucopolysaccharidoses (MPS) are a rare group of lysosomal storage diseases characterized by the build-up of glycosaminoglycans (GAGs) and severe skeletal abnormalities as well as recurrent problems including respiratory disorders leading in part to early mortality. According to collagen and elastin afford essential support for the parenchymal portions of the lungs, there may be a relationship between the altered collagen/elastin metabolism and reduced lung function in MPS. Cysteine cathepsins (Cat) are lysosomal proteases mainly located in the endosomal / lysosomal compartments. They are also secreted, in particular by alveolar macrophages, and remain active extracellularly. Because of their potent collagenolytic and elastinolytic activities, the contribution of Cat K and S to inflammatory processes has been demonstrated in various pulmonary pathologies (cystic fibrosis, fibrosis, asthma) and bone diseases (osteoporosis, rheumatoid arthritis), making them attractive therapeutic targets [1]. Interestingly Cat V, which is closely related to Cat K and S, exhibits the most potent elastase activity yet described among human proteases. As peculiar GAGs can regulate differently the collagenolytic and elastinolytic activities of Cat S and K, via interactions with positively-charged exosites located outside of the active site of the enzyme [2-3], we investigated the regulation of Cat V by GAGs.

Our main hypothesis is that heparan sulfate (HS), which is found at high concentration in the lung of MPS I, II and III patients may specifically and critically affect the elastin/collagen resorbing activity of Cat V.

Material and Methods:

We determined in vitro 1) the effect of HS accumulation from MPS expectorations on Cat V activity using fluorogenic susbtrates (Z-Phe-Arg-AMC, DQ-gelatin, DQ-elastin), 2) analyzed the molecular and structural basis of the inhibition of Cat V by HS (kinetics) as well as the binding interaction (Surface plasmon resonance imaging, molecular modeling) and finally 3) identified an HS antagonist that prevents the inhibition of Cat V by HS.

Results:

We evaluated the capacity of negatively charged GAGs (heparin, heparan sulfate, chondroitin 4/6-sulfates, dermatan sulfate, and hyaluronic acid) to modulate the activity of Cat V. HS (linear polysaccharide, perlecan and dp-2, dp-4, dp-6 derivatives) impair the elastinolytic activity of Cat V. Addition of NaCl restored Cat V activity, supporting the idea that electrostatic interactions are primarly involved. Moreover, HS binds Cat V tightly (Kd = 55±5 nM). Molecular docking predicted a specific binding site of HS within the active site. On the other hand, MPS sputa (type I, II and III) impair Cat V activity in a dose dependent manner. Overall, these results describe a novel glycosaminoglycan-mediated mechanism of Cat V inhibition and suggest that HS may modulate the activity of Cat V in vivo.

Conclusion:

This study highlights for the first time the negative impact of HS on Cat V activity.

References:

[1] D. Brömme & F. Lecaille. Cathepsin K inhibitors for ostoporosis and potential off-target effects. (2009) Expert Opin. Investig. Drugs 18, 1-16.

[2] Z. Li, WS. Hou, D. Brömme. Collagenolytic activity of cathepsin K is specifically modulated by cartilage-resident chondroitin sulfates. (2000) Biochemistry. 39, 529-36.

[3] J. Sage, F. Mallèvre, F. Barbarin-Costes, S. A. Samsonov, J.-P. Gehrcke, M. T. Pisabarro, E. Perrier, S. Schnebert, A. Roget, T. Livache, C. Nizard, G. Lalmanach & F. Lecaille. Binding of chondroitin 4-sulfate to cathepsin S regulates its enzymatic activity. (2013) Biochemistry 37, 6487-6498.

La simulation en santé pour la formation initiale des Infirmiers Anesthésistes.

M.Cormier1, P.Pilloy1, C.Deschamps, Pr.M.Laffon2
1 Ecole IADE du CHRU de Tours, Tours, France
2 Service d'Anesthésie-Réanimation du CHRU de Tours
2Type d'étude: prospective, comparative, aveugle, monocentrique.

Introduction : Face à la gravité et la rareté de certaines complications au cours d'une anesthésie, l'enseignement de la gestion d'évènements rares par le biais de cours magistraux suffit-il à former des futurs professionnels compétents ? L'objectif de notre travail était de déterminer si l'utilisation de la simulation comme outil pédagogique associé au cours magistral, permettrait aux Etudiants Infirmiers Anesthésistes (EIA) d'améliorer leur prise en charge d'événements rares en anesthésie.
Matériel et méthodes : Quinze EIA de première année ont participé sur la base du volontariat. Après deux enseignements magistraux (3 mois et 1 mois avant) sur la prise en charge du choc anaphylactique (CA), ils ont été confrontés à la prise en charge d'un CA de grade trois sur deux séances de simulation de haute fidélité avec deux scénarios différents à un mois d'intervalle. Le premier scénario se déroulait sur un patient en salle de surveillance post-interventionnelle, le second sur un patient anesthésié en post induction. L'évaluation a porté sur le délai de prise en charge du CA (injection d'adrénaline), l'application des recommandations de la SFAR, le nombre d'intervention du facilitateur afin de gérer la situation. Les données ont été relevées et mesurées après relecture des enregistrements vidéo. Les résultats sont exprimés en moyenne ou chiffre.
Résultats : Ils sont résumés dans le tableau.
Conclusion : Entre les deux séances de simulation, on observe une meilleure prise de décision avec initiation de la prise en charge du CA pour 14 des EIA sans l'intervention du facilitateur, une amélioration significative du délai d'administration de l'adrénaline et du respect des recommandations. Malgré un faible effectif, ce travail montre l'importance de la simulation et de sa répétition pour l'apprentissage des futurs IADE.

Effet du mois de naissance sur la masse et la force musculaires chez les personnes âgées vivant à domicile : cohorte française EPIDOS

Antoine Brangier (Angers), Stéphane Walrand (Saint-Étienne), François Herrmann (Genève), Cédric Annweiler (Angers), Guillaume Duval (Angers)

RESUME

Contexte. La vitamine D est impliquée dans le fonctionnement musculaire. Cette relation pourrait commencer dès les premiers stades de la vie pendant la grossesse lorsque la vitamine D du foetus dépend entièrement des réserves de vitamine D de la mère et de l'exposition solaire. L'objectif de cette étude était de déterminer s'il y avait un effet du mois de naissance (Month of Birth: MoB) sur la masse et la force musculaire chez les personnes âgés.

Méthodes. Les données de 7 598 femmes âgées de ≥ 70 ans, vivant à domicile, de la cohorte française EPIDOS multicentrique, ont été utilisées dans cette analyse. La force quadricipitale a été définie comme la valeur moyenne de 3 essais consécutifs de la force de contraction volontaire isométrique maximale du membre inférieur dominant. La masse musculaire a été définie comme la masse appendiculaire totale du muscle squelettique mesurée à l'aide d'un scanner à absorption bi photonique. Le MoB a été utilisée comme une fonction périodique dans les modèles de régression ajustés sur les facteurs de confusion potentiels, y compris l'âge, l'année de naissance, la latitude du centre de recrutement, la saison des tests, l'indice de masse corporelle, le nombre de comorbidités, le score IADL, l'activité physique régulière, l'exposition au soleil à midi , l'apport alimentaire en protéines, l'apport alimentaire en vitamine D, une supplémentation en vitamine D, un antécédent de traitement par corticostéroïdes et un traitement en cours par corticostéroïdes.

Résultats. 7 178 femmes âgées avaient une mesure de la force musculaire (âge moyen 80,5 ± 3,8 ans, force moyenne 160,7 ± 49,8 N). Les données sur l'ASM totale (appendicular skeletal muscle mass) étaient disponibles chez 1 321 femmes recrutées à Toulouse, en France (moyenne 14,86 ± 2,04 kg). Les fonctions sinus et cosinus du MoB ont été associées à la force quadricipitale moyenne (respectivement $\beta = -2,1$ avec $P = 0,045$ et $\beta = -0,5$ avec $P = 0,025$). De plus, la fonction sinusoïdale du MoB était associée à l'ASM totale ($\beta = -0,2$, $P = 0,013$), mais pas à la fonction cosinus ($\beta = 0,1$, $P = 0,092$). La valeur la plus élevée de la force quadricipitale moyenne (moyenne 163,4 ± 20,2 N) et la valeur la plus élevée de l'ASM totale (15,24 ± 1,27 kg) ont été observées chez les participants nés en août.

Conclusions. Les mois de naissance l'été et du début de l'automne ont été associés à une plus grande masse et force musculaire chez les femmes âgées de plus de 70 ans vivant à domicile.

Validation du phénotypage lymphocytaire des lavages broncho-alvéolaires sur cytomètre Aquios®

Camille Humeau[1], François Darrouzain[2], Valérie Gouilleux-Gruart[1].
[1]Laboratoire d'immunologie, Centre régional hospitalo-universitaire de Tours, Tours, France
[2]Laboratoire de pharmacologie-toxicologie, Centre régional hospitalo-universitaire de Tours, Tours, France

Introduction :
Les lavages broncho-alvéolaires (LBA) font partie des examens permettant une orientation dans le diagnostic des pneumopathies interstitielles diffuses. L'étude des sous-populations lymphocytaires par cytométrie en flux dans le LBA entre dans les critères de diagnostic de la sarcoïdose.
Matériel et méthode :
Nous avons étudié la faisabilité de l'immunophénotypage des sous-populations lymphocytaires T sur quarante-cinq LBA avec un nouvel automate : l'Aquios®, cytomètre fermé disposant d'une gestion pleinement automatisée destiné au phénotypage lymphocytaire sur des échantillons sanguins.
Résultats :
Les études de répétabilité et de contamination ont montré des résultats acceptables (coefficients de variation inférieurs à 5% et indices de contamination inférieurs à 1%). Nous avons également comparé l'immunophénotypage des LBA réalisés sur l'Aquios® à celui réalisé avec un cytomètre ouvert : le Navios®. Les coefficients de corrélation r sont proche de 1 sur les paramètres étudiés. Le nombre d'écart de mesure inacceptable est inférieur à 5% et n'affecte pas l'interprétation biologique des résultats indiquant une bonne corrélation entre les deux automates.
Conclusion :
Ces résultats montrent que l'immunophénotypage sur le LBA est réalisable sur l'Aquios®.

Aérosolthérapie anti-Granulocytaire pour le contrôle des pathologies Inflammatoires du Poumon (Projet AGIP)

Emilie DOZ-DEBLAUWE1, Sandrine LE GUELLEC2, 3, Florence CARRERAS1, Yves LE VERN1, Thomas BARRANEK3, Dieudonnée TOGBE4, Bernhard RYFFEL5, Mustapha SI TAHAR3, Nathalie WINTER1.
(1) ISP, UMR 1282 INRA-Université de Tours ; (2) Aerodrug, DTF médical, Tours ; (3) CEPR INSERM UMR1100, Université de Tours ; (4) Artimmune, Orléans ; (5) INEM UMR 7355 CNRS Université d'Orléans

Introduction : Les granulocytes, jouent un rôle prépondérant dans les la tuberculose, la fibrose pulmonaire idiopathique ou le syndrome de détresse respiratoire aigüe, pathologies inflammatoires exacerbées par des infections. Les neutrophiles y sont par exemple rapidement recrutés pour éliminer les germes responsables. Dès lors que le recrutement n'est plus contrôlé, les radicaux oxygénés et les protéases produites détruisent le poumon. Les Myeloid Derived Suppressor Cells (MDSC) sont des granulocytes phénotypiquement très proches des neutrophiles, récemment décrites dans le cancer. Elles suppriment la prolifération et l'activité des lymphocytes T et facilitent la chronicité de l'inflammation. Le projet AGIP avait pour but de décrire les sous populations de granulocytes recrutées dans des modèles murins de pathologies respiratoires inflammatoires et de proposer une stratégie thérapeutique de contrôle par aérosol. La voie aérosol optimise la concentration locale de la molécule thérapeutique dans le tissu pulmonaire et minimise les effets systémiques.
Matériel et méthodes : Des populations et sous-populations de MDSC et de neutrophiles ont été isolées et caractérisées dans des modèles cellulaires in vitro et ex vivo des pathologies étudiées, par cytométrie et par la mise au point d'un test d'immunosuppression. La stratégie thérapeutique ciblait donc les MDSC, par l'ATRA (All trans retinoic acid) ou vitamine A, sélectionné pour sa capacité à dépléter les MDSC et à induire leur différentiation en cellules matures. Des aérosols d'ATRA ont été générés in vitro à l'aide d'un nébuliseur développé au cours du projet utilisant la technologie des tamis vibrants.
Résultats : Les résultats ont montré que l'ATRA est efficace pour détruire les MDSC dérivées in vitro ou isolées ex vivo de poumons de souris y compris après nébulisation.
Conclusion : Ainsi, dans trois modèles murins de pathologies respiratoires qui sont des problèmes majeurs de santé publique, nos travaux démontrent le recrutement complexe de populations de granulocytes phénotypiquement très proches mais fonctionnellement très distinctes. Ils apportent également la preuve de concept que des molécules permettant d'inactiver les MDSC peuvent être nébulisées en gardant leur efficacité. Ceci permet d'envisager des aérosolthérapies ciblées dans le but de détruire les granulocytes délétères pour la réponse immune du poumon.

PERFORMANCES DU SCORE DE WELLS SIMPLIFIÉ DANS LA DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE DE L'EMBOLIE PULMONAIRE : Étude prospective de cohorte (285 patients) dans le service des urgences du CHU de Tours.

Diana PLOSCARU1, Véronique DEROGIS2
1 Assistante Médecine d'Urgence, 2 PH Médecine d'Urgence, Service d'Accueil des Urgences, CHRU TOURS.

Introduction : L'embolie pulmonaire (EP) reste la 3ème cause mondiale de décès cardio-vasculaire (11% à 1 mois). Des scores de probabilité pré-test sont préconisés comme aide au diagnostic en raison du caractère peu fiable des symptômes évocateurs et des résultats des examens complémentaires standards. L'objectif de l'étude est de tester prospectivement les performances du score de Wells simplifié devant toute suspicion d'embolie pulmonaire.
Matériel et méthodes : Étude épidémiologique prospective de cohorte, monocentrique, réalisée dans le service d'accueil des urgences (SAU) du CHU de Tours du 01/05/2016 au 30/04/2017. Pour tout patient admis pour des symptômes évocateurs, le score de Wells simplifié était calculé. La suite de la prise en charge était calquée sur les recommandations de l'European Society of Cardiology, et reprise sur une fiche d'inclusion. Avant analyse des données, tous les comptes-rendus des angioscanners réalisés sur demande du SAU, sur la période d'étude, ont été relus pour limiter les pertes à l'inclusion. Nous avons comparé les performances du score de Wells simplifié aux scores de Wells original et Genève révisé, calculés rétrospectivement, par le test du Chi-2. Les angioscanners réalisés durant l'année précédant la période d'inclusion (01/05/2015-30/04/2016), ont également été relus pour analyse complémentaire.
Résultats : 546 patients éligibles, 285 inclus, âge moyen 58 ans, sexe ratio F/H 1,46. Prévalence de l'EP 15%. 44 EP incluses pour analyse sur 95 EP diagnostiquées sur la période d'étude. Score de Wells simplifié 0-1 pour 77% des patients. Performances du score : Sensibilité = 0,57 [Intervalle de confiance IC 95%, 0,42-0,71], Spécificité = 0,83 [IC 95%, 0,78-0,88], Valeur Prédictive Positive (VPP) = 0,38 [IC 95%, 0,26-0,50], Valeur Prédictive Négative (VPN) = 0,91 [IC 95%, 0,88-O,95]. Le score de Wells simplifié était plus sensible que le Wells original ($p<0.001$) et plus spécifique que le Genève révisé ($p<0.05$), sans différence significative de VPP et VPN. 428 angioscanners ont été réalisés sur la période d'inclusion, depuis introduction d'un protocole diagnostic écrit, retrouvant 92 EP (21%) contre 381 angioscanners réalisés durant l'année précédant l'étude, retrouvant 52 EP (14%). Le nombre d'hospitalisations annuelle via les urgences restait stable sur les 2 années.
Conclusion : Dans notre étude, le score de Wells simplifié est plus sensible que le Wells original et plus spécifique que le score de Genève révisé. Son utilisation reste justifiée dans l'activité quotidienne d'un service d'urgence. L'emploi d'un protocole écrit de prise en charge diagnostique semble majorer l'incidence diagnostique, sans augmenter massivement le nombre d'angioscanners réalisés, en améliorant les pratiques de prise en charge.

Antifibrotic properties of curcumin is associated with an upregulation of peroxisome proliferator-activated receptor- gamma (PPAR-) and cysteine cathepsins

Ahlame Saidi, Mariana Kasabova, Lise Vanderlynden, Mylène Wartenberg, Fabien Lecaille & Gilles Lalmanach

INSERM UMR1100 - Equipe: « Mécanismes Protéolytiques dans l'Inflammation », Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Université François Rabelais, Faculté de Médecine, Tours, France. E-mail: ahlame.saidi@univ-tours.fr

A growing body of evidence supports that cysteine cathepsins play specific functions in lung homeostasis and pathophysiological events such as asthma, cystic fibrosis, silicosis, pulmonary fibrosis or chronic obstructive pulmonary disease (i.e. COPD, including emphysema and chronic bronchitis that is set to become the third leading cause of death worldwide by 2030) (1, 2). Pulmonary fibrosis is depicted by the emergence of scar tissues and formation of fibrotic areas. A progressive and irreversible fibrotic process with a widespread accumulation of differentiated fibroblasts and extracellular matrix components characterizes this interstitial disease. Consequently, an aberrant repair causes the destruction of alveolar architecture and an inexorable decline in pulmonary function (average survival of 3-5 years after diagnosis).

During these last few years we have paid attention to the understanding of the role of cysteine cathepsins (primarily cathepsins B, S, L and K) in fibrotic processes and demonstrated that TGF-β1 induces the secretion of cystatin C (CC) that - in turn - impairs the activity of extracellular cathepsins (3). Also Brömme and al. showed that curcumin (a drug used in traditional Asian medicine) is a potent antifibrotic drug (4). We observed that curcumin induces a down-regulation of alpha smooth muscle actin and of cystatin C, while curcumin up-regulates the transcription and the expression of cathepsins B and L, and restores the "cathepsins/cystatin C balance". As a consequence, collagenolytic activities are promoted leading to a decrease of accumulation of the extracellular matrix. Potential molecular pathways were further examined. We found that curcumin participates to the upregulation of nuclear peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-) and identified functional PPAR- response element-like sequences in cathepsins B and L promoters.

(1) Protean proteases: at the cutting edge in lung diseases? C. Taggart, M.A. Mall, G. Lalmanach, D. Cataldo, A. Ludwig, S. Janciauskiene, S. Meiners, C. Overall, C. Schultz, B. Turk & K.S. Borensztajn (2017) Eur. Resp. J. 49: 1501200 [https://doi.org/10.1183/13993003.01200-2015]

(2) Cysteine cathepsins and cystatins: from ancillary tasks to prominent status in lung diseases. G. Lalmanach, A. Saidi, S. Marchand-Adam, F. Lecaille & M. Kasabova (2015) Biol. Chem. 396, 111-130

(3) Regulation of TGF β1-driven differentiation of human lung fibroblasts: emerging roles of cathepsin B and cystatin C. M. Kasabova, A. Joulin-Giet, F. Lecaille, B.F. Gilmore, S. Marchand-Adam, A. Saidi & G. Lalmanach (2014) J. Biol. Chem. 289, 16239–16251

(4) Antifibrotic effects of curcumin are associated with overexpression of cathepsins K and L in bleomycin treated mice and human fibroblasts. D. Zhang, C. Huang, C. Yang, R.J. Liu, J Wang, J. Nui & D. Brömme (2011) Respir. Res. 12:154. doi: 10.1186/1465-9921-12-154.

Pharmacological cathepsin C inactivation eliminates proteinase 3, the antigen in autoimmune vasculitis

Membrane-bound proteinase 3 (PR3) is the main target antigen of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in granulomatosis with polyangiitis (GPA), a systemic small-vessel vasculitis. Binding of ANCA to membrane PR3 triggers neutrophil activation with the secretion of enzymatically active PR3 and additional granule proteins, thereby contributing to vascular damage. PR3 and related neutrophil serine proteases, are activated from zymogens by the lysosomal cysteine protease cathepsin C (CatC) during neutrophil maturation. We hypothesized that pharmacological inhibition of CatC provides an effective measure to reduce intracellular and membrane-bound PR3 and has therefore implications as a novel therapeutic approach in GPA. We first studied PR3 in neutrophils from 21 patients with Papillon-Lefèvre syndrome (PLS), a genetic form of CatC deficiency. PLS neutrophil lysates showed a largely reduced, but still detectable (0.5-4%) PR3 activity when compared to healthy control cells. The PR3 membrane expression on activated PLS neutrophils was diminished by approximately 80% as shown by flow cytometry. We then explored the effect of a potent cell permeable nitrile CatC inhibitor on PR3 expression in normal neutrophils using a CD34+ hematopoietic stem cell model. Human CD34+ hematopoietic stem cells were treated with a CatC inhibitor during neutrophil differentiation over 10 days. We observed complete abrogation of membrane PR3, cellular PR3 protein and proteolytic PR3 activity whereas neutrophil differentiation was not compromised. Our data suggest that pharmacological CatC inhibition could provide an attractive novel treatment strategy for PR3-ANCA associated autoimmune vasculitis that should be explored further.

Keywords: proteinase 3, cathepsin C, neutrophil, granulomatosis with polyangiitis, Papillon-Lefèvre syndrome

Effet immunomodulateur des protéases du neutrophile sur les cellules NK « Natural-Killer »

Alexandre VALAYER1, Deborah DIAKITE1, Leslie AVEZARD1, Laurie LAJOIE2, Valérie LABAS3, Lucie COMBES-SOIA3, Gilles THIBAULT2, Thomas BARANEK1 et Mustapha Si-tahar1

1. Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Inserm U1100, Université François-Rabelais, Tours; 2. CNRS UMR 7292 Génétique, Immunothérapie, Chimie et Cancer, Université François-Rabelais, CHRU de Tours; 3. INRA, UMR85, Plateforme d'Analyse Intégrative des Biomolécules, Laboratoire de Spectrométrie de Masse, Nouzilly

Introduction :

Au cours d'une infection, la réponse inflammatoire qui est induite, est caractérisée par le recrutement massif de cellules immunitaires ainsi que par des interactions entre ces différents types cellulaires. Un dialogue intercellulaire a notamment été décrit entre les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les cellules Natural-Killer (NK) [1]. Le fonctionnement des cellules NK dépend de l'activité de récepteurs inhibiteurs ou activateurs tel que le NKp46, situés à la surface de ces leucocytes [2]. Par ailleurs, les PNN activés sécrètent de multiples médiateurs solubles tels que des protéases.

L'objectif de ce projet a été de déterminer l'impact de l'activation des PNN sur l'expression des récepteurs présents à la surface des cellules NK.

Matériel et méthodes :

A partir de cellules purifiées du sang périphérique de donneur sains, nous avons analysé l'expression de récepteurs des cellules NK, par cytométrie en flux. Nous avons également, analysé l'action d'une protéase produite par les PNN sur le récepteur recombinant NKp46 par spectrométrie de masse. Finalement, nous avons analysé les capacités fonctionnelles des cellules NK (production d'IFN et dégranulation) après traitement par une protéase du PNN.

Résultats :

Nous avons dans un premier temps montré que la cathepsine G (CG), une sérine-protéase produite par les PNN humains activés, clive le récepteur activateur NKp46 présent à la surface des cellules NK. Ce clivage est spécifique et a des conséquences fonctionnelles majeures car les cellules NK incubées en présence de CG perdent leurs capacités à s'activer en réponse à la stimulation du NKp46. Nous avons également confirmé ces résultats dans des conditions pathologiques en utilisant des expectorations provenant de patients atteints de pathologies inflammatoires pulmonaires dépendantes des PNN ou non.

Conclusion :

Ainsi, cette étude met en évidence un nouveau mécanisme de régulation protéolytique de l'activité des cellules NK par les PNN.