



**HAL**  
open science

# Métabolisme des Monocarbones, Altérations Épigénomiques et Phénotype Métabolique de Méthionine-dépendance dans les Cancers : Aspects Mécanistiques et Applications Cliniques

Abderrahim Oussalah

► **To cite this version:**

Abderrahim Oussalah. Métabolisme des Monocarbones, Altérations Épigénomiques et Phénotype Métabolique de Méthionine-dépendance dans les Cancers : Aspects Mécanistiques et Applications Cliniques. Biochimie, Biologie Moléculaire. École Doctorale BioSE ED 266 - Biologie, Santé, Environnement, 2019. tel-02466123

**HAL Id: tel-02466123**

**<https://hal.science/tel-02466123>**

Submitted on 4 Feb 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.



**UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE**

**BioSE**



**Université de Lorraine**

**École Doctorale BioSE**

**ED 266 – Biologie, Santé, Environnement**

## **Habilitation à Diriger des Recherches**

**Soutenue le 28 novembre 2019 par :**

**Abderrahim OUSSALAH**

**Métabolisme des Monocarbones, Altérations Épigénomiques et  
Phénotype Métabolique de Méthionine-dépendance dans les Cancers :  
Aspects Mécanistiques et Applications Cliniques**

### **Membres du Jury :**

#### **Rapporteurs**

**Professeur Anne BARRIER,**

*Professeur des Universités-Praticien Hospitalier*

**Professeur Claire RODRIGUEZ-LAFRASSE,**

*Professeur des Universités-Praticien Hospitalier*

**Professeur Hervé PUY,**

*Professeur des Universités-Praticien Hospitalier*

Université d'Aix-Marseille

Université de Lyon

Université Paris Diderot Paris 7

#### **Examineurs**

**Professeur Marie-Anne LORIOT,**

*Professeur des Universités-Praticien Hospitalier*

**Professeur Didier PEIFFERT,**

*Professeur des Universités-Praticien Hospitalier*

**Professeur Bruno CHARPENTIER,**

*Professeur des Universités*

**Professeur Jean-Louis GUÉANT,**

*Professeur des Universités-Praticien Hospitalier*

Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité.

Université de Lorraine

Université de Lorraine

Université de Lorraine

**Parrain scientifique : Professeur Jean-Louis GUÉANT**



## Table des matières

<b>1. CURRICULUM VITAE</b> .....	7
1.1. Etat Civil .....	7
1.2. Fonctions.....	7
1.3. Diplômes, certifications et agréments .....	8
1.4. Responsabilités collectives.....	9
1.4.1. Au sein de l'Université .....	9
1.4.2. Au sein de du CHRU de Nancy.....	9
1.4.3. Au sein des Sociétés savantes .....	9
<b>2. PUBLICATIONS</b> .....	11
2.1. Bibliométrie des publications dans des revues indexées (PubMed) .....	11
2.2. Score SIGAPS .....	11
2.3. Synthèse quantitative de l'activité de publication .....	13
<b>3. ACTIVITÉ D'ENSEIGNEMENT</b> .....	15
3.1. Formation à la pédagogie .....	15
3.1.1. Formation personnelle à la pédagogie.....	15
3.1.2. Contribution à la formation pédagogique.....	15
3.2. Quantification de l'activité d'enseignement .....	16
3.3. Détail des activités d'enseignement.....	17
3.3.1. Premier cycle des études de médecine .....	17
3.3.2. Master 1 / Master 2 .....	17
3.3.3. Diplôme d'Études Spécialisées (DES) de Biologie Médicale .....	17
3.3.4. Odontologie – Orthophonie (discipline Biochimie Biologie Moléculaire) .....	18
3.3.5. Diplômes Inter-Universitaires et post-3 <sup>e</sup> cycle des études médicales.....	18
<b>4. ENCADREMENTS</b> .....	19
4.1. Encadrement en Master 1 / Master 2 .....	19
4.2. Co-encadrement en thèse d'université .....	19
4.2.1. Etude comparative des aspects cliniques et physiopathologiques des erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 en fonction de l'âge.....	19
4.2.2. Étude de la Méthionine-Dépendance Induite ou non par le Stress Cellulaire dans la Genèse de Cellules Souches Cancéreuses de Mélanomes, Glioblastomes et Hépatocarcinomes	
21	
4.3. Codirection de thèses d'exercice .....	21
4.4. Encadrement des Internes DES en Biologie Médicale .....	21

4.4.1.	Recherche clinique.....	21
4.4.2.	Politique de publication des Internes de la discipline « Biochimie Biologie Moléculaire » .....	21
4.5.	Aide à la réalisation de travaux de thèses d'exercice (DES d'autres disciplines : Hépatogastroentérologie ; Pédiatrie).....	22
4.6.	Encadrement de travaux de recherche en Pédagogie Médicale .....	23
5.	ACTIVITÉ DE RECHERCHE .....	25
5.1.	Appartenance à une structure de Recherche Labellisée : INSERM UMR_S 1256 (NGERE) 25	
5.1.1.	Recherche fondamentale.....	25
5.1.2.	Recherche translationnelle sur le méthylome dans les maladies rares du métabolisme et le cancer .....	25
5.2.	Collaboration avec d'autres équipes du CHRU impliquant principalement d'autres membres de l'unité INSERM UMR_S 1256.....	25
5.3.	Coordination d'une thématique personnelle de recherche .....	26
5.4.	Contrats de recherche en tant qu'investigateur principal : INSERM, ANR, européens, PHRC nationaux ou régionaux, STIC, essais cliniques.....	26
5.5.	Implication dans les projets transversaux de l'unité INSERM UMR_S 1256 (NGERE).....	27
5.5.1.	Approches en GWAS et EWAS sur les cohortes internationales.....	27
5.5.2.	Projet Européen DIFAMEM .....	28
5.5.3.	Projet ANR NuTTTMeD.....	29
6.	SYNTHÈSE DES TRAVAUX EFFECTUÉS .....	31
6.1.	Marqueurs génomiques pour la prédiction du risque primaire des pathologies .....	31
6.1.1.	Prédicteurs génétiques des phénotypes allergiques .....	31
6.1.2.	Prédicteurs génétiques des phénotypes métaboliques .....	32
6.1.2.1.	Phénylcétonurie.....	32
6.1.2.2.	Métabolisme de la bilirubine .....	35
6.1.2.3.	Métabolisme martial .....	36
6.1.2.4.	Fibrose hépatique au cours de la stéatohépatite non alcoolique .....	37
6.1.3.	Prédicteurs génétiques des pathologies du développement en lien avec le métabolisme des monocarbones .....	38
6.2.	Développement de nouvelles méthodes analytiques pour l'étude de l'épigénome notamment sur les cohortes à faible effectif : « méthode du smoothing des P-values» .....	40
6.3.	Prédicteurs épigénétiques des phénotypes métaboliques complexes : épi-cb/C .....	41
6.4.	Prédicteurs épigénétiques des pathologies cancéreuses .....	42

<b>7. PERSPECTIVES SCIENTIFIQUES</b> .....	45
7.1. Présentation générale du projet de recherche .....	45
7.2. La méthionine dépendance à l'intersection entre le métabolisme des donneurs de méthyle et la cancérogenèse : le projet EpiMet .....	46
7.2.1. Etat de l'art .....	46
7.2.1.1. Métabolisme des monocarbone : cycles de la méthionine et des folates .....	46
7.2.1.2. Méthionine-dépendance des cancers.....	47
7.2.1.3. Altérations épigénétiques : la méthylation de l'ADN et des histones comme épigéniteurs de la cancérogenèse .....	47
7.2.1.4. Les altérations épigénétiques comme évènements déclenchants de la méthionine-dépendance des cellules cancéreuses : le modèle <i>MMACHC</i> .....	48
7.2.1.5. Les altérations de l'épigénome des gènes du métabolisme des monocarbone : une piste majeure de la méthionine-dépendance au cours du cancer .....	49
7.2.2. Données préliminaires générées au sein de l'unité Inserm UMR_S 1256 .....	49
7.2.3. Pertinence, originalité et objectifs .....	50
7.2.4. Méthodologie et techniques mises en œuvre .....	50
7.3. Prédicteurs génétiques et épigénétiques dans le cancer et développement de nouveaux biomarqueurs circulants dans le carcinome hépatocellulaire .....	52
7.3.1. Prédicteurs génétiques du risque de carcinome hépatocellulaire.....	52
7.3.2. Biomarqueurs épigénétiques tissulaires du carcinome hépatocellulaire .....	54
7.3.3. Biomarqueurs épigénétiques circulants du carcinome hépatocellulaire .....	58
7.3.3.1. Protocole <i>SEPT9_CROSS</i> (NCT03311152 ; N° EUDRACT 2017-A01885-48).....	58
7.3.3.2. Protocole <i>SEPT9_SuRV</i> .....	61
7.4. Synthèse du projet et des perspectives de recherche .....	67
<b>8. LISTE DETAILLÉE DES PUBLICATIONS</b> .....	69
8.1. Manuscrits soumis .....	69
8.2. Publications dans les revues indexées (PubMed) .....	70
8.3. Articles didactiques et chapitres de livres .....	77
8.4. Communications orales .....	79
8.5. Conférences sur invitation .....	83
8.6. Communications affichées .....	85
<b>9. RÉFÉRENCES CITÉES DANS LE MÉMOIRE</b> .....	93



## 1. CURRICULUM VITAE

### 1.1. Etat Civil

- **Nom, Prénom** : OUSSALAH Abderrahim
- **Date de naissance** : 24 Novembre 1977
- **Situation de famille** : Marié, 2 enfants
- **Nationalité** : Française
- **Adresse personnelle** : 15, Rue Henri Etienne, 54850, MESSEIN
- **Adresse professionnelle** :
  - Unité INSERM UMR\_S 1256, Faculté de Médecine de Nancy, 9 Avenue de la Forêt de Haye, Bâtiment C, 2<sup>e</sup> étage, 54505 Vandœuvre-lès-Nancy
  - Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire Nutrition, CHRU de Nancy Brabois, Rue du Morvan, 54511, Vandoeuvre-lès-Nancy
- **Courriel** : abderrahim.oussalah@univ-lorraine.fr
- **Téléphone** : +33 6 01 87 94 43

### 1.2. Fonctions

- **Sep. 2014 – en cours** : **Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier**. Laboratoire de Biochimie - Biologie Moléculaire - Nutrition - Métabolisme, CHU de Nancy-Brabois ; Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine ; INSERM UMR\_S 1256.
- **Nov. 2017 – Mai 2018** : **Mobilité post-doctorale à l'Institut des maladies génétiques Imagine** (INSERM UMR\_S 1163, *Human genetics of infectious diseases: Complex predisposition*).
- **Nov. 2011 – Sep. 2014** : **Assistant Hospitalo-Universitaire**. Laboratoire de Biochimie - Biologie Moléculaire - Nutrition - Métabolisme, CHRU de Nancy-Brabois ; Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine ; INSERM UMR\_S 954.
- **Juin 2009 – Nov. 2011** : **Doctorant, Unité INSERM UMR\_S 954**, Université de Lorraine, Faculté de Médecine de Nancy.
- **Mai 2007 – Mai 2009** : **Faisant Fonction d'Interne des Hôpitaux de Nancy**, Service d'Hépatogastroentérologie, CHU de Nancy-Brabois.
- **Nov. 2006 – Avr. 2007** : **Assistanat des Hôpitaux d'Alger**, Faculté de Médecine d'Alger, Service d'Hépatogastroentérologie, CHU d'Alger.
- **Déc. 2002 – Nov. 2006** : **Résidanat (DES) en Hépatogastroentérologie**, Faculté de Médecine d'Alger, Service d'Hépatogastroentérologie, CHU d'Alger.
- **Oct. 2000 – Oct. 2001** : **Internat des Hôpitaux d'Alger**, Faculté de Médecine d'Alger, CHU d'Alger.

- **Sep. 1994 – Sep. 2000 : Externat en médecine**, Faculté de Médecine d'Alger, CHU d'Alger.

### 1.3. Diplômes, certifications et agréments

- 2001 : **Doctorat en médecine générale**, Faculté de Médecine d'Alger.
- 2002 : **Réussite au concours d'internat** (classement : 28<sup>e</sup>/1200).
- 2006 : **Diplôme d'Etudes Spécialisées (DES)** d'Hépatogastroentérologie (Major de promotion), Faculté de Médecine d'Alger.
- 2008 : **Attestation de Formation Spécialisée Approfondie** en Hépatogastroentérologie, Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine.
- 2010 : **Master 2**, Ecole Doctorale BioSE, Université de Lorraine (codirection, Pr. Laurent PEYRIN-BIROULET et Pr. Jean-Louis GUÉANT – INSERM UMRS\_954, NGERE).
- 2011 : **Thèse de Doctorat d'Université**, (*Sciences de la Vie et de la Santé*) (codirection, Pr. Jean-Louis GUÉANT et Pr. Laurent PEYRIN-BIROULET, INSERM UMRS\_954, NGERE).
- 2013 : **DIU de Pédagogie Médicale**, (Direction : Pr. Marc BRAUN, Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine).
- 2013 : **Validation de l'épreuve de Procédure d'Autorisation d'Exercice** (N° RPPS : 10101075546 ; N° d'inscription au Tableau de l'Ordre des Médecins : 54/8907).
- 2017 : **Autorisation d'exercice en Médecine Moléculaire – Génétique et Pharmacologie** avec les mentions « Biochimie Générale et Biochimie Spécialisée » et « Biologie et Génétique Moléculaire » (Commission Nationale de Biologie Médicale).
- 2018 : **Agrément pour la pratique des examens de génétique moléculaire** (N° d'agrément de l'Agence de la Biomédecine : AG17-6174GEN).

## 1.4. Responsabilités collectives

### 1.4.1. Au sein de l'Université

- **Membre du Conseil Scientifique** de la Faculté de Médecine, Université de Lorraine (2015-2019).
- **Membre de la Commission de Prospective Facultaire** (2018-2019) de la Faculté de Médecine de Nancy.
- **Membre de la Commission de Docimologie** de la Faculté de Médecine de Nancy (2014-2019).

### 1.4.2. Au sein de du CHRU de Nancy

- **Membre du Conseil Scientifique** de la Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation (DRCI) du CHU de Nancy – Brabois (2013-2019).
- **Membre du Conseil Scientifique** du Groupement interrégional de recherche clinique et d'innovation Est (GIRCI Est) (2015-2019).

### 1.4.3. Au sein des Sociétés savantes

- **Référent numérique adjoint du DES** pour le Collège Nationale de Biochimie Biologie Moléculaire Médicales (CNBBMM) au sein de la Coordination Nationale des Collèges d'Enseignants en Médecine (CNCEM, Plateforme Nationale des Disciplines).
- **Membre du groupe de travail SIDES** du Collège National de Biochimie et de Biologie Moléculaire Médicale.



## 2. PUBLICATIONS

### 2.1. Bibliométrie des publications dans des revues indexées (PubMed)

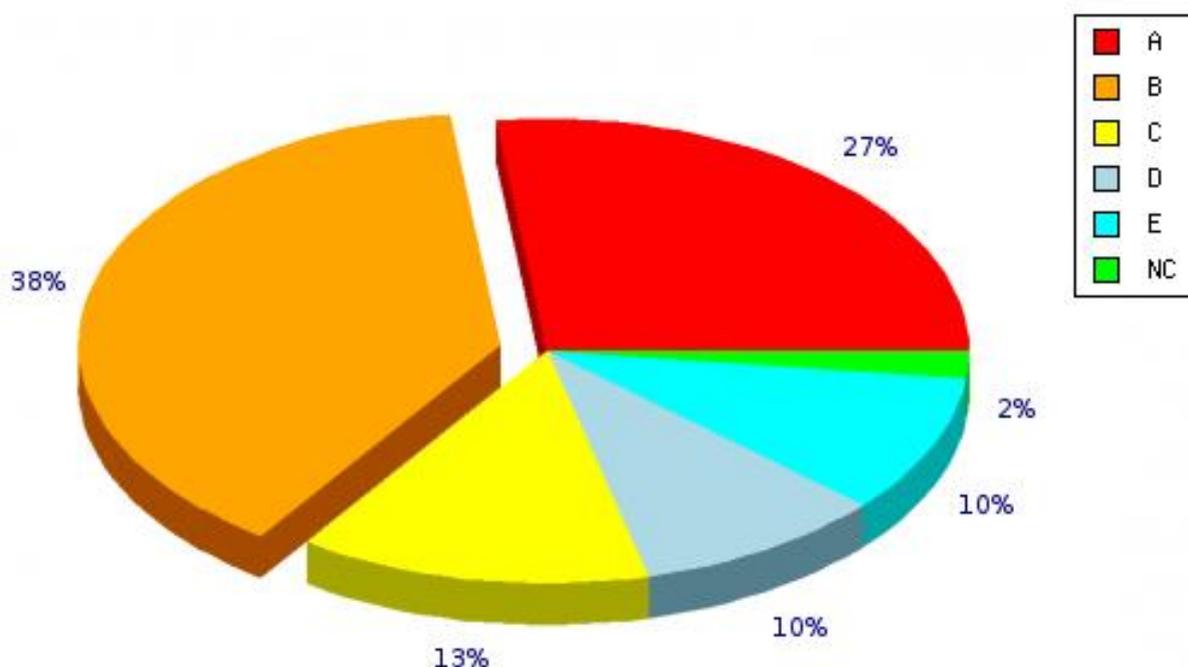
- Nombre de publications entre 2007 et 2019 (PubMed) = 54
- Score SIGAPS = 880
- *h*-index = 23
- URL des publications : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Oussalah+A>

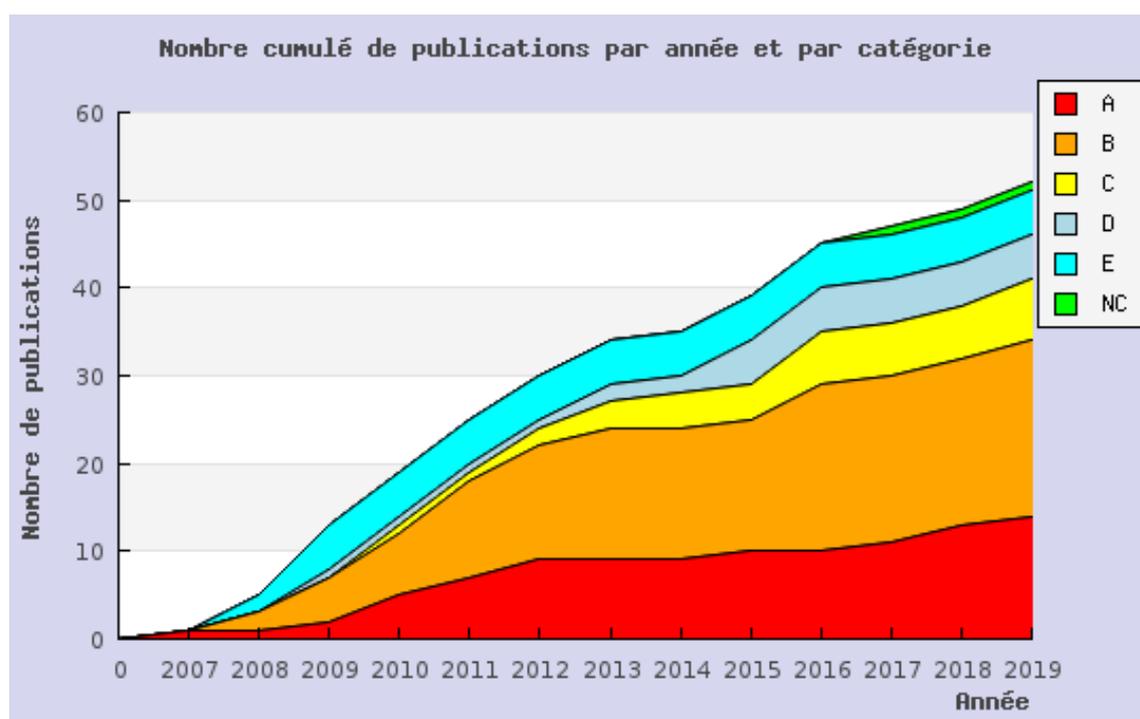
### 2.2. Score SIGAPS

Période : 2007 - 2019

Année	Total	A	B	C	D	E	NC	Score
2007	1	1	0	0	0	0	0	32
2008	4	0	2	0	0	2	0	40
2009	8	1	3	0	1	3	0	109
2010	6	3	2	1	0	0	0	148
2011	6	2	4	0	0	0	0	106
2012	5	2	2	1	0	0	0	92
2013	4	0	2	1	1	0	0	19
2014	1	0	0	1	0	0	0	8
2015	4	1	0	3	0	0	0	56
2016	6	0	4	2	0	0	0	96
2017	2	1	0	0	0	0	1	36
2018	2	2	0	0	0	0	0	48
2019	5	1	3	1	0	0	0	90
<b>Total</b>	<b>54</b>	<b>14</b>	<b>22</b>	<b>10</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>880</b>

Répartition par catégorie





### 2.3. Synthèse quantitative de l'activité de publication

- La liste détaillée des publications est disponible dans le Chapitre 8 « LISTE DÉTAILLÉE DES PUBLICATIONS » en fin de document.

Type de publication	Nombre de publications	Références*
<b>Manuscrits soumis/en révision dans les revues à comité de lecture indexées dans PubMed</b>	<b>6</b>	—
1 <sup>er</sup> auteur	3	1 Accepté 2 Soumis
2 <sup>e</sup> auteur	2	1 Accepté 1 soumis
Dernier auteur	1	Accepté
Auteur correspondant	2	1 Accepté 1 Soumis
Encadrement, Internes	1	Soumis
Encadrement, DIU de pédagogie Médicale	1	Soumis
<b>Publications dans les revues à comité de lecture indexées dans PubMed</b>	<b>51</b>	1-51
1 <sup>er</sup> auteur	21	1, 4, 8-10, 15-19, 21, 28, 37-39, 44-46, 48, 49
2 <sup>e</sup> auteur	10	3, 11-13, 22-24, 40, 42, 43
Dernier auteur	1	27
Auteur correspondant	4	38, 39, 42, 48
Encadrement Internes	1	46, 49
Encadrement DIU de Pédagogie Médicale	1	42
<b>Articles didactiques et chapitres de livres</b>	<b>15</b>	—
Référentiel du Collège de National Biochimie Biologie Moléculaire Médicales (CNBBMM)	4	—
Chapitres de livres et monographies	11	—
<b>Communications orales</b>	<b>13</b>	—
Congrès internationaux	5	—
Congrès nationaux	8	—
<b>Conférences sur invitation</b>	<b>16</b>	—
<b>Communications affichées</b>	<b>48</b>	—

\* Les références sont citées dans le Chapitre 9 « RÉFÉRENCES CITÉES DANS LE MÉMOIRE ».



### **3. ACTIVITÉ D'ENSEIGNEMENT**

#### **3.1. Formation à la pédagogie**

##### **3.1.1. Formation personnelle à la pédagogie**

- J'ai soutenu mon mémoire de DIU de Pédagogie Médicale en 2013 sous la direction du Pr. Marc Braun (Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine).
- 2<sup>e</sup> états généraux de la formation et de la recherche médicales. Communication orale (2014).
- 3<sup>e</sup> états généraux de la formation et de la recherche médicales. Communication orale (2015).

##### **3.1.2. Contribution à la formation pédagogique**

- Participation à l'enseignement DIU de Pédagogie Médicale : 2016-2019.
- Direction de Mémoire de Pédagogie médicale (2 mémoires soutenus en 2017 et 2018).
- Coordination du Parcours qualifiant à la biochimie d'urgence et de première ligne (LABO4354-FORM-0072).

### 3.2. Quantification de l'activité d'enseignement

Score SIAPS 2 = 417 (cf. grille ci-dessous)



Nom : **OUSSALAH** Faculté de Médecine de : **Nancy**  
Prénom : **Abderrahim** Candidature à : **PU-PH**  
Date naissance : **24/11/1977**  
Sous-section : **4401 Biochimie et biologie moléculaire**

Version 5.2 - 02/2019  
D. GOSSET

Année	2009-10	2010-11	2011-12	2012-13	2013-14	2014-15	2015-16	2016-17	2017-18	2018-19	Coefficient	TOTAL
-------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	-------------	-------

#### [1] CHARGES D'ENSEIGNEMENT

[1a] PACES : nb d'heures de cours magistraux	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
[1b] MED2 à MED6 : nb d'heures de cours magistraux	0	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	27
[1c] PACES à MED6 : nb d'heures d'ED	0	0	0	27	24	24	25,5	22,5	13,5	20,5	1	157
[1d] PACES à MED6 : nb d'heures de TP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0
[1e] MED2 à MED6 : nb d'heures en centre de simulation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
[1f] Conférences d'internat au sein de la Faculté de médecine : nombre de conférences	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
[1g] 3 <sup>e</sup> cycle et autres formations médicales (DES, DESC, DU, DIU) : nb d'heures de cours	0	0	0	0	2	0	4	12	15	12	1	45
[1h] Masters, thèses d'université : nb d'heures de cours	0	0	2	2	2	3	5	6	6	9	1	35
[1i] Formations paramédicales facultaires : nb d'heures de cours	0	0	0	0	6	6	6	6	6	6	1	36
[1j] Maïeutique : nb d'heures de cours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0
[1k] Formations paramédicales extra-facultaires : nb d'heures de cours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0
<b>Sous-total [1] CHARGES D'ENSEIGNEMENT</b>												<b>300</b>

#### [2] FORMATION PEDAGOGIQUE

[2a] Possession d'un DU ou DIU de pédagogie, ou équivalent (1=oui)	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	20	20
[2b] Nombre de journées de formation en pédagogie	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1
[2c] Titulaire de la certification SIDES (1=oui)	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3
<b>Sous-total [2] FORMATION PEDAGOGIQUE</b>												<b>24</b>	

#### [3] ACTIVITÉS PÉDAGOGIQUES et SERVICES RENDUS

[3a] Production pédagogique numérique, TICE : nb d'heures de cours (hors mise à jour)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	6
[3b] Publications en pédagogie ou didactique (nombre)	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	4
[3c] Participation à la rédaction d'un polycopié national ou livre (nombre, hors mise à jour)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	10	30
[3d] Participation à une commission pédagogique de la Faculté (nombre)	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	10	40
[3e] Rédaction de sujets d'examen de fin d'année (1 par dossier ou pour 15 QCM)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2
[3f] Responsabilité d'UE 1er ou 2ème cycle études médicales (1 par UE)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0
[3g] Responsabilité d'autre UE (1 par UE)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
[3h] Contributions ECNi validées (Faculté, SIDES) (1 par dossier ou pour 15 QRM)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
[3i] Nombre de copies corrigées	0	0	0	136	0	89	240	256	375	86	0,02	11
<b>Sous-total [3] ACTIVITÉS PÉDAGOGIQUES et SERVICES RENDUS</b>												<b>93</b>

**Score SIAPS ACTIVITÉS** **417**

Le candidat certifie l'exactitude de cette déclaration.

Le Doyen de la Faculté certifie l'exactitude de cette déclaration.

Il atteste être en possession des justificatifs correspondants.

Date : **31/01/2019**

Date :

Signature :

Signature :

### 3.3. Détail des activités d'enseignement

#### 3.3.1. Premier cycle des études de médecine

- **PACES** (Biochimie biologie moléculaire ; Enseignement dirigé, 2012-2019) (**15 h**)
- **FGSM2** : Bases moléculaires des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ; Enseignements dirigés (inflammation, métabolisme martial, protéines (2012-2019) (**8 h**).

#### 3.3.2. Master 1 / Master 2

- **UE de M1** : Bases moléculaires des pathologies (2011-2019) (**4 h**).
- **UE de M1** : Initiation à la Recherche (2011-2019) (**1 h**).
- **UE de M1** : Formation de base à la Recherche Médicale
  - Recherche académique et industrielle : différences, avantages, conflit d'intérêt. Ethique et "Misconduct". (2019) (**1,5 h**)
  - Rédaction d'un article selon les conventions Internationales (2019) (**1 h**)
- **UE de M2 AMIP** : Aspects Moléculaires et Intégrés de la Physiopathologie (AMIP) : Approches pangénomiques analyse génome (2014 – 2018) (**2 h**).
- **UE de M2 BNMQ**, Bioingénierie, Nanosanté, Médicaments, Qualité (BNMQ) : Sepsis voies de signalisations et approches diagnostiques à l'ère des omiques (2018-2019) (**2 h**).

#### 3.3.3. Diplôme d'Études Spécialisées (DES) de Biologie Médicale

- **DES de Biologie Médicale** : Biochimie clinique intégrative (2011-2019).
  - Approches biochimiques dans le diagnostic des grands syndromes en pathologie digestive (**2 h**) ;
  - Bases moléculaires de l'immunité innée et apport des biomarqueurs en pathologie infectieuse (**2 h**) ;
  - Médecine génomique : principes du diagnostic moléculaire à l'ère du séquençage haut débit (**2 h**) ;
  - Approches biochimiques dans le diagnostic des affections rénales (**2 h**).
- **Parcours qualifiant de Biochimie d'Urgence et de Première Ligne** (2016 – 2019).

- Approche du patient avec une perturbation du bilan hydroélectrolytique et phosphocalcique (2 h).
- Approche du patient avec une perturbation des marqueurs digestifs, marqueurs inflammatoires, du sepsis et du bilan martial (2 h).
- Approche du patient avec une perturbation des marqueurs rénaux, cardiaques et pathologies associées (2 h).

#### 3.3.4. Odontologie – Orthophonie (discipline Biochimie Biologie Moléculaire)

- **Faculté d'Odontologie, LSO2/DFGSO3** : Aspects biochimiques de la réaction inflammatoire (2012-2019) (2 h).
- **Ecole d'Orthophonie (L1)** : Biologie moléculaire : notions de base et applications cliniques (2013-2019) (6 h).

#### 3.3.5. Diplômes Inter-Universitaires et post-3<sup>e</sup> cycle des études médicales

- **DIU d'Antibiothérapie** : Apports des biomarqueurs biochimiques en pathologie infectieuse (2016 – 2019) (1 h).
- **DIU de pédagogie Médicale** : La recherche en Pédagogie Médicale ; Réflexion autour de l'évaluation de l'examen oral (2016-2019) (4 h).
- **Atelier Recherche Journée d'accueil des assistants /Séminaire Recherche DUMG** : Le cycle de la recherche (pourquoi publier, demander des financements pour les projets) (2019) (1 h).

## 4. ENCADREMENTS

### 4.1. Encadrement en Master 1 / Master 2

- **Master 1, SIR** : 5 étudiants
  - Liza Hettal (étudiante en FGSM2) en 2015, 100% ;
  - Ines Bachir-Cherif (étudiante en FGSM2) en 2016, 100% ;
  - Sonia Henry (étudiante en FGSM2) en 2017, 100% ;
  - Mehdi El-Azrak (étudiant en FGSM2) en 2018, 100% ;
  - Guillaume Bouffandeau (étudiant en FGSM2) en 2019, 50%.
  
- **Master 2** : 1 étudiant
  - Youssef Sibli en 2019, 50%
  - Master 2 international ; Parcours RNA/Enzymes Sciences ;
  - **Titre** : « *Influence of Radiotherapy as a Cellular Stress Model on the DNA Methylation Pattern of OCM Genes in Cancerous Cell Lines and Its Relationship with Methionine-dependency* » ;
  - **Mots-clés** : métabolisme des monocarbones ; méthionine ; cancer ; méthionine-dépendance ; altérations épigénétiques ;
  - **Financement obtenu** : Projet incitatif UL-pôle BMS 2018.

### 4.2. Co-encadrement en thèse d'université

#### 4.2.1. Etude comparative des aspects cliniques et physiopathologiques des erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 en fonction de l'âge

- Co-encadrement en cours du Dr. Arnaud Wiedemann avec le Professeur Jean-Louis Guéant en direction de thèse.
- Année d'inscription en thèse : 2019.
- Premier article en lien avec la thématique soumis en juin 2019 : Wiedemann A, Coelho D, Flayac J, Gueguen N, Desquiret-Dumas V, Feillet F, Lavigne C, Neau JP, Fowler B, Baumgartner MR, Reynier P, Guéant JL, **Oussalah A (corresponding author)**. *MTHFR* and *POLG* mutations and impaired activity of the mitochondrial respiratory chain in 46-year-old twins with spastic paraparesis. *Submitted*.

### Résumé du projet de thèse soumis à l'école doctorale (2019)

Les erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 présentent une grande variabilité dans ses manifestations cliniques. Cette variabilité peut s'expliquer par l'âge d'apparition des symptômes, les variations génétiques et d'autres critères qui

restent à déterminer. Les erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 sont dues à des mutations affectant une dizaine de gènes impliqués dans l'internalisation de la vitamine B12, son transport au niveau intra-cellulaire (cytoplasmique et mitochondrial) et les deux activités catalytiques qui permettent respectivement la synthèse de méthionine et de succinyl-CoA au niveau cytoplasmique et mitochondrial.

Dans la période néonatale et les premiers mois de la vie, les manifestations liées à la carence en vitamine B12 sont souvent très sévères et se manifestent par des décompensations cardio-métaboliques mettant en jeu le pronostic vital. Dans d'autres cas, la carence en vitamine B12 se manifeste essentiellement par un tableau d'anémie mégaloblastique associée à des troubles neurologiques. Au cours de l'enfance et de la pré-adolescence, ce sont les manifestations neurologiques qui deviennent prédominantes en cas. A l'âge adulte, la carence en vitamine B12 se traduit le plus souvent par des manifestations thrombo-emboliques ainsi que des manifestations neurologiques de type neuropathie périphérique, ataxie, troubles de la mémoire et déclin cognitif accéléré.

L'objet du travail de thèse, qui sera réalisée au sein de l'unité INSERM UMR\_S 1256 (N-GERE : Nutrition, Génétique, Exposition aux Risques Environnementaux) est d'établir une corrélation entre d'une part le génotype du patient et d'autre part le 'phénotype métabolique' et les manifestations cliniques via une revue systématique de la littérature selon les recommandations internationales (MOOSE Guidelines, *Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology*) en ciblant les bases de données PubMed, Embase, Cochrane Database of Systematic Reviews, and ISI Web of Knowledge.

Nous étudierons également à l'échelle cellulaire et moléculaire les conséquences au niveau des mécanismes génomiques et post-génomiques pouvant expliquer la variabilité phénotypique de la carence en vitamine B12. Pour ce faire, nous étudierons des fibroblastes de patients atteints de désordres innés du métabolisme de la vitamine B12 les plus fréquents, à différents âges : *cb1C* type (*methylmalonic aciduria and homocystinuria, MMACHC*), *cb1G* (*homocystinuria megaloblastic anemia, MTR*). Nous réaliserons une approche d'analyse bio-informatique intégrée des données transcriptomiques et protéomiques. Par ailleurs, les modifications post-traductionnelles à type d'homocystéinylation et d'acétylation seront particulièrement prises en compte comme mécanismes possibles de la variabilité phénotypique en fonction de l'âge et du vieillissement.

#### **4.2.2. Étude de la Méthionine-Dépendance Induite ou non par le Stress Cellulaire dans la Genèse de Cellules Souches Cancéreuses de Mélanomes, Glioblastomes et Hépatocarcinomes**

- Co-encadrement prévu de Youssef Siblani avec le Professeur Jean-Louis Guéant en direction de thèse.
- Co-encadrement du Master 2 (50%).
- Année de candidature en thèse d'université : 2019.
- Financements obtenus : Projet incitatif UL-pôle BMS 2018 ; Projet de recherche doctoral Grand-Est 2019.

#### **4.3. Codirection de thèses d'exercice**

- Internes en DES de Biologie médicale (Co-encadrement d'une thèse d'exercice en cours avec les Prs. Jean-Louis Guéant et Rosa-Maria Guéant-Rodriguez ; Julien Levy, DES de Biologie Médicale).
- Internes en Pharmacie (1 thèse soutenue le 12 mai 2016, 50%, codirection, Pr. Leininger-Muller ; Titre : Connaissances des pharmaciens d'officine sur les médicaments liés aux Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales).

#### **4.4. Encadrement des Internes DES en Biologie Médicale**

##### **4.4.1. Recherche clinique**

Les Internes DES-BM affectés au Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire Nutrition peuvent participer à un cursus de formation à la recherche clinique via leur participation au protocole *SEPT9\_CROSS* (Dr. Oussalah, Investigateur principal ; ClinicalTrials.gov Identifier : NCT03311152). Je coordonne l'activité de recherche des Internes tant sur les aspects organisationnels (contact avec les collègues cliniciens en consultation et les services de la Direction de la Recherche) que sur la réalisation de l'activité de recherche (évaluation des dossiers médicaux, évaluation des résultats biologiques et d'imagerie, compréhension du design de l'étude et de la thématique de la recherche).

##### **4.4.2. Politique de publication des Internes de la discipline « Biochimie Biologie Moléculaire »**

Le Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire Nutrition propose une offre de formation théorique à la recherche bibliographique et à la rédaction d'articles scientifiques. L'un des concepts est l'apprentissage à la réalisation de revues systématiques et de méta-analyses.

Dans le cadre du cursus, l'Interne apprend la démarche de la revue systématique selon les recommandations internationales (PRISMA, EQUATOR network). L'Interne DES-BM apprend également les principes de base de la synthèse des données numérique dans le cadre de la méta-analyse. Le travail bibliographique et de synthèse des données est suivi d'une rédaction d'un article scientifique en langue anglaise qui sera soumis à des revues internationales à comité de lecture.

**Neuf Internes DES de Biologie Médicale (caractère gras dans les références ci-dessous) ont déjà participé à ce cursus qui a abouti à la réalisation de trois articles :**

- **Deux articles sont déjà publiés dans des revues classées SIGAPS A :**
  - Oussalah A, **Levy J, Filhine-Trésarrieu P**, Namour F, Guéant JL. Association of TCN2 rs1801198 c.776G>C polymorphism with markers of one-carbon metabolism and related diseases: a systematic review and meta-analysis of genetic association studies. *Am J Clin Nutr.* 2017;106:1142-1156.
  - Oussalah A, **Julien M, Levy J, Hajjar O, Franczak C, Stephan C, Laugel E, Wandzel M, Filhine-Tresarrieu P**, Green R, Guéant JL. Global Burden Related to Nitrous Oxide Exposure in Medical and Recreational Settings: A Systematic Review and Individual Patient Data Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2019 Apr 23;8(4).
- **Un article est en cours de soumission :** « Oussalah A, **Levy J, Berthezène C**, Alpers DH, Guéant JL. Health Outcomes Associated with Vegetarian Diets: An Umbrella Systematic Review of Meta-Analyses ». Les résultats de ce travail ont, par ailleurs, fait l'objet d'une présentation à la commission nutrition de l'Académie Nationale de médecine en Octobre 2018.

#### **4.5. Aide à la réalisation de travaux de thèses d'exercice (DES d'autres disciplines : Hépatogastroentérologie ; Pédiatrie).**

- Audrey Ricou (CHU de Dijon, Université de Dijon) : 'Impact de la composition des formules d'acides aminés sur le statut nutritionnel d'une cohorte de 77 patients atteints de phénylcétonurie : Résultats d'une étude prospective observationnelle réalisée dans le centre de référence des maladies héréditaires et du métabolisme de Nancy'. Thèse soutenue en 2012 (direction, Pr. François Feillet).

- Julie Auger (CHU de Nancy, Faculté de Médecine de Nancy) : 'Syndrome de Turner : analyse de l'évolution de l'âge au diagnostic et description phénotypique et génotypique de 174 patientes'. Thèse soutenue en 2013 (direction, Pr. Bruno Leheup).
- Anne-Laure Seigne (CHU de Nancy, Faculté de Médecine de Nancy) : 'Etude des facteurs pronostiques de survie dans le carcinome hépatocellulaire traité par sorafénib : impact de la surface de graisse viscérale'. Thèse soutenue en 2013 (direction, Pr. Jean-Pierre Bronowicki).

#### 4.6. Encadrement de travaux de recherche en Pédagogie Médicale

- Direction d'un travail de DIU de Pédagogie Médicale : Dr. Eva Feigerlova (MCU-PH) en 2017
  - **Titre** : Predictors of high motivation score for performing research initiation fellowship, Master 1, Research Master 2, and PhD curricula during medical studies: A STROBE-compliant article.
  - **Publication** : Feigerlova E, **Oussalah A (corresponding author)**, Fournier JP, Antonelli A, Hadjadj S, Marechaud R, Guéant JL, Roblot P, Braun M. Predictors of High Motivation Score for Performing Research Initiation Fellowship, Master 1, Research Master 2, and PhD Curricula During Medical Studies: A Strobe-Compliant Article. *Medicine* 2016;95:e2633.
- Direction d'un travail de DIU de Pédagogie Médicale : Dr. Philippe Guerci (MCU-PH) en 2018
  - **Titre** : *Smartphone to-do list application to improve workflow in intensive care unit: a superiority, quasi-experimental study.*
  - **Publication** : Article soumis.



## 5. ACTIVITÉ DE RECHERCHE

### 5.1. Appartenance à une structure de Recherche Labellisée : INSERM UMR\_S 1256 (NGERE)

#### 5.1.1. Recherche fondamentale

- **Méthionine-dépendance (approche combinant analyses in silico et modèles cellulaires) et validation in vitro et in vivo.** Projet doctoral en cours : Projets interne /Crédit CS UL 2018 du Pôle BMS / Projet Région Grand-Est 2019 : « Étude de la méthionine dépendance induite ou non par le stress cellulaire dans la genèse de cellules souches cancéreuses de mélanomes, glioblastomes et hépatocarcinomes ».

#### 5.1.2. Recherche translationnelle sur le méthylome dans les maladies rares du métabolisme et le cancer

- Marqueurs épigénétiques circulants pour le diagnostic précoce et le suivi thérapeutique du carcinome hépatocellulaire chez le patient cirrhotique (Projet *SEPT9\_CROSS*).
- Approches de génomique intégrative (ex. analyses pangénomiques à haut débit, séquençage nouvelle génération, méthylome) dans le cadre de l'évaluation de problématiques liées aux maladies rares du métabolisme.

### 5.2. Collaboration avec d'autres équipes du CHRU impliquant principalement d'autres membres de l'unité INSERM UMR\_S 1256

- **Hépto-Gastroentérologie (Pr. Jean-Pierre BRONOWICKI)**
  - Marqueurs épigénétiques circulants pour le diagnostic précoce et le suivi thérapeutique du carcinome hépatocellulaire chez le patient cirrhotique (Projet *SEPT9\_CROSS* ; ClinicalTrials.gov Identifier : NCT03311152).
- **Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques (Pr. Guillaume GAUCHOTTE)**
  - Projet EpiMet (Méthionine-dépendance ; étude de cohortes).
- **Institut de Cancérologie de Lorraine : Service de Radiothérapie (Dr. Guillaume VOGIN, Pr. Didier PEIFFERT)**
  - Projet EpiMet (Méthionine-dépendance ; approche combinant analyses in silico et modèles cellulaires) et validation in vitro et in vivo. Projet doctoral en cours : Projets interne /Crédit CS UL 2018 du Pôle BMS / Projet Région Grand-Est : « Étude de la méthionine dépendance induite ou non par le stress cellulaire dans la genèse de cellules souches cancéreuses de mélanomes, glioblastomes et hépatocarcinomes ».

### 5.3. Coordination d'une thématique personnelle de recherche

Ma thématique de recherche s'inscrit autour des aspects génomiques et épigénomiques de la cancérogenèse en lien avec les anomalies du métabolisme des monocarbone (INSERM UMR\_S 1256). Dans le cadre de cette thématique le candidat développe des modèles cellulaires permettant d'évaluer les aspects mécanistiques liés à la méthionine dépendance des tumeurs et de leur résistance aux traitements (radiothérapie, chimiothérapie) dans le cadre du projet EpiMet. Les approches expérimentales cellulaires sont complétées par des études de cohortes (INSERM UMR\_S 1256). L'activité de recherche translationnelle du candidat s'inscrit en continuité de la thématique de recherche autour des aspects épigénétiques liées à la transformation cancéreuse. Dans ce sens, je suis investigateur principal du protocole *SEPT9\_CROSS* dont l'objectif consiste à mettre au point et à évaluer un marqueur épigénétique circulant (non invasif) pour le diagnostic précoce du carcinome hépato-cellulaire chez le patient cirrhotique et dont l'essai de faisabilité a fait l'objet d'une publication en rang A (Oussalah A, *et al.* EBioMedicine 2018;30:138-147).<sup>48</sup> L'activité de recherche translationnelle du candidat revêt un aspect structurant de la recherche en lien avec le pôle Digestif du CHRU de Nancy (Hépatogastroentérologie ; Chirurgie digestive, hépatobiliaire, endocrinienne et cancérologique) et le pôle d'Imagerie.

### 5.4. Contrats de recherche en tant qu'investigateur principal : INSERM, ANR, européens, PHRC nationaux ou régionaux, STIC, essais cliniques

- 1) **Protocole *SEPT9\_CROSS*** (Investigateur principal, Dr. A. Oussalah) : *Circulating Cell-free DNA-based Epigenetic Biomarker mSEPT9 for Hepatocellular Carcinoma Detection in Cirrhosis* (ClinicalTrials.gov Identifier : NCT03311152 ; N° EUDRACT 2017-A01885-48 ; budget cumulé : 150.000 EUR).
- 2) **Protocole *SEPT9\_SuRV*** (Investigateur principal, Dr. A. Oussalah) : Évaluation du marqueur épigénétique circulant *mSEPT9* dans la prédiction de survenue du carcinome hépatocellulaire chez le patient cirrhotique : essai prospectif multicentrique. Le projet a été retenu en première évaluation (mai 2019) à l'appel d'offre du PHRCi (groupement de recherche interrégional GIRCI-Est).
- 3) **Projet EpiMet** : Étude de la méthionine dépendance induite ou non par le stress cellulaire dans la genèse de cellules souches cancéreuses de mélanomes, glioblastomes et hépatocarcinomes (Projets Incitatifs 2018\_BMS\_CS\_UL et Contrat Région Grand-Est 2019).

- 4) **Nancy Big Data Cohort (CNIL No. 1763197v0).**<sup>38</sup> La *Nancy Big Data Cohort* est une base de données incluant tous les patients ayant fait l'objet d'une évaluation biochimie dans le Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire Nutrition du CHRU de Nancy depuis 2007. La cohorte est utilisée pour le développement et validation de nouvelles stratégies diagnostiques, thérapeutiques et/ou pronostiques basées sur les biomarqueurs, notamment pour l'évaluation du risque de carcinome hépatocellulaire chez le patient cirrhotique (investigateur principal, Dr. A. Oussalah).

## 5.5. Implication dans les projets transversaux de l'unité INSERM UMR\_S 1256 (NGERE)

### 5.5.1. Approches en GWAS et EWAS sur les cohortes internationales

Dans le cadre de son activité sur les projets d'études pangénomiques (*Genome-wide association studies*) de l'unité INSERM NGERE, le candidat a participé à plusieurs travaux impliquant des collaborations avec des équipes Italiennes et Espagnoles portant sur la Cohorte OASI (Troina, Sicile). Ces collaborations ont porté sur les déterminants génétiques du métabolisme des monocarbone, métabolisme hépatique, métabolisme martial), les allergies aux bêta-lactamines ainsi que les allergies alimentaires. Au sein de ces projets internationaux, j'avais en charge le contrôle des données brutes obtenues sur les différentes puces (ImmunoCHIP®, HumanExome Infinium®), leur analyse bio-informatique et l'interprétation des résultats du point de vue transgénomique. Dans le cadre de l'analyse des données GWAS, l'activité porte sur trois grands volets : 1) contrôles de qualité des données brutes issues des plateformes préalablement à l'analyse des données (contrôle de qualité des données par échantillon et par variant, analyse de la stratification et de la structure de la population étudiée, analyse de descendance, filtration des variants en fonction des hypothèses) ; 2) analyse bio-informatique des données (analyse statistique par variants, analyse des blocs haplotypiques, approche par les collapsing methods (Combined Multivariate and Collapsing, Kernel-Based Adaptive Cluster) permettant l'analyse par gène, annotation fonctionnelle des variants mis en évidence dans les différents modèles génétiques, analyse de réplication) ; 3) étude de la fonctionnalité des variants mis en évidence (modélisation 3D de la protéine dans le cas de variants missense ; validation dans des cohortes cliniques ; modèles cellulaires (fibroblastes) ; modèles animaux).

Plusieurs projets sont actuellement en cours d'analyse, de publication ou ont déjà donné lieu à une publication :

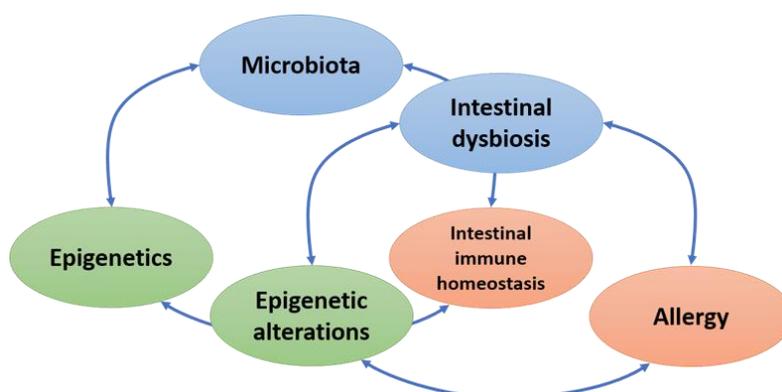
- Déterminants génétiques des allergies aux bêtalactamines [Guéant, *et al.* (2015), *J Allergy Clin Immunol*].<sup>36</sup> Analyse pangénomique de *type genome-wide association study* utilisant une puce Illumina ImmunoCHIP® ; **co-auteur**.
- Déterminants génétiques des allergies aux anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS). Analyse pangénomique de *type genome-wide association study* utilisant une puce Illumina ImmunoCHIP®. Article soumis le 05/06/2019 (Titre de l'article : *GNAI2* variants predict non-steroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity in high-density immune loci genome-wide genotyping) ; **co-auteur**.
- Déterminants génétiques associés à la réponse au traitement par acide folinique et hormone thyroïdienne sur le développement psychomoteur du jeune enfant trisomique 21 dans le cadre de l'essai clinique ACTHYF : données en cours d'analyse avec une perspective de collaboration avec une équipe de santé publique d'Australie sur les procédures spécifiques d'appel de variants sur le chromosome 21 ; **co-auteur**.
- Déterminants génétiques associés à la fibrose hépatique chez les patients présentant une stéatohépatite non-alcoolique. Analyse pangénomique de *type exome-wide association study* utilisant une puce HumanExome Infinium® ; **premier auteur**.

### 5.5.2. Projet Européen DIFAMEM

**Titre détaillé :** *Dietary Intervention in Food Allergy: Microbiome, Epigenetic and Metabolomic interactions*

**Type d'appel d'offre :** ERA HDHL - Nutrition & the Epigenome

Plusieurs travaux ont fait état du lien qui existe entre l'allergie alimentaire et la dysbiose intestinale. Le microbiote intestinal et sa dysfonction pourrait donc représenter dans ce contexte l'élément physiopathologique à



l'interface entre l'environnement et le génome de l'hôte. Les fibres alimentaires peuvent modifier la composition du microbiote intestinal et apporter des bénéfices pour la santé. Par exemple, la pectine peut exercer une régulation immunitaire et prévenir l'asthme allergique chez la souris. L'objectif du projet DIFAMEM est d'investiguer les effets bénéfiques d'une approche thérapeutique de l'allergie alimentaire basée sur l'apport d'un prébiotique comme la pectine. Cette approche peut s'avérer moins risquée en comparaison aux approches basées sur l'immunothérapie. Pour ce faire, le projet DIFAMEM permettra d'évaluer : 1) dans quelle mesure différents types de pectine affecteront la réponse immunitaire en utilisant des modèles murins, 2) l'effet de la pectine chez les patients atteints d'allergie alimentaire, 3) de développer des modèles probabilistes multivariés pour le traitement de l'allergie alimentaire en intégrant les résultats de plusieurs approches omiques incluant la métagénomique, la métabolomique et l'épigénomique. Dans le cadre du projet DIFAMEM, je suis responsable de la Task-force 'Bioinformatic analysis of data from WP6 and WP7' en lien avec l'analyse et l'interprétation des données du méthylome d'ADN dans le cadre de l'approche épigénomique du projet.

### 5.5.3. Projet ANR NuTTTMeD

**Titre détaillé :** Analyse interculturelle intégrative de l'impact des transitions alimentaires sur les facteurs biologiques et socio-économiques qui déterminent le risque de maladie métabolique chez la progéniture de mères obèses

**Type d'appel d'offre :** Agence Nationale de la Recherche

Le projet NuTTTMeD vise à étudier les facteurs biologiques et socioéconomiques liés au risque de maladies métaboliques chez les enfants de mères obèses dans deux populations subissant des niveaux différents de transition alimentaire. Il vise à étudier les interactions entre le métabolisme des monocarbone/énergétique et des marqueurs métaboliques et épigénétiques liés au risque de maladies métaboliques dans des échantillons biologiques de mères françaises et mexicaines et leurs nouveau-nés. Le projet NuTTTMeD sera complété par une étude expérimentale sur un modèle animal d'obésité maternelle afin de déterminer si, et comment, les modifications métaboliques et épigénomiques identifiées altèrent le métabolisme énergétique et peuvent être prévenues ou annulées par une intervention nutritionnelle. Dans le cadre du projet NuTTTMeD, Task-force en lien avec l'analyse et l'interprétation des données du méthylome d'ADN dans le cadre de l'approche épigénomique du projet.

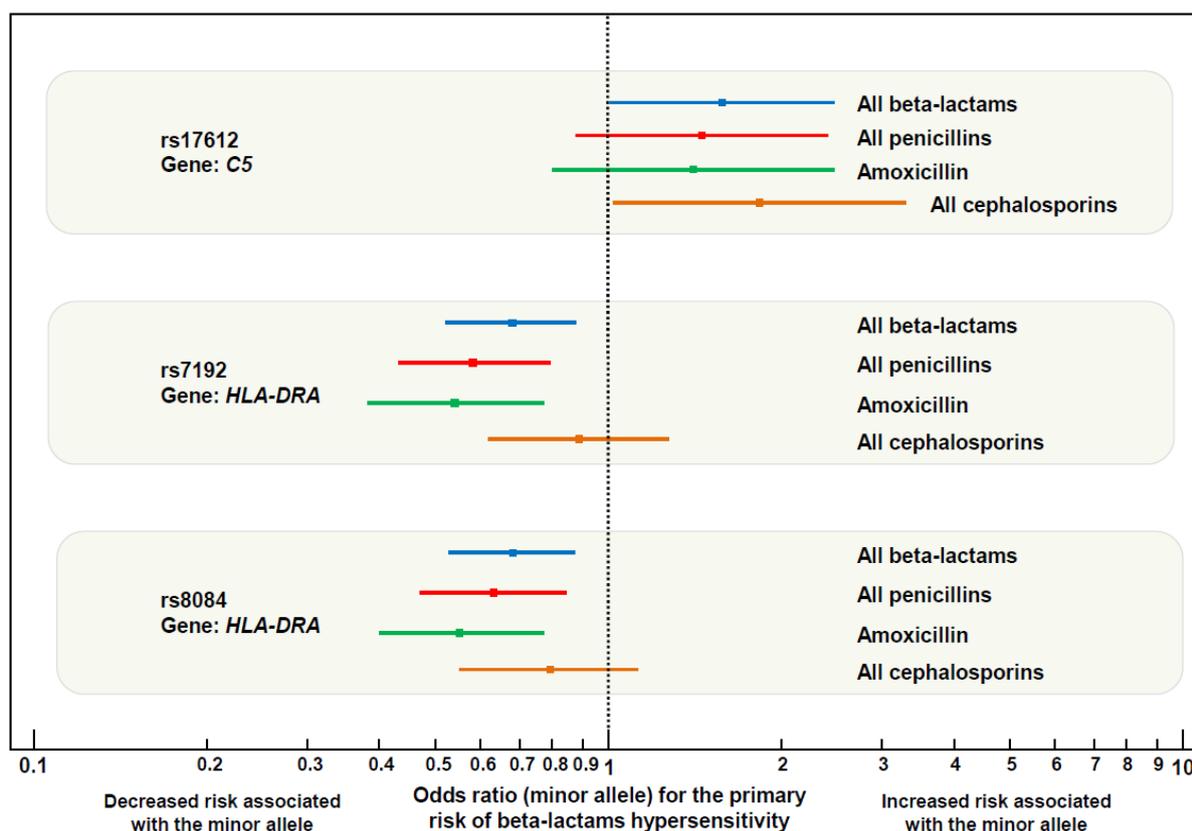


## 6. SYNTHÈSE DES TRAVAUX EFFECTUÉS

### 6.1. Marqueurs génomiques pour la prédiction du risque primaire des pathologies

#### 6.1.1. Prédicteurs génétiques des phénotypes allergiques

J'ai participé à plusieurs travaux nationaux et internationaux qui ont porté sur les déterminants génétiques du risque primaire d'anaphylaxie induite par les bêta-lactamines (**Figure 1**) et aux anti-inflammatoires non-stéroïdiens.<sup>32, 36, 40, 41, 44</sup>



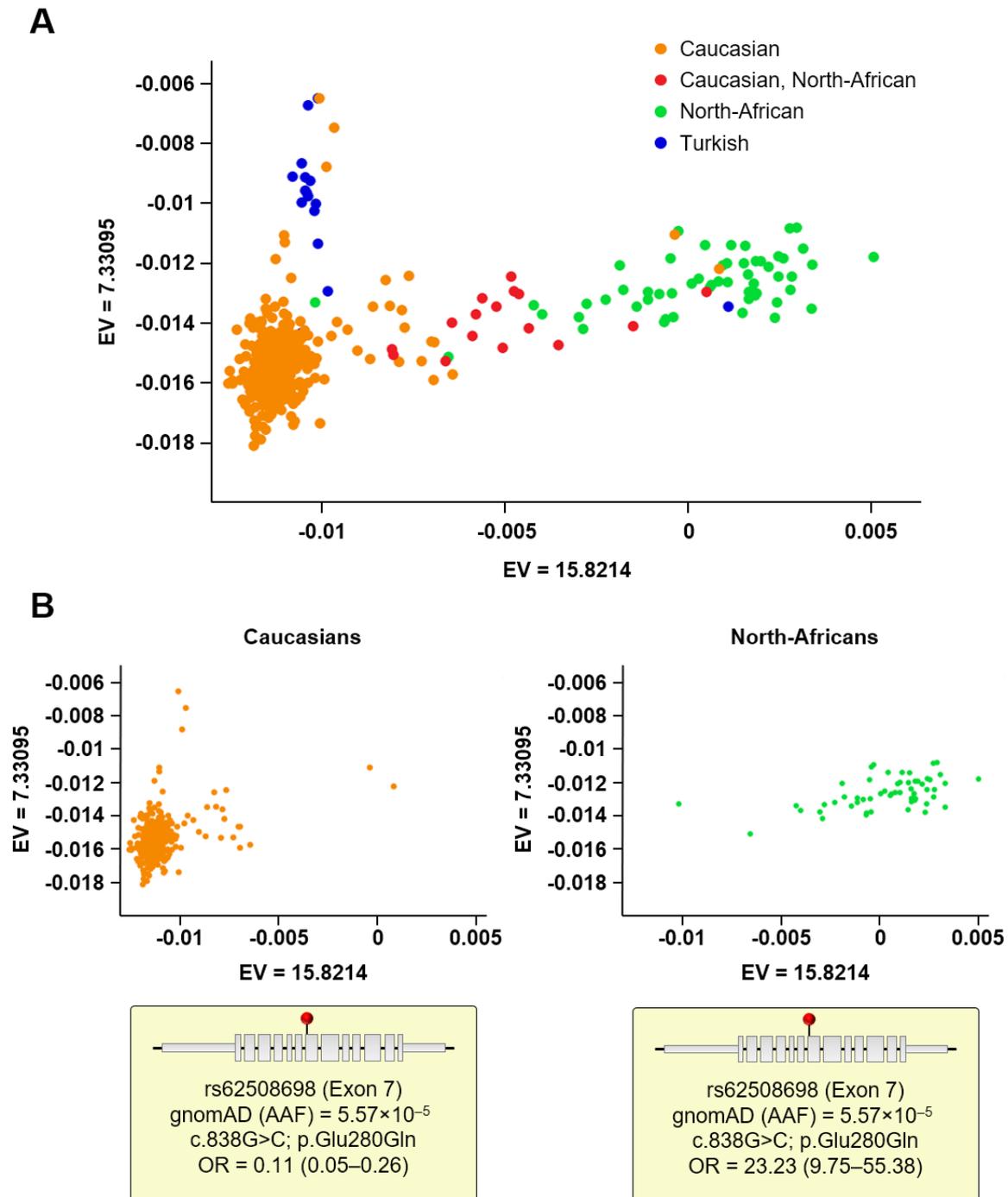
**Figure 1.** Association entre les variants mis en évidence dans l'étude GWAS Immunochip et risque primaire d'allergie aux bêta-lactamines (Guéant JL, *et al.* 2015).<sup>36</sup>

Dans le cadre du réseau Européen de l'allergie, *European Network on Drug Allergy* (ENDA) of *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* (EAACI), j'ai conduit en collaboration avec les membres de la Task-force "Genetic predictors of drug hypersensitivity", deux revues systématiques ayant porté sur les déterminants génétiques du risque d'allergie immédiate IgE-médiée<sup>44</sup> et d'allergie retardée médiée par les cellules T (manuscrit en cours de soumission).

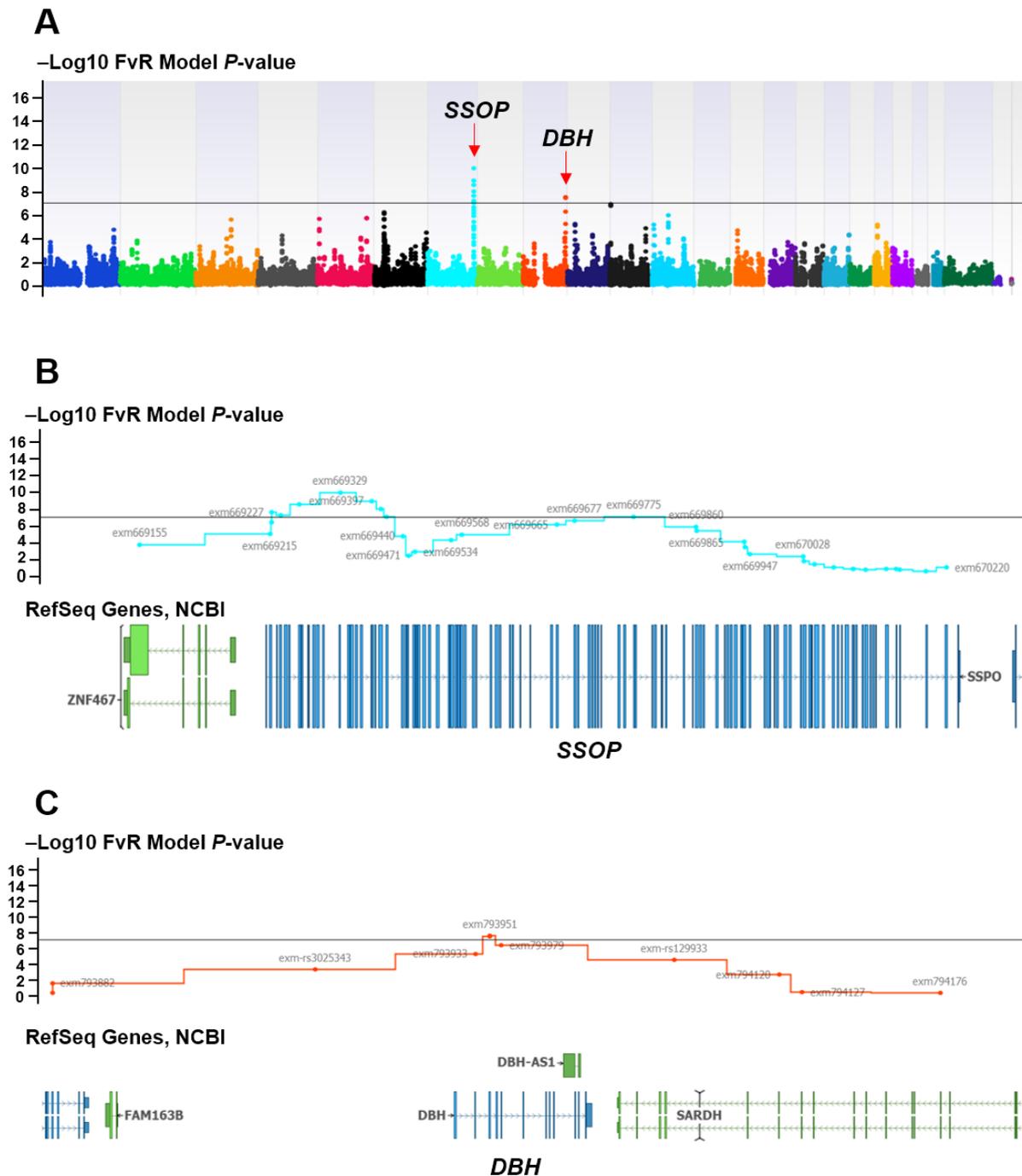
## 6.1.2. Prédicteurs génétiques des phénotypes métaboliques

### 6.1.2.1. Phénylcétonurie

Le Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire (Département de Médecine Moléculaire et de Thérapeutique Personnalisée) du CHU de Nancy est référent national dans le diagnostic des mutations du gène *PAH* (phénylalanine hydroxylase). La phénylalanine hydroxylase est l'étape limitante dans la voie métabolique qui permet la dégradation de l'excès de phénylalanine. Le gène *PAH* comporte est hypervariable. En effet, plus de 1000 variants ont été rapportés sur les bases de données 1000 génomes et NHLBI 6500 exomes avec une grande variabilité entre les populations décrites dans HapMap3 (Europe, Afrique, Asie). Une analyse préliminaire des données de la cohorte de Nancy, basée sur l'analyse exhaustive de plus de 700 séquençages du gène de la *PAH* ont permis de déceler des mutations spécifiques en fonction de l'origine géographique des parents. Actuellement nous travaillons dans l'unité INSERM NGERE sur une approche exome-array qui nous permettra : 1) d'analyser la structure de la population française atteinte de phénylcétonurie et d'établir une cartographie des sous-populations PKU retrouvées en France d'un point de vue de génétique des populations ; et 2) d'évaluer les variants potentiellement associés à une modification de l'expression phénotypique de la maladie. L'analyse combinant les approches de séquençage en Sanger à l'étude pangénomique en exome a permis d'identifier des variants spécifiques de sous-population selon l'origine ethnique (Afrique du Nord vs. Europe) (**Figure 2**). Par ailleurs, l'analyse à l'échelle exome-wide sur une puce Illumina HumanExome® a permis de mettre en évidence des loci d'intérêt en association avec le variant discriminant entre les deux populations [SSPO (SCO-spondin) et DBH (dopamine beta-hydroxylase)]. L'étude par ailleurs, permis de mieux analyse l'architecture génomique du locus *PAH* dans les différentes populations (**Figure 3**).



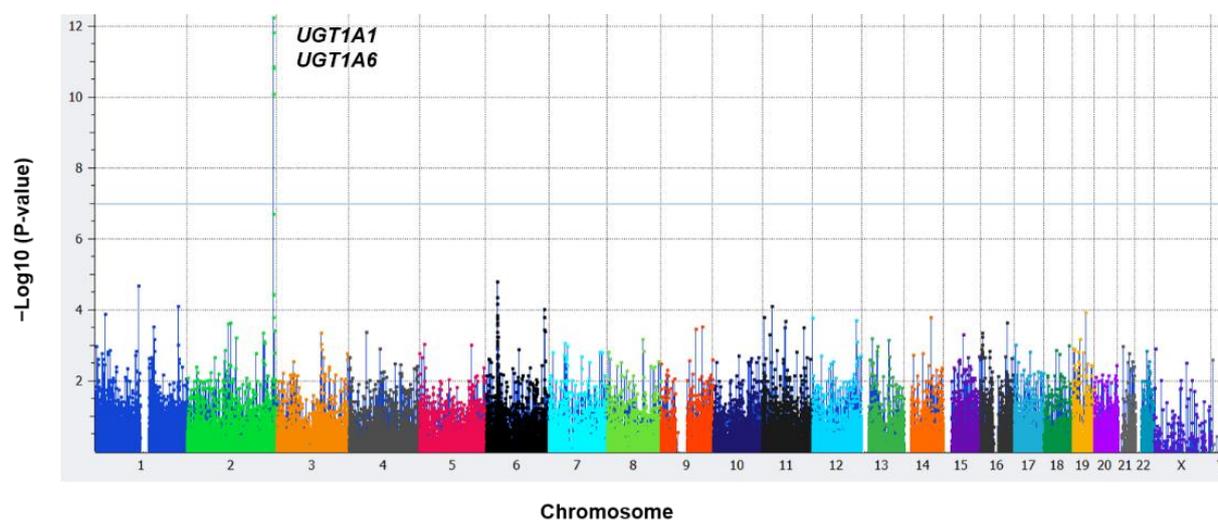
**Figure 2.** (A) Analyse en composantes principales de la population de patients PKU analysés dans l'étude. (B) Le variant rs62508698 dans le gène *PAH* est significativement enrichi parmi les patients originaires d'Afrique du Nord et significativement sous-représenté parmi les patients originaires d'Europe (Oussalah A, *et al.* Manuscrit soumis).



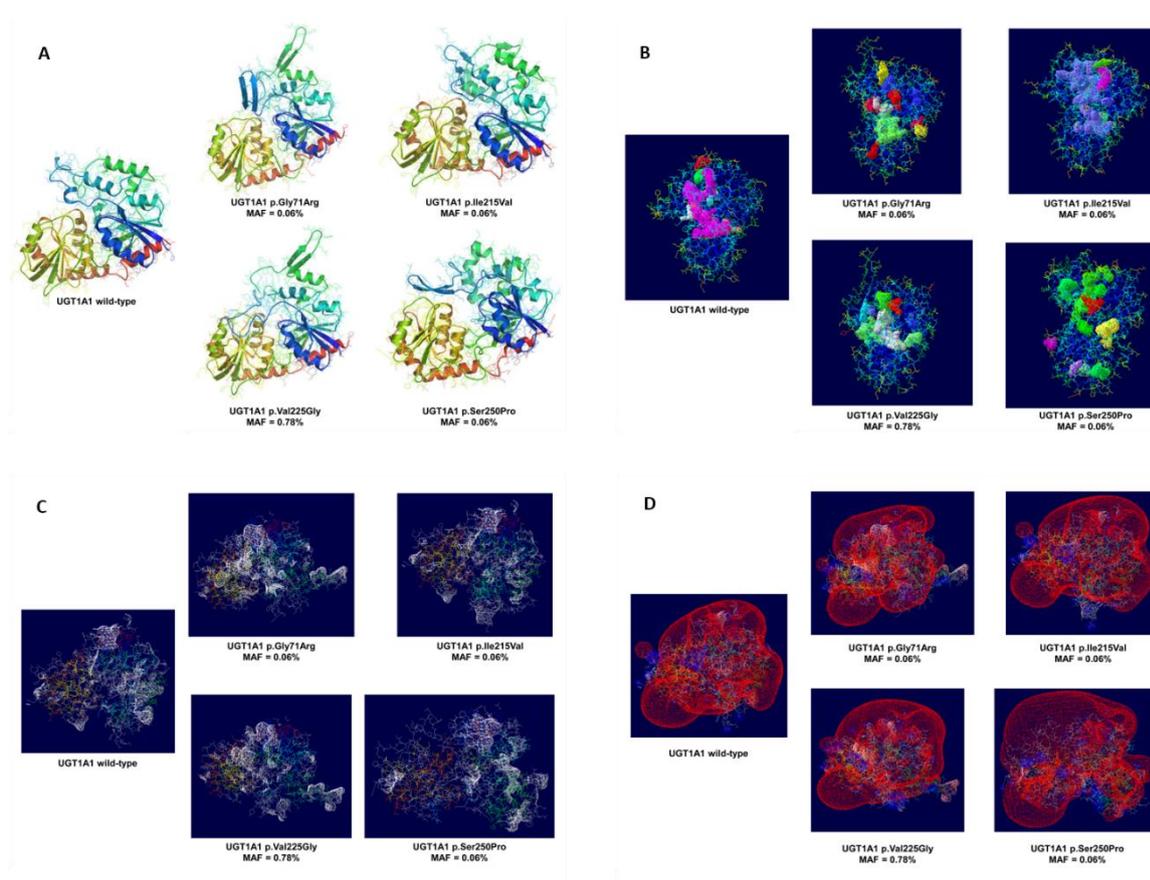
**Figure 3.** (A) Manhattan plot rapportant l'étude d'association exome-wide pour l'association avec la différenciation des deux populations Européennes et d'Afrique du nord (variant rs62508698 du gène PAH). Deux loci sont significatifs à l'échelle pangénomique : *SSOP* et *DBH*. Les panels B et C illustrent respectivement les vues zoomées sur les deux loci (Oussalah A, *et al.* Manuscrit soumis).

### 6.1.2.2. Métabolisme de la bilirubine

La cohorte TROINA est une cohorte phénotypée de façon standardisée qui a inclus des sujets âgés de trois villages de Sicile en Italie. Les sujets inclus dans la cohorte TROINA ont été analysés sur la puce HumanExome Infinium® d'Illumina et l'association avec la concentration plasmatique de bilirubine a été étudiée. Nous avons mis en évidence de nouveaux variants rares missense du gène UGT1A1 impliqués à la fois dans le déterminisme du taux sanguin de la bilirubine et du risque de cholécystectomie chez le sujet âgé (Figures 4, 5).<sup>37</sup>



**Figure 4.** Etude d'association de type exome-wide pour les déterminants de la concentration plasmatique de bilirubine. (Oussalah A, *et al.* 2015).<sup>37</sup>



**Figure 5.** Modélisation de l'effet des variants mis en évidence dans l'étude EWAS sur les prédicteurs génétiques du métabolisme de la bilirubine sur le gène *UGT1A1* (Oussalah A, et al. 2015).<sup>37</sup>

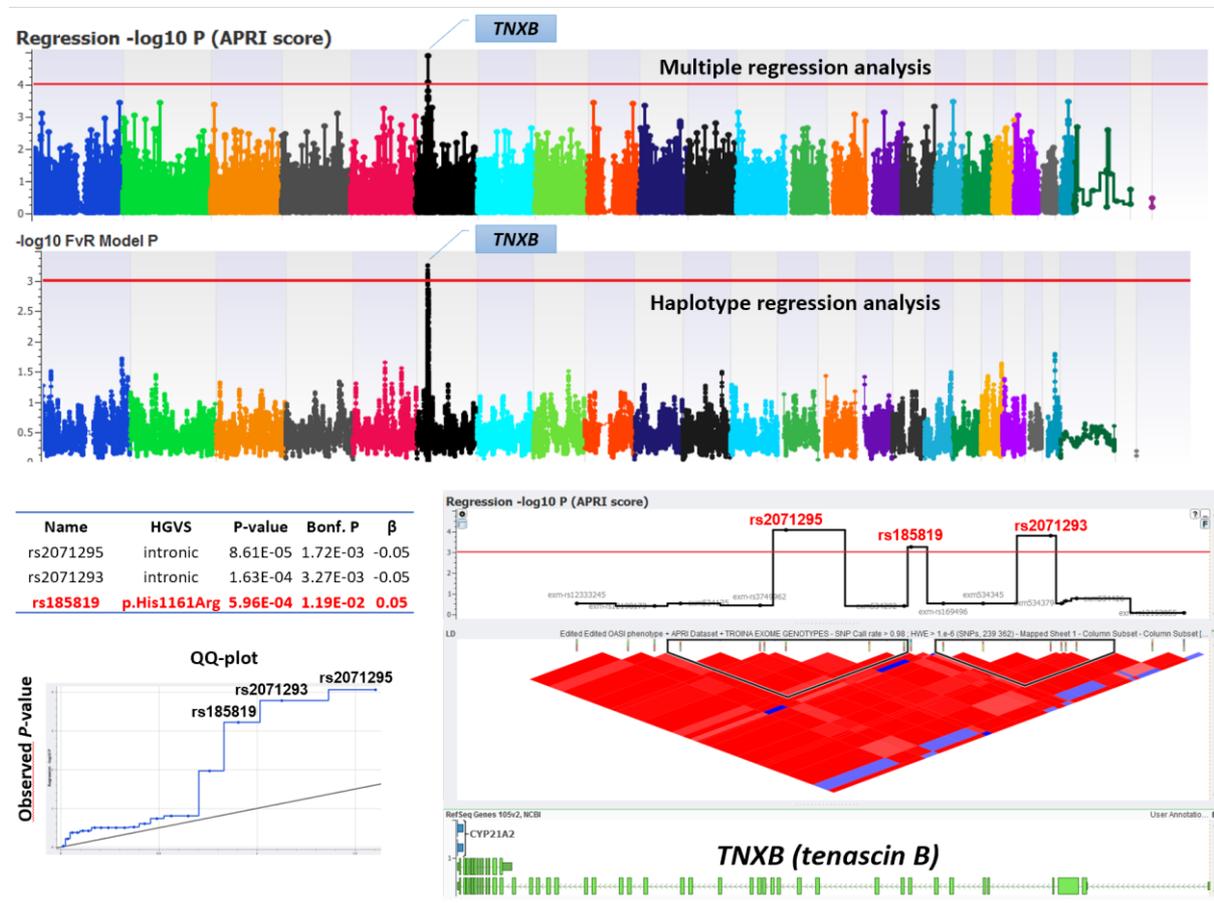
### 6.1.2.3. Métabolisme martial

L'analyse des données de la cohorte TROINA en rapport avec les marqueurs du métabolisme martial. Nous avons confirmé l'association entre la concentration sanguine en fer et plusieurs SNP exoniques préalablement publiés dans la littérature. Tous les variants étant localisés en 22q12.3 dans les exons 13 (rs4820268) et 17 (rs855791) du gène *TMPRSS6* responsable du syndrome iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). Nous avons par ailleurs mis en évidence un variant rare situé sur l'exon 3 du gène *TMPRSS6* qui code le domaine de jonction entre le domaine transmembranaire de *TMPRSS6* et son domaine SEA impliqué dans la O-glycosylation.

#### 6.1.2.4. Fibrose hépatique au cours de la stéatohépatite non alcoolique

Plusieurs études d'associations pangénomiques de type genome-wide association studies, ont rapporté des variants génétiques qui sont prédictifs de la fibrose hépatique associée à la stéatohépatite non-alcoolique (NASH). Les puces de génotypage haut débit de type exome-wide ont permis d'évaluer de façon plus fine les régions exoniques du génome, qui comportent environ 85 % des variants potentiellement associés à des phénotypes pathologiques. Les approches exome-wide peuvent identifier de nouveaux loci en comparaison aux approches GWAS classiques. Nous avons utilisé cette approche pour la mise en évidence de déterminants génétiques du métabolisme de la bilirubine et du risque de cholécystectomie qui leurs sont associés. L'objectif principal de notre étude est de rechercher les facteurs génétiques potentiellement associés à la fibrose hépatique chez des patients atteints de NASH via cette approche exome-wide. L'étude a comporté trois phases. La phase #1 a consisté en une étude d'association exome-wide sur la cohorte sicilienne TROINA (n = 560). La phase #2 de l'étude a consisté en une réplique in silico sur la cohorte ALDEPI (n = 236). La phase #3 de l'étude a consisté en une étude phénotypique (PheWAS) en utilisant 38 données phénotypiques issues de la cohorte de NICE (n = 272). Le critère principal de jugement était le score APRI en tant que marqueur non invasif de la fibrose hépatique. Le génotypage haut débit a été réalisé par une puce Infinium HumanExome BeadChip v1.2 (Illumina®, Paris, France) sur une plateforme iScan (Illumina®, Paris, France). Les contrôles de qualité pour les phases #1 et #2 de l'étude ont inclus un call rate par échantillon et par variant > 98 %, une vérification de la déviation de l'équilibre de Hardy-Weinberg, l'étude de la stratification des populations par une analyse en composantes principales et l'étude de parentalité par une analyse en identité de descendance. L'analyse statistique de l'objectif principal a consisté en une régression multiple utilisant un modèle allélique ainsi qu'une analyse par régression d'haplotype. L'étude PheWAS a consisté en un criblage systématique des 38 phénotypes de la cohorte de NICE pour les top-variants issus des phases #1 et #2 de l'étude selon une analyse en régression multiple selon un modèle génétique additif. L'étude exome-wide de la phase #1 a retrouvé une prédiction du risque de fibrose associée à la NASH pour trois variants du gène TNXB codant la famille de protéines ténascines des glycoprotéines de la matrice extracellulaire (rs2071295, intronique,  $P=8.61 \times 10^{-5}$  ; beta = -0.05 ; rs2071293, intronique,  $P=1.63 \times 10^{-4}$  ; beta = -0.05 ; rs185819 (p.His1161Arg),  $P=5.96 \times 10^{-4}$  ; beta = 0.05) (**Figure 6**). La phase #2 de l'étude a mis en évidence un autre variant rare du gène TNXB (rs200432719 p.Val1093Met ; MAF = 0.9 % ;  $P = 5.63 \times 10^{-8}$  ; beta = 0.71). La phase #3 de l'étude en PheWAS a montré une association entre les quatre variants du gène TNXB et les scores de fibrose histologique, la concentration plasmatique du cholestérol total, cholestérol-LDL et cholestérol-HDL, de la protéine C-réactive, l'indice de masse corporelle et le périmètre

abdominal. Les résultats de cette étude développée en trois phases soulignent l'intérêt potentiel du locus *TNXB* dans la pathogénie de la fibrose hépatique associée à la stéatohépatite non-alcoolique. Des études fonctionnelles sont nécessaires pour identifier les mécanismes moléculaires liés à cette association avec le risque de fibrose hépatique.



**Figure 6.** Etude d'association de type *exome-wide* mettant en évidence un top signal sur le locus *TNXB* en association avec un risque accru de fibrose hépatique sévère chez les patients atteints de stéatohépatite non-alcoolique (Oussalah A, *et al.* Manuscrit en cours de préparation)

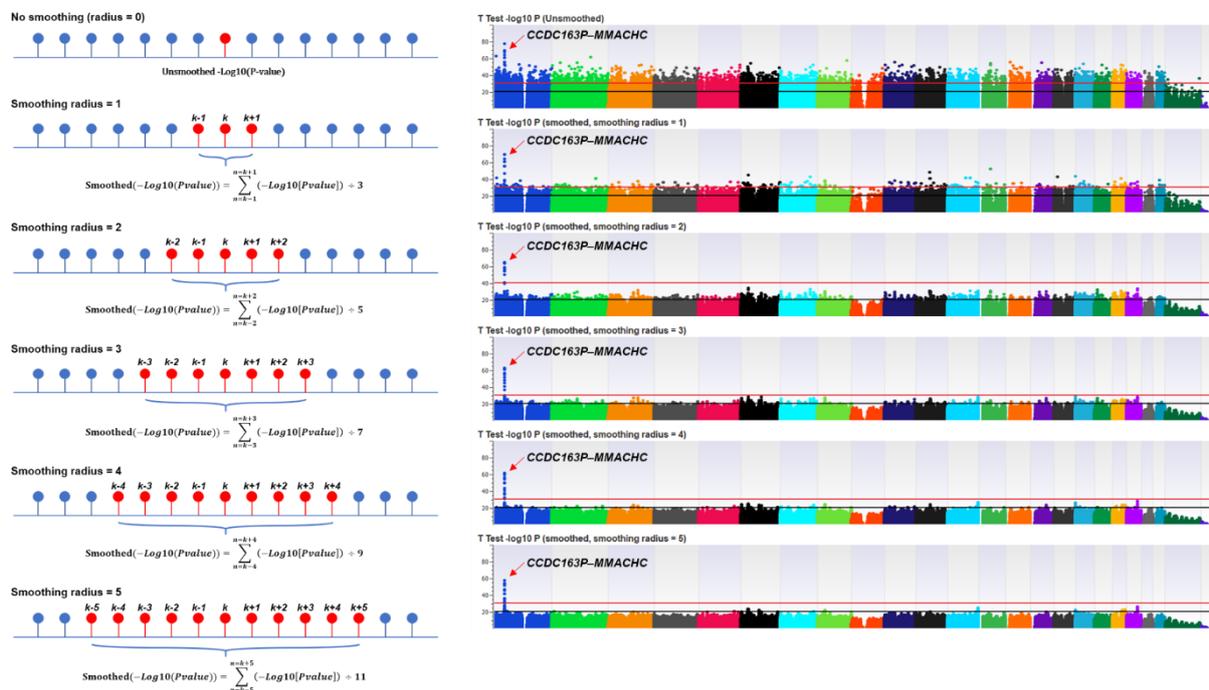
### 6.1.3. Prédicteurs génétiques des pathologies du développement en lien avec le métabolisme des monocarbone

Le SNP-array méthylation (384 SNPs) développé dans l'unité NGERE utilise la technologie VeraCode BeadXpress d'Illumina®, permettant un génotypage exhaustif des polymorphismes impliqués dans le métabolisme des monocarbone. Le SNP-array méthylation a été utilisé dans plusieurs cohortes incluant la cohorte FEPA (fentes palatines) et la cohorte des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. L'analyse des données issues de la cohorte FEPA a permis de mettre en évidence un



## 6.2. Développement de nouvelles méthodes analytiques pour l'étude de l'épigénome notamment sur les cohortes à faible effectif : « méthode du smoothing des P-values »

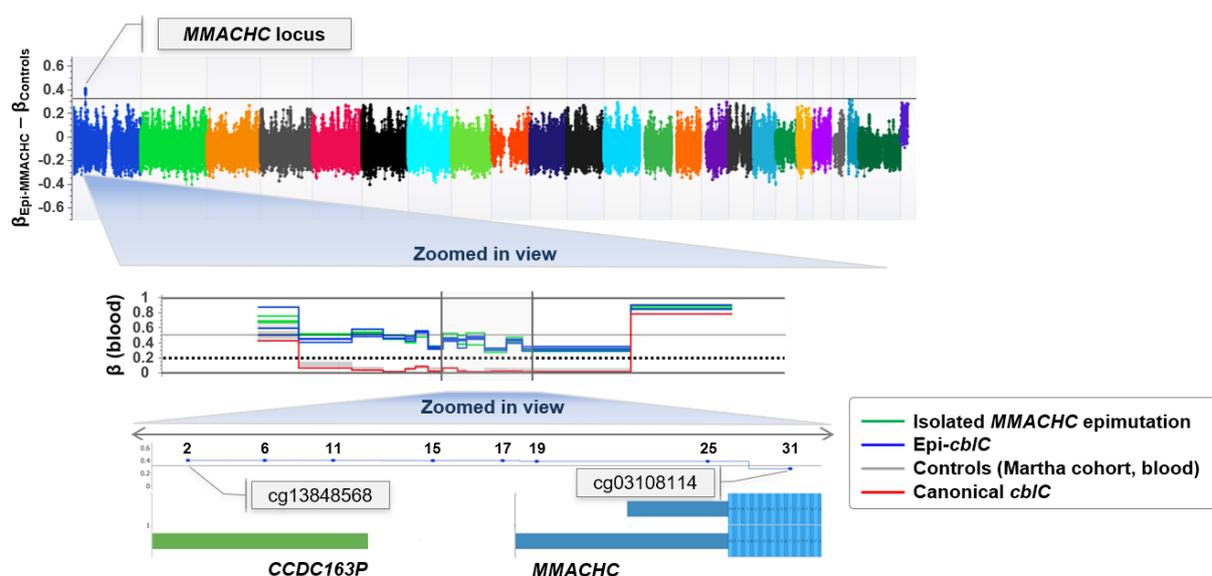
L'analyse des données du méthylome ADN permet de mettre en évidence des signatures de méthylation sur les sondes CpG regroupées ou non au sein d'îlots CpG. Les analyses de méthylome requièrent un effectif minimal qui puisse garantir une puissance suffisante de à l'étude statistique. Cette exigence n'est pas compatible avec les approches épigénétiques des patients atteints de maladies rares du métabolisme. Au sein de l'unité INSERM UMR\_S 1256, j'ai développé une approche analytique des données de méthylome qui repose sur le principe de co-méthylation des sondes CpG au sein des îlots CpG. Cette méthode, reposant sur le *smoothing* des p-values obtenues pour chaque sonde CpG dans les tests d'association, a déjà été utilisée dans deux publications de l'unité.<sup>47, 51</sup> Plusieurs autres projets sont en cours d'analyse en utilisant cette méthode (déterminants épigénétiques du carcinome hépato-cellulaire en collaboration avec la *Rutgers University* et la *Mayo Clinic Rochester* ; déterminant épigénétiques du carcinome des fentes nasales, Projet EpiMet, Projet Européen DIFAMEM, Projet NuTTTMeD, détaillés dans la suite du documents) (Figure 8).



**Figure 8.** Illustration de la méthode d'optimisation du signal par rapport au bruit de fond dans l'analyse de l'épigénome en s'appuyant sur la méthode du smoothing développée au sein de l'unité INSERM UMR\_S 1256 NGERE (Oussalah, *et al.* Manuscrit en préparation).

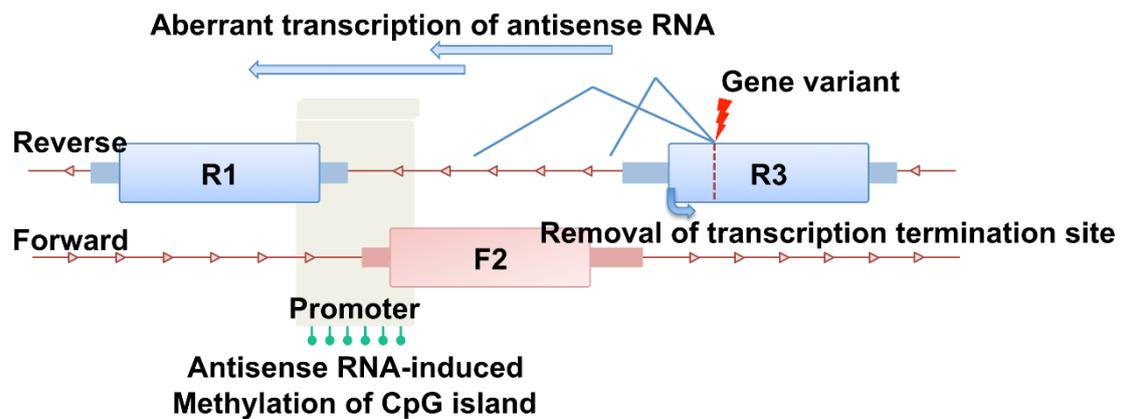
### 6.3. Prédicteurs épigénétiques des phénotypes métaboliques complexes : épi-cblC

Un groupe de maladies rares rendent impossible l'utilisation de la vitamine B12 au niveau cellulaire. La plus fréquente d'entre elles, dénommée cblC, est à transmission autosomique récessive, produite par des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites des deux allèles du gène *MMACHC*. Nous avons mis en évidence un nouveau type de cblC que nous avons dénommé épi-cblC sur un nourrisson décédé d'une forme grave de cblC, et qui ne présentait paradoxalement qu'une mutation à l'état hétérozygote.<sup>47</sup> En réalisant l'étude des groupements méthyles sur l'ensemble du génome (méthylome) nous avons identifié une épimutation sur la deuxième copie du gène dans 3 générations et dans le sperme du père du cas index. À ce jour, la plupart des épimutations rapportées chez l'homme sont somatiques et effacées dans les cellules germinales. L'épimutation éteint l'expression de l'allèle non muté du gène *MMACHC*. Le gène *MMACHC*, orienté en 'forward' appartient à un trio de gènes. Il est flanqué de deux gènes *CCDC163P* et *PRDX1*, tous deux orientés en 'reverse'. L'épimutation résulte d'une mutation de *PRDX1* qui force la transcription antisens de *MMACHC* et produit une marque H3K36me3 au niveau du promoteur commun à *CCDC163P* et *MMACHC*. Nous avons retrouvé 8 autres cas d'épi-cblC en Europe et aux USA et nous avons identifié plus d'une quarantaine de trio de gènes ayant la même configuration sur l'ensemble du génome. Ces 8 cas d'épi-cblC illustrent la nécessité de rechercher une épimutation au niveau des gènes localisés dans des trios de configuration similaire, lorsque des patients présentant les manifestations typiques d'une maladie rare récessive malgré l'existence d'une mutation à l'état hétérozygote (**Figures 9, 10**).



**Figure 9.** Les analyses de l'épigénome (méthylome) sur l'ensemble du génome confirment la présence de l'épimutation dans l'ADN génomique des cas indexes et le sperme de leurs pères. Haut : épi-Manhattan représentant en abscisse les différences de valeurs  $\beta$  entre les

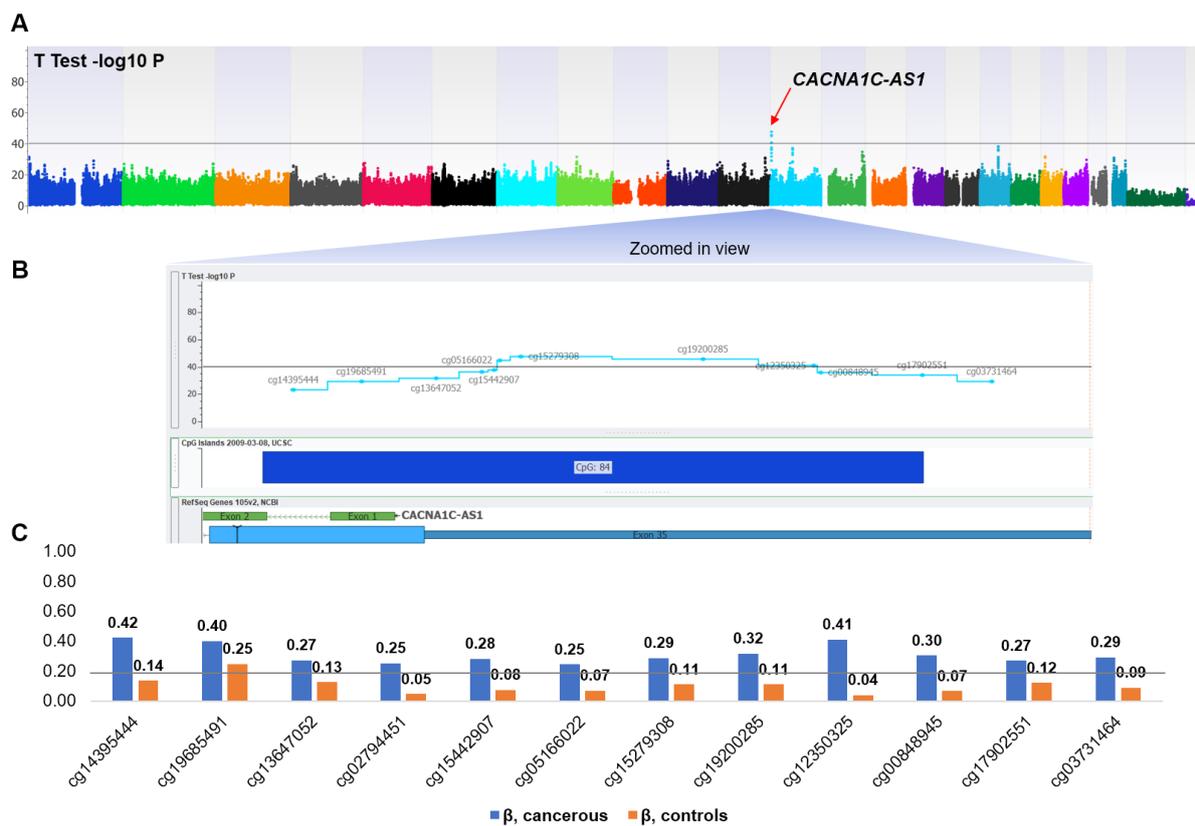
sujets *épi-cbC* et les témoins. La ligne horizontale indique une différence de 0,3 ; bas : vue agrandie du locus *MMACHC* avec les valeurs  $\beta$  des sondes CpG dans le gène *MMACHC* observe dans les cas *épi-cbC*, la parentèle porteuse de l'épimutation et des sujets contrôles. La ligne pointillée avec une valeur  $\beta$  de 0,2 est considérée comme la limite indiquant l'absence de méthylation (Guéant, *et al.* 2018).<sup>47</sup>



**Figure 10.** Mécanisme moléculaire de production d'une épimutation dans le trio de gènes CCDC163P-MMACHC-PRDX1. (a) La mutation *PRDX1* produit une transcription antisens aberrante au travers des gènes *MMACHC* et *CCDC163P* mise en évidence par séquençage à haut débit des ARN des fibroblastes du cas index CHU-12122 et de la lignée témoin HDF. La transcription antisens (en bleu) de *PRDX1* chevauchant *MMACHC* et *CCDC163P* est prédominante dans les fibroblastes CHU-12122 tandis que la transcription sens *MMACHC* (en rouge) est prédominante dans les fibroblastes témoins HDF. (b) Mécanisme d'extinction épigénétique de l'allèle F2 non muté par une mutation sur le gène R3 forçant sa transcription antisens chez des patients porteurs d'une mutation hétérozygote d'un gène causal appartenant à un trio de gènes antisens (R1) – sens (F2) - antisens (R3)

#### 6.4. Prédicteurs épigénétiques des pathologies cancéreuses

Dans un travail qui a porté sur les déterminants épigénétiques des adénocarcinomes des fentes nasales, l'étude d'association à l'échelle pangénomique a mis en évidence une signature d'hyperméthylation sur le locus *CACNA1C-AS1* (manuscrit en cours de soumission). L'analyse en immunohistochimie a confirmé les résultats de l'analyse du méthylome avec une expression accrue de la protéine *CACNA1C* dont l'expression est négativement régulée par l'ARN antisens *CACNA1C-AS1* (**Figure 11**).



**Figure 11.** Épi-Manhattan plot illustrant l'étude d'association pangénomique à la recherche de marqueurs épigénétiques associés au phénotype tissulaire d'adénocarcinome de la fente nasale.



## 7. PERSPECTIVES SCIENTIFIQUES

### 7.1. Présentation générale du projet de recherche

Mon activité de recherche fondamentale s'inscrit autour de la thématique de la méthionine dépendance dans la cancérogenèse. Cette thématique fait intervenir les concepts d'altérations du métabolisme, notamment le métabolisme des monocarbones, les altérations de l'épigénome qui peuvent en résulter et leurs conséquences pathologiques en termes de transformation carcinogénique. Mon activité de recherche fondamentale s'attèlera à l'étude des mécanismes intervenant dans le trépied 'Métabolisme-Epigénome-Carcinogénèse' via des modèles cellulaires utilisant l'irradiation ionisante comme agent de stress cellulaire (Projet EpiMet, **Étude de la méthionine dépendance induite ou non par le stress cellulaire dans la genèse de cellules souches cancéreuses de mélanomes, glioblastomes et hépatocarcinomes**, INSERM UMR\_S 1256). Le projet EpiMet ouvrira la voie à de nouvelles perspectives diagnostiques et thérapeutiques dans la prise en charge du cancer. L'altération du métabolisme comme *driver* de transformation cancéreuse permet d'envisager de nouvelles relations étiopathogéniques entre les altérations génomiques et épigénomiques et l'apparition de cellules souches cancéreuses.

Mon activité de recherche translationnelle sera en continuité avec ma thématique de recherche fondamentale. Je travaille actuellement sur le méthylome dans les maladies rares et le cancer. Je m'intéresse tout particulièrement aux approches génomiques intégratives (ex. analyses pangénomiques à haut débit, séquençage nouvelle génération, méthylome, transcriptome) dans le cadre de l'évaluation de problématiques liées aux maladies rares du métabolisme. La perspective à moyen terme est l'utilisation de nouvelles approches d'étude du méthylome basées sur le séquençage de nouvelle génération et qui pourrait permettre une approche clinique plus efficace notamment en pratique de routine dans la perspective du développement d'une activité diagnostique non invasive basée sur l'épigénome circulant. L'une des applications les plus prometteuses dans ce contexte serait la réalisation d'un suivi systématique des patients cirrhotiques afin de détecter précocement une greffe carcinomateuse hépatique ou de statuer sur l'apparition d'une image nodulaire hépatique sans caractérisation propre à l'imagerie.

En recherche clinique, j'évalue actuellement le biomarqueur *mSEPT9* dans le dépistage précoce du carcinome hépatocellulaire chez le patient cirrhotique. Actuellement l'essai prospectif *SEPT9\_CROSS* est en cours de recrutement et permettra d'estimer la performance diagnostique du biomarqueur sur une large cohorte de patients cirrhotiques. L'essai longitudinal (*SEPT9\_SuRV*, en cours de soumission au PHRCi) permettra de définir la place du biomarqueur *mSEPT9* comme biomarqueur potentiel du suivi des patients cirrhotique afin de dépister précocement une greffe carcinomateuse hépatique. Dans le

cadre du réseau Grand-Est, je travaillerai en collaboration avec nos collègues d'hépatogastroentérologie du CHRU de Nancy (Pr. Bronowicki) et les correspondants de la région Grand-Est à la mise en place d'une cohorte multicentrique de suivi des patients cirrhotiques afin d'évaluer les biomarqueurs prédictifs de la survenue de carcinome hépatocellulaire (combinaison de marqueurs génétiques, épigénétique et biochimiques). Je poursuivrai également le maintien et l'exploitation de la cohorte Nancéenne '**Nancy Big Data Cohort (CNIL No. 1763197v0)**' qui vise à développer et à valider de nouvelles stratégies diagnostiques, thérapeutiques et/ou pronostiques basées sur les biomarqueurs.

## 7.2. La méthionine dépendance à l'intersection entre le métabolisme des donneurs de méthyle et la cancérogenèse : le projet EpiMet

### 7.2.1. Etat de l'art

#### 7.2.1.1. Métabolisme des monocarbone : cycles de la méthionine et des folates

Le métabolisme des monocarbone, également appelé métabolisme des donneurs de méthyle, revêt un rôle particulier dans la pathogénie du cancer, notamment via l'implication de la méthionine, dont groupe méthyle  $-CH_3$  intervient dans de nombreuses réactions de méthylation<sup>52</sup>. La vitamine B12 est un cofacteur de la méthionine synthase (MTR) qui permet la synthèse de la méthionine<sup>53</sup>. La méthionine est le précurseur de la S-adénosyl-méthionine (SAM) qui sert de donneur universel du groupement méthyle permettant ainsi de réguler les mécanismes épigénétiques dans la cellule, via la méthylation de l'ADN et des histones<sup>54</sup>. De ce fait, l'altération de la disponibilité

en donneurs de méthyle représente une source potentielle d'altérations épigénétiques. Les réactions de transfert du groupement méthyle de la SAM vers les molécules acceptrices et la régénération de la SAM font partie du métabolisme des monocarbone. La réaction d'adénylation permettant l'obtention de la SAM à partir de la méthionine est assurée par la méthionine adényltransférase (MAT) (**Figure 12**), dont il existe deux isoformes :

MAT1A dans le foie et la MAT2A à expression extra-hépatique, ubiquitaire. La SAM est utilisée par plusieurs méthyltransférases incluant les ADN méthyltransférases qui produisent la S-

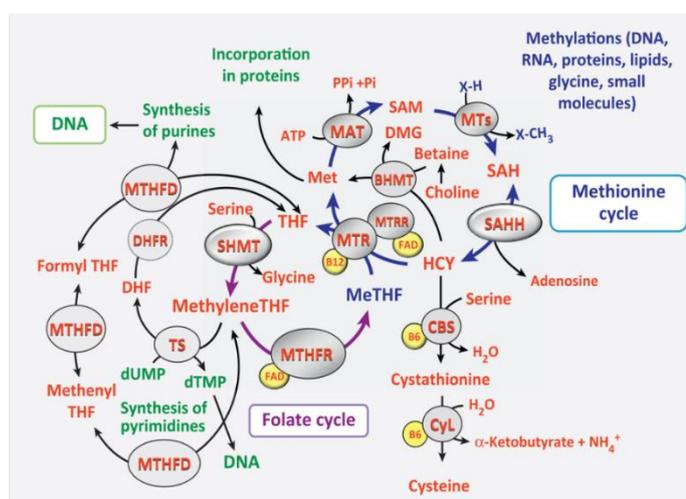


Figure 12. Cycles des folates et de la méthionine  
Tirée de la référence Guéant J.L. *et al.*

adénosyl homocystéine (SAH), qui est par la suite convertie en homocystéine. L'homocystéine ainsi produite est en partie reméthylée en méthionine par la voie de la méthionine synthase (MTRR) ; l'autre partie étant transformée en cystathionine par la cystathionine beta-synthase (CBS) pour produire la cystéine (**Figure 1**). Le groupement méthyle de la SAM dérive du 5-méthylfolate qui permet de lier le métabolisme de la SAM à celui des folates.

### 7.2.1.2. Méthionine-dépendance des cancers

Le cancer est caractérisé par une croissance cellulaire incontrôlée provoquée par des modifications de l'expression des gènes promoteurs ou suppresseurs de tumeurs <sup>55</sup>. Alors qu'une faible minorité de cancers est liée à des mutations constitutionnelles du génome, la grande majorité résulte d'une altération de l'intégrité de l'ADN qui s'accumule sur une longue période et qui est causée par des facteurs endogènes et environnementaux pouvant entraîner des altérations génétiques et/ou épigénétiques <sup>56</sup>. Plusieurs travaux ont démontré le rôle prépondérant des macronutriments et des micronutriments comme des facteurs environnementaux pouvant influencer le développement et la croissance de plusieurs cancers <sup>57-61</sup>. **Un profil métabolique assez caractéristique des cellules cancéreuses consiste en leur utilisation accrue de la méthionine afin de maintenir leur capacité de croissance : c'est la méthionine-dépendance.** Il en suit que la restriction en méthionine s'ouvre donc comme une stratégie thérapeutique prometteuse pour limiter la croissance cancéreuse. En dehors de ses effets sur le cancer, la restriction en méthionine s'est avérée efficace sur le prolongement de l'espérance de vie chez le rat <sup>62</sup>. Le phénomène de méthionine-dépendance a été mis en évidence pour la première fois dans les cellules cancéreuses en 1959 sur des études de greffe de tumeurs carcinomateuses de type Walker-256 sur des rats Sprague-Dawley en réponse à une diète sans méthionine <sup>63</sup>. Contrairement aux lignées cancéreuses (ex. Walker-256, leucémie murine, leucémie humaine), les lignées cellulaires non cancéreuses (ex. fibroblastes cutanés et mammaires chez l'homme, fibroblastes cutanés chez la souris) peuvent survivre dans un milieu supplémenté en homocystéine mais dépourvu en méthionine (Méth-/Hcy+) <sup>64</sup>. Des études ultérieures ont démontré le caractère méthionine-dépendant de plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (sein, vessie, colon, gliome, rein, mélanome, prostate, etc.) <sup>65-69</sup>.

### 7.2.1.3. Altérations épigénétiques : la méthylation de l'ADN et des histones comme épi-drivers de la carcinogenèse

Les altérations de la méthylation de l'ADN et des histones représentent une marque épigénétique majeure du cancer. Les altérations de la méthylation de l'ADN et des histones

peuvent significativement affecter l'épigénome cellulaire et entraîner une altération de l'expression des gènes et une instabilité génomique. Plusieurs travaux suggèrent que les altérations du métabolisme des monocarbone peuvent être à l'origine des altérations épigénétiques incluant la méthylation de l'ADN et des histones<sup>70</sup>. Par ailleurs, les altérations épigénétiques, notamment de la méthylation de l'ADN et des histones peuvent être détectées dans les stades les plus précoces de la carcinogenèse<sup>71</sup>. Du point de vue des altérations observées de la méthylation au cours du cancer, deux principaux phénomènes sont constatés : 1) le cancer est associé à une hypométhylation globale associée à une déstabilisation du génome<sup>72</sup> ; 2) les lignées cellulaires cancéreuses sont caractérisées par une utilisation excessive de méthionine résultant en une méthionine-dépendance<sup>52, 72</sup>. Les lignées cellulaires cancéreuses sont dépendantes à la méthionine car elles ne peuvent survivre sans méthionine, contrairement aux cellules non cancéreuses<sup>73</sup>. Les cellules cancéreuses dépourvues de méthionine sont bloquées dans la phase S/G2 du cycle cellulaire. Du point de vue mécanistique, la méthionine-dépendance dans le cancer peut être causée par des altérations dans la séquence du génome (délétions, variations de nucléotides de type SNV) ou bien par des altérations de l'expression des gènes à l'instar de celles causées par une hyperméthylation aberrante des promoteurs (altérations épigénétiques)<sup>56</sup>.

#### **7.2.1.4. Les altérations épigénétiques comme événements déclenchants de la méthionine-dépendance des cellules cancéreuses : le modèle *MMACHC***

La lignée cellulaire cancéreuse de mélanome MeWo-LC1 dérive de la lignée non cancéreuse MeWo qui n'est pas méthionine-dépendante<sup>74</sup>. MeWo-LC1 présente un déficit métabolique identique à celui qui est observé chez les patients atteints de *cbIC*, un désordre héréditaire du métabolisme de la vitamine B12 caractérisé par une acidémie avec homocystinurie et du point de vue clinique par une anémie mégalo-blastique, un retard de croissance et du développement intellectuel. Cette pathologie est liée à une mutation biallélique du gène *MMACHC* (*Methylmalonic aciduria and homocystinuria type C protein*) (1p36.3). L'incapacité des lignées cellulaires *cbIC* à réparer le défaut des lignées MeWo-LC1 suggère que ces deux lignées ont en commun l'altération de l'activité de *MMACHC*<sup>74</sup>. Néanmoins, la lignée MeWo-LC1 ne présente pas de mutation sur la séquence codante de *MMACHC*<sup>74</sup>. Aucune expression de *MMACHC* n'était mise en évidence dans la lignée MeWo-LC1 en qPCR<sup>74</sup>. L'analyse du profil de méthylation a mis en évidence une méthylation complète de l'îlot CpG à l'extrémité 5' du gène *MMACHC* dans la lignée MeWo-LC1 pouvant ainsi expliquer l'extinction du gène par méthylation de son promoteur. La transfection de la lignée MeWo-LC1 avec une lignée sauvage pour *MMACHC* a entraîné la correction du déficit du métabolisme de la cobalamine et

a rétablit la capacité pour cette lignée de croître dans un milieu dépourvu de méthionine <sup>74</sup>. Cette expérimentation illustre parfaitement que le profil de méthionine-dépendance de la lignée MeWo-LC1 était pour le moins lié à l'extinction épigénétique de l'expression du gène *MMACHC* via une hyperméthylation aberrante de son promoteur. D'une façon plus générale, le mécanisme d'hyperméthylation aberrante des promoteurs de gènes du métabolisme des monocarbone peut donc être le point de non-retour entre un statut méthionine indépendant et un statut méthionine-dépendant (**Figure 13**).

### 7.2.1.5. Les altérations de l'épigénome des gènes du métabolisme des monocarbone : une piste majeure de la méthionine-dépendance au cours du cancer

Bien que la méthionine-dépendance soit bien décrite au cours du cancer, son explication mécanistique reste incomplète. Une diminution de l'expression du gène *MMACHC* a été mise en évidence pour ce qui est des lignées cancéreuses du mélanome mais cela n'a pas pu être démontré dans d'autres lignées méthionine-dépendantes <sup>74, 75</sup>. La diminution de l'activité d'autres enzymes impliquées dans le métabolisme des monocarbone a été démontrée dans certaines lignées cellulaires isolées mais n'a pu être démontré comme mécanisme général <sup>76-78</sup>.

Il est possible que la méthionine-dépendance soit secondaire à divers mécanismes dont la manifestation finale est une altération du métabolisme de la méthionine et dont la tumeur tire un avantage de survie. C'est en cela que la méthionine-dépendance représente une cible majeure pour la chimiothérapie. **Du point de vue conceptuel, la dissection systématique des mécanismes d'altération de l'épigénome et du transcriptome en lien avec le phénotype de méthionine-dépendance n'a jamais été réalisée : c'est ce que le projet actuel vise à réaliser.**

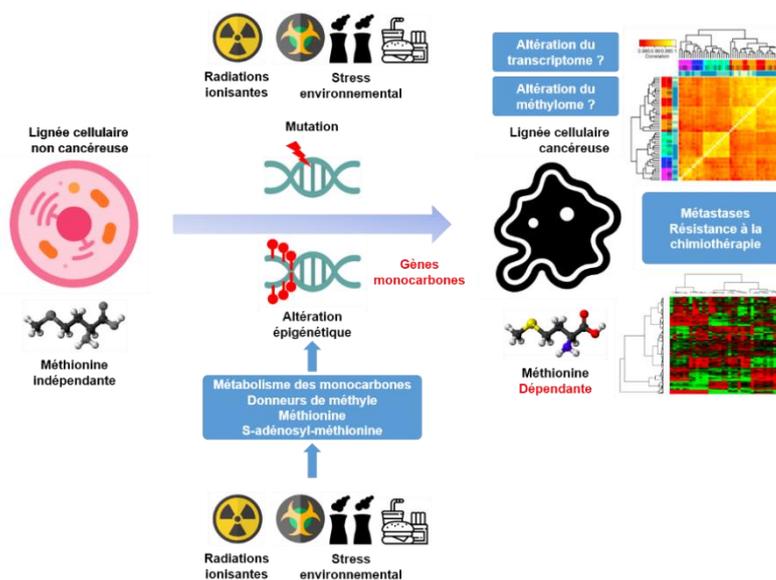


Figure 13. Schéma général conceptuel et hypothèses de travail

### 7.2.2. Données préliminaires générées au sein de l'unité Inserm UMR\_S 1256

Nous avons récemment mis en évidence une nouvelle cause d'erreur innée du métabolisme de la vitamine B12 de type *cb1C* que nous avons appelée "épi-*cb1C*" <sup>47</sup>. Les patients atteints

d'épi-*cb1C* ont une mutation pathogène hétérozygote dans le gène *MMACHC*, avec une épimutation en *trans* sur le promoteur du gène *MMACHC*. L'épimutation a pu être détectée dans l'ADN du sang et des spermatozoïdes et a été transmise sur trois générations. L'épimutation de *MMACHC* était localisée dans un promoteur bidirectionnel commun à deux gènes disposés en *head-to-head* (sens-antisens), non chevauchants : *CCDC163P* et *MMACHC*, au sein d'un trio de gènes [*CCDC163P* Reverse-1 (R1)/*MMACHC* Forward-2 (F2)/*PRDX1* Reverse-3 (R3)]. Le séquençage du génome entier (WGS) a permis d'identifier deux mutations dans *PRDX1* qui produisent un saut du dernier exon et du signal de terminaison de la transcription. La perte du signal de terminaison de la transcription de *PRDX1* produit une extension aberrante de la transcription antisens qui recouvre l'exon 1 de *MMACHC*, le promoteur bidirectionnel de *MMACHC-CCDC163P*. Cette transcription antisens aberrante produit une signature de méthylation des histones H3K36me3 dans le promoteur bidirectionnel *MMACHC-CCDC163P*, qui conduit à la méthylation des îlots CpG de l'ADN. Nous avons confirmé l'existence de ce mécanisme chez quatre patients non apparentés atteints d'épi-*Cbl*. Nous avons également identifié ce mécanisme dans la lignée de mélanome MeWo-LC1, dont la méthionine-dépendance avait été précédemment mise en évidence <sup>47</sup>.

### 7.2.3. Pertinence, originalité et objectifs

Les liens entre la cancérogenèse et les altérations épigénétiques sont clairement démontrés. Le rôle des radiations ionisantes comme modèle de stress cellulaire avec des effets épigénétique est bien démontré <sup>79</sup>. Néanmoins, à ce jour, aucun travail n'a systématiquement évalué les effets des radiations ionisantes sur l'épigénome notamment sur les gènes du métabolisme des monocarbones et l'effet potentiel sur le phénotype de méthionine-dépendance. Par ailleurs, aucune étude n'a évalué les effets des radiations ionisantes en prenant en compte à la fois les effets sur le méthylome et le transcriptome. **La question posée dans le projet EpiMet est donc la suivante : l'altération de l'épigénome des gènes impliqués dans le métabolisme des monocarbones peut-elle entraîner l'apparition d'une méthionine-dépendance ? Cette question conduit aux deux questions sous-jacentes suivantes : l'altération de l'épigénome des gènes impliqués dans le métabolisme des monocarbones peut-elle résulter de l'exposition cellulaire à un stress tel que l'irradiation ? Ce stress influence-t-il la genèse de cellules souches via la méthionine-dépendance ? Trois pathologies seront utilisées comme modèles : mélanomes cutanés, les glioblastomes et les hépatocarcinomes.**

### 7.2.4. Méthodologie et techniques mises en œuvre

Nous étudierons un ensemble de lignées cellulaires de mélanome (MeWo, MeWo-LC1), glioblastome (U251) et hépatocarcinome (HepG2) qui seront exposées ou non aux radiations

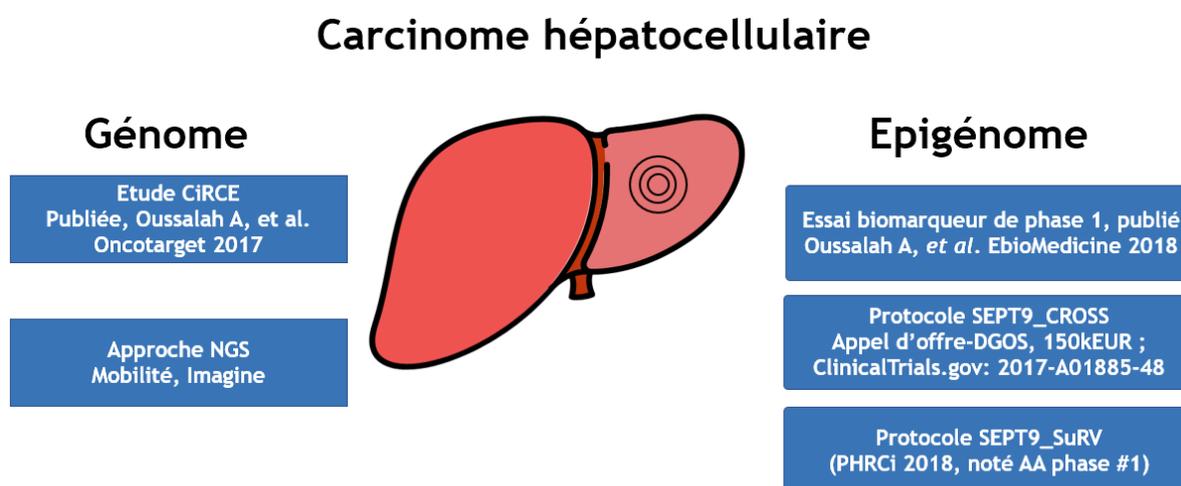
ionisantes utilisées comme modèle de stress cellulaire standardisé. Trois schémas d'irradiation seront testés : 5 doses itératives de 0,2 Gy à intervalle régulier en fonction du temps de doublement des lignées cellulaires ; dose unique de 1 Gy ; dose unique de 2,5 Gy. L'étude du méthylome comportera 48 points (4 lignées, 4 conditions d'irradiation (0 Gy, 0,2 Gy × 5, 1 Gy et 2,5 Gy), 3 méthylomes pour chaque expérimentation). L'étude de puissance, prenant en compte un risque alpha =  $5 \times 10^{-3}$  (CpG ciblées sur les gènes d'intérêt) et un risque beta = 0,2 a permis de calculer une taille d'effet minimale détectable  $|\rho|$  de 0.77. L'analyse à l'échelle pangénomique sera exploratoire. **Dans un 1<sup>er</sup> temps**, nous étudierons le profil épigénomique en résolution nucléotidique à l'échelle du génome (puce Illumina Infinium MethylationEPIC BeadChip, 850.000 CpG). Par ailleurs, nous étudierons le transcriptome via une approche RNA-seq. Parallèlement nous étudierons le phénotype de méthionine-dépendance par un test développé au sein de l'unité UMR\_S INSERM 1256, N-GERE (test de prolifération dans des conditions de culture appropriées avec ou sans méthionine). **Dans un 2<sup>e</sup> temps**, les cellules pour lesquelles une modification du profil de méthylation est mise en évidence en association à la présence d'une transcription antisens et l'altération de l'expression d'un gène cible et leur profil de méthionine-dépendance feront l'objet d'une étude de la formation de tumorosphères et de leur capacité à produire des cellules souches cancéreuses. **Dans un 3<sup>e</sup> temps**, ces lignées cellulaires exposées ou non exposées aux radiations ionisantes seront greffées dans des souris « *nude* » (système immunitaire déficient, thymus absent, diminution majeure du nombre de lymphocytes T) afin d'étudier leur méthionine-dépendance *in vivo* par PET-scan par étude de l'incorporation du traceur méthionine.

Etude préliminaire de faisabilité : Nous avons réalisé une étude préliminaire d'irradiation des lignées cellulaires U251, MeWo, Mewo-LC1, HepG2 et A549. Nous avons mis en place trois protocoles d'irradiation : 5 doses cumulées de 0,2 Gy, une dose de 1 Gy et une dose de 2,5 Gy (projet de Master 2 soutenu en juin 2019). Les méthylomes réalisés sur l'ADN extrait dans le décours immédiat de l'irradiation ont démontré une nette démarcation entre d'une part les cellules exposées à une faible dose cumulée (0,2 Gy x 5) et les cellules non-exposées et d'autre part les cellules exposées à une forte dose d'irradiation (1 Gy et 2,5 Gy). Nous avons noté une variation du niveau de méthylation sur le locus de *MAT2A* avec une traduction sur l'expression du gène. Ces résultats méritent une confirmation et soulignent l'importance d'étudier les profils de méthylation de façon séquentielle incluant une étude du méthylome après un délai d'une à deux semaines post-irradiation. Un article récent publié dans *Nature Medicine* montre une surexpression de *MAT2A* dans les cancers du poumon <sup>52</sup>.

### 7.3. Prédicteurs génétiques et épigénétiques dans le cancer et développement de nouveaux biomarqueurs circulants dans le carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la plus fréquente des tumeurs malignes primitives du foie.<sup>80-82</sup> Le CHC représente le 5<sup>e</sup> cancer le plus fréquent chez l'homme et le 7<sup>e</sup> cancer le plus fréquent chez la femme et occupe le second rang de cause de mortalité par cancer dans le monde avec plus de 700.000 nouveaux cas diagnostiqués chaque année.<sup>80, 81</sup> La cirrhose représente un facteur de risque majeur du CHC.

Nous avons évalué les déterminants génétiques<sup>45</sup> et épigénétiques<sup>48</sup> du risque primaire de carcinome hépatocellulaire chez les patients cirrhotiques. Cette double approche a permis de mettre en évidence des loci d'intérêt tant sur le versant génétique (*BRIP1*, réparation de l'ADN) qu'épigénétique (îlot CpG sur le gène *SEPT9*) (**Figures 14 et 15**).

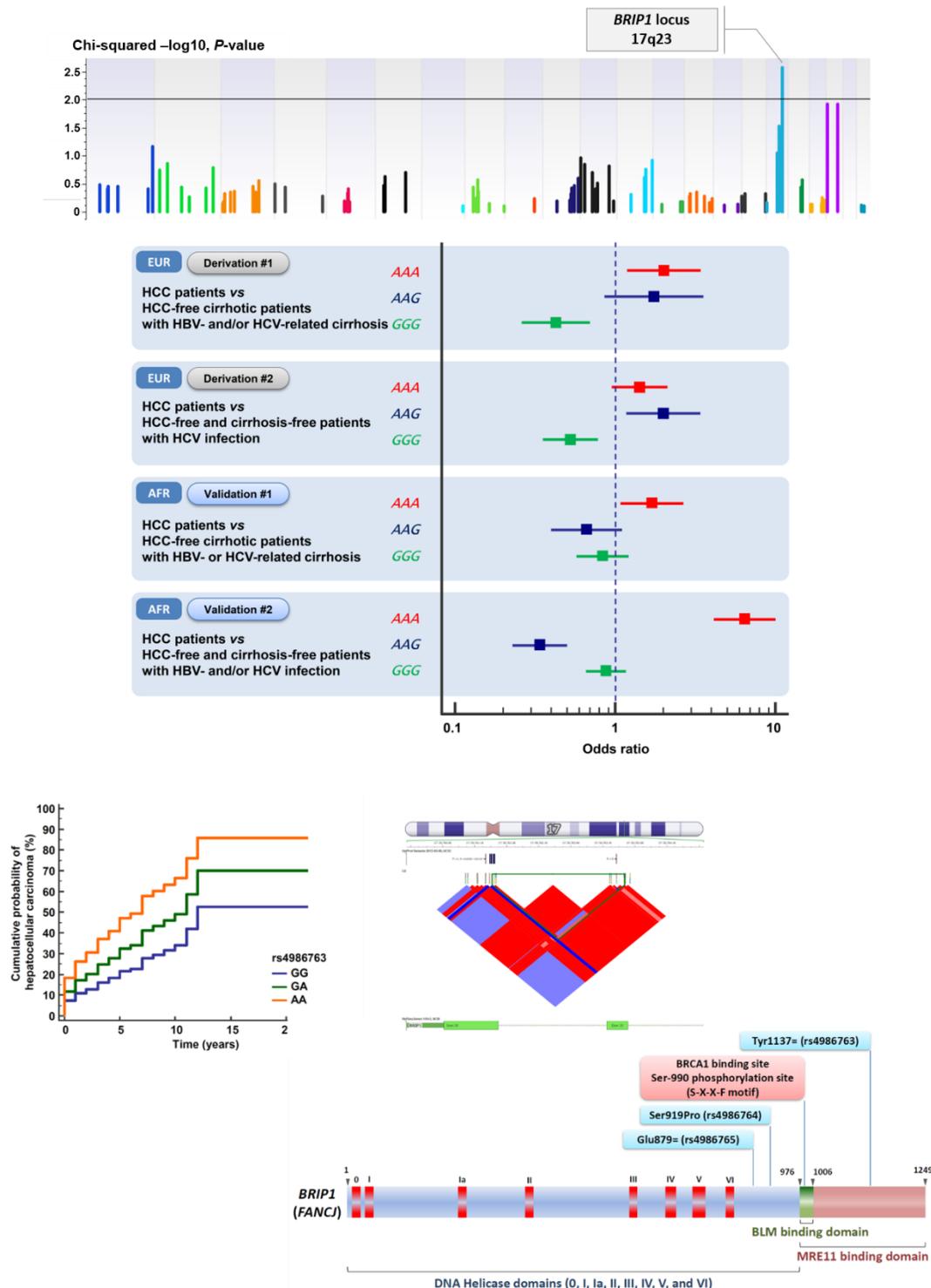


**Figure 14.** Vue générale du programme de recherche du candidat autour de la thématique des déterminants génomiques et épigénomiques du carcinome hépatocellulaire.

#### 7.3.1. Prédicteurs génétiques du risque de carcinome hépatocellulaire

Dans le cadre de l'évaluation des déterminants génétiques du risque primaire de carcinome hépato-cellulaire, nous avons évalué via un SNP-array dédié aux gènes impliqués dans la réparation e l'ADN des patients cirrhotiques ayant présenté ou non une greffe carcinomateuse à type de carcinome hépatocellulaire. Le principal résultat était la mise en évidence d'un variant faux-sens dans le gène *BRIP1*, associé à une augmentation significative du risque de développer un carcinome hépato-cellulaire. Le gène *BRIP1* (BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1) étant un gène majeur de la réparation de l'ADN qui intervient dans la réparation des cassures double brin de l'ADN. L'étude des facteurs génétiques, notamment ciblant le rôle des variants rares, se poursuit via une approche NGS en collaboration avec

l'équipe du Pr. Laurent Abel (Institut Imagine) au sein de laquelle j'ai effectué ma mobilité post-doctorale (Figure 14).



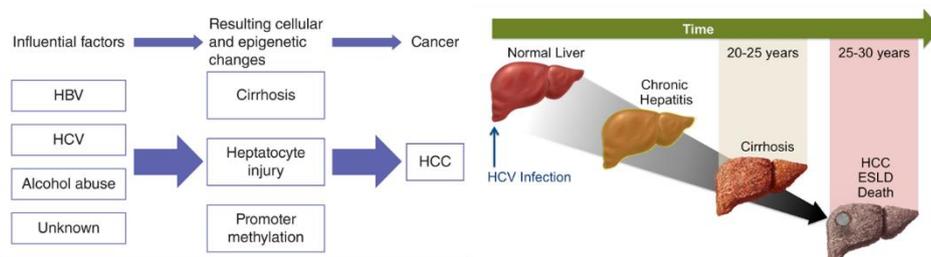
**Figure 15.** Résultats principaux de l'étude CiRCE sur les déterminants génétiques du risque primaire de carcinome hépatocellulaire chez le patient cirrhotique (Oussalah A, *et al.* 2017).<sup>45</sup>

### 7.3.2. Biomarqueurs épigénétiques tissulaires du carcinome hépatocellulaire

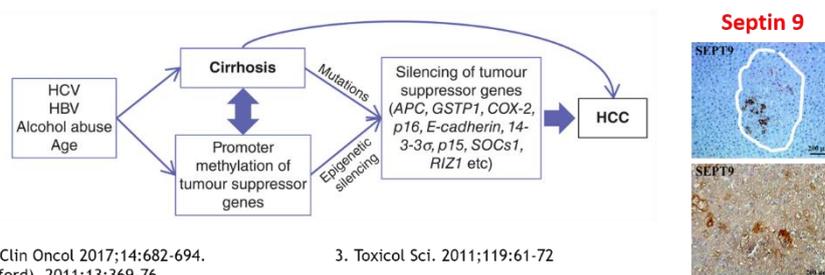
L'importance de l'étude des facteurs épigénétiques tissulaires intervenant au cours de la carcinogenèse hépatique chez le patient atteint de cirrhose a été soulignée par l'étude du consortium Heptomic publiée en 2015 (**Figure 16**).<sup>83</sup> Dans ce travail de consortium qui a inclus 304 patients, les échantillons de résection de carcinomes hépatocellulaires étaient analysés. L'objectif principal étant l'élaboration d'un modèle pronostic. Plusieurs loci d'intérêt étaient mis en évidence, dont *NOTCH3*, Ephrin B2 (*EFNB2*) et Septin 9 (*SEPT9*) confirmant ainsi l'intérêt de ce dernier locus qui a fait l'objet d'un développement spécifique en tant que biomarqueur plasmatique circulant par l'équipe du CHRU de Nancy à partir de 2012.

#### Sequence: Cirrhosis → Epigenetic alterations → Hepatocellular Carcinoma

- **Epigenetic alterations (DNA methylation):** early event during carcinogenesis.<sup>1</sup>



- **“Cirrhosis - HCC” sequence:** aberrant methylation of the promoters of tumor repressor genes.<sup>2</sup>



1. Nat Rev Clin Oncol 2017;14:682-694.  
2. HPB (Oxford). 2011;13:369-76.

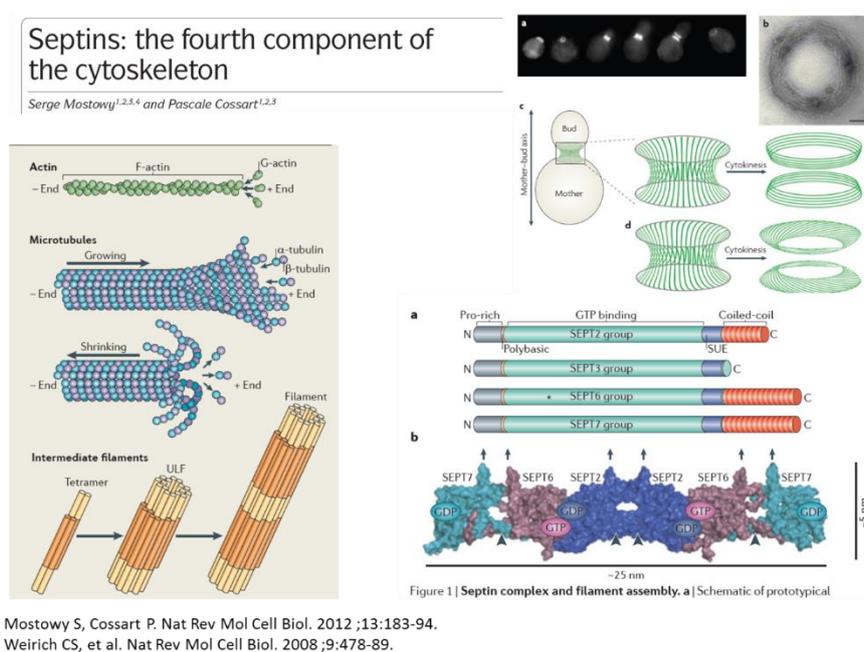
3. Toxicol Sci. 2011;119:61-72

**Figure 16.** Séquence des altérations épigénétiques au cours de la carcinogenèse hépatique chez le patient cirrhotique.

Les septines sont des GTP-binding protéines qui appartiennent à une famille de protéines hautement conservées chez les eucaryotes.<sup>84</sup> Les septines sont reconnues comme un nouveau composé du cytosquelette et participent à diverses fonctions telle que le repliement pour le recrutement de protéines ou comme barrière de diffusion pour la compartimentation cellulaire avec plusieurs rôles au cours de la division cellulaire et l'organisation du cytosquelette.<sup>85</sup> Les septines sont impliquées dans la formation des complexes de filaments qui interviennent dans la cytokinèse, le *trafficking* vésiculaire, l'apoptose et le maintien de la polarité cellulaire.<sup>86</sup> Chez l'homme, 14 protéines septines ont été décrites (SEPT1 à

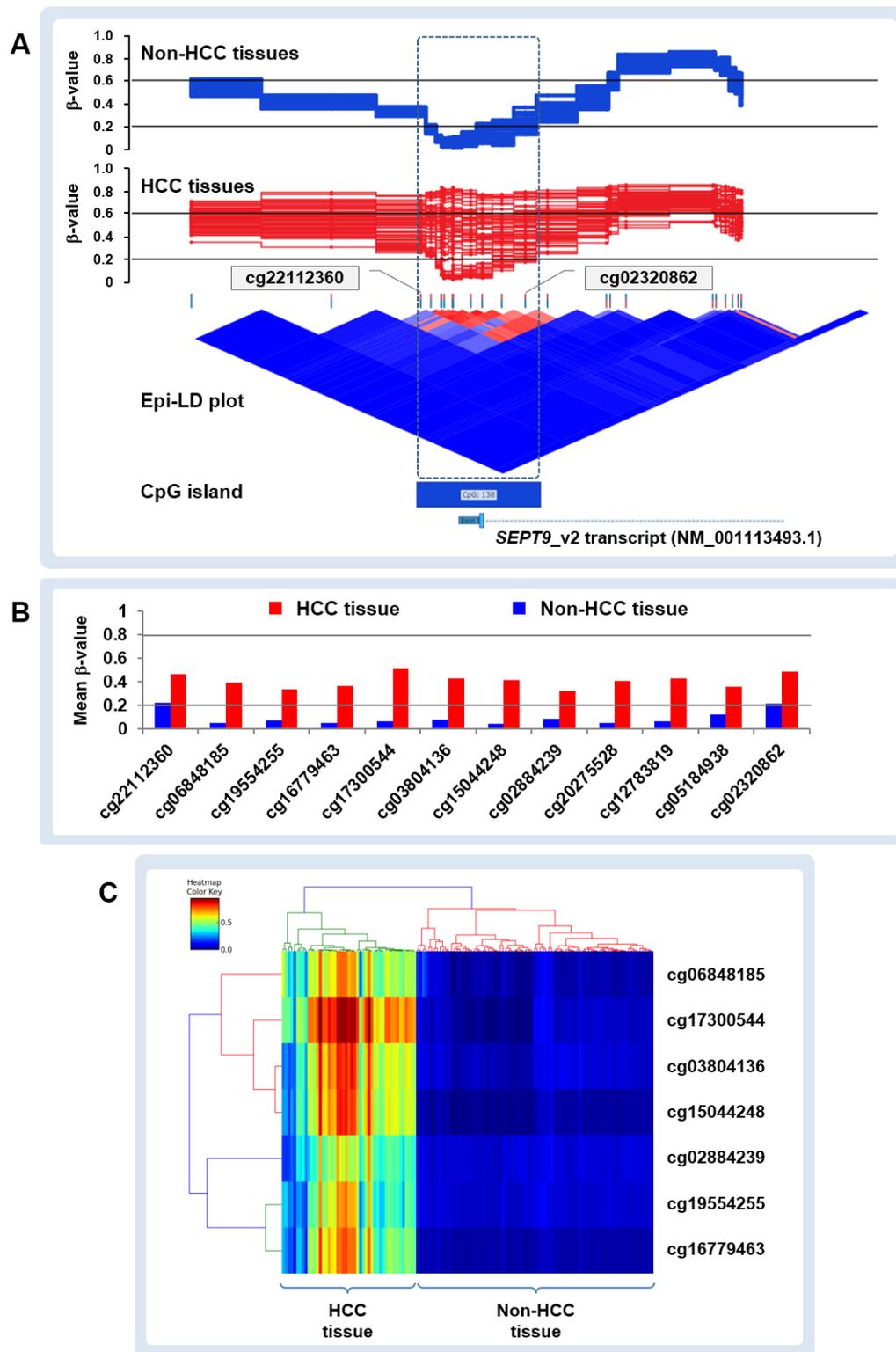
SEPT14)<sup>84</sup> et des anomalies d'expression de ces protéines ont été mises en évidence dans divers processus pathologiques tels que la maladie d'Alzheimer (SEPT1, 2, 3, 4 et 7), les troubles bipolaires (SEPT5, 6 et 11), l'infertilité masculine (SEPT4, 7 et 12), et le cancer (SEPT1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, et 12) (**Figure 17**).<sup>84</sup>

La méthylation aberrante de séquences d'ADN survient fréquemment au cours de la carcinogenèse et a été mise en évidence par PCR (*polymerase chain reaction*) dans la circulation systémique de patients atteints de cancer.<sup>87, 88</sup> Par exemple, l'hyperméthylation du gène SEPT9 a été retrouvée dans le cas du cancer du sein ou du cancer colorectal.<sup>89-99</sup> La technique de quantification du niveau de méthylation du gène SEPT9 a été développée et testée dans le cancer colorectal.<sup>96</sup> Plusieurs études pilotes ont confirmé que la détection d'AND méthylé de SEPT9 dans la circulation systémique était associée à la présence d'un cancer colorectal.<sup>89, 91, 94, 96, 98, 100</sup> Ces données préliminaires ont été confirmées dans un essai prospectif de phase III portant sur 7900 sujets (PRESEPT Study; <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00855348?term=Septin&rank=3>)<sup>101</sup> suggérant que le cancer colorectal pouvait être dépisté chez les sujets âgés de plus de 50 ans via la mesure du niveau de méthylation de SEPT9.<sup>101</sup> Une analyse en microarray de 7287 tissus humains et de 292 lignées cellulaires a démontré que le gène SEPT9 était surexprimé dans diverses tumeurs telles que les adénocarcinomes incluant les adénocarcinomes coliques et hépatiques.<sup>102</sup>



**Figure 17.** Les septines appartiennent à un groupe de protéines hautement conservé et sont impliquées dans des fonctions cellulaires fondamentales telles que la compartimentation cellulaire et l'organisation du cytosquelette.

Dans le cadre d'une collaboration avec le Pr. Chen Liu de la Robert Wood Johnson Medical School, Rutgers University / New Jersey Medical School, Rutgers University et le Pr. Keith D. Robertson du Center for Individualized Medicine, Epigenomics Program, Mayo Clinic Rochester, j'animerai une collaboration avec l'unité INSERM UMR\_S 1256 (Pr. Jean-Louis Guéant, Pr. Jean-Pierre Bronowicki) via une analyse épigénome-wide sur une cohorte de 120 patients cirrhotiques (VHB, VHC, alcool) avec ou sans greffe carcinomateuses et pour lesquels des données de méthylome ont été générées à partir des échantillons tissulaires. Une étude préliminaire in silico à partir de données déjà publiées et disponibles dans le registre GEO a permis de confirmer l'intérêt du locus SEPT9 qui montre une nette discrimination entre les échantillons tissulaires de CHC et contrôle (**Figure 18**).



**Figure 18.** Comparaison des profils de méthylation du gène *SEPT9* dans des échantillons tissulaires de CHC et de tissu hépatique non cancéreux. (A) Profil de méthylation de l'îlot CpG :138 du gène *SEPT9* avec la structure de l'épi-haplotype ; (B) profil de méthylation de chaque sonde CpG étudiées dans l'îlot CpG :138 dans les échantillons tissulaires cancéreux et non cancéreux ; (C) analyse en clustering hiérarchique mettant en évidence le caractère discriminant du locus *SEPT9* entre les échantillons tissulaires cancéreux et non cancéreux.

### 7.3.3. Biomarqueurs épigénétiques circulants du carcinome hépatocellulaire

#### 7.3.3.1. Protocole SEPT9\_CROSS (NCT03311152 ; N° EUDRACT 2017-A01885-48)

Chaque année le cancer du foie est diagnostiqué chez plus d'un demi-million de sujets dans le monde.<sup>80</sup> Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la cinquième cause de cancer chez l'homme et la septième cause de cancer chez la femme.<sup>80</sup> Les facteurs de risque majeurs du CHC incluent les hépatites virales B et C, l'alcool et la NAFLD. Le risque cumulé à 5 ans chez le cirrhotique pour le développement d'un CHC varie entre 5 et 30 % avec le risque le plus élevé observé chez les patients atteints de cirrhose virale C.<sup>80</sup> L'alpha-foetoprotéine (AFP) a été largement utilisée comme marqueur diagnostique du CHC, néanmoins selon les recommandations de l'*American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)* l'AFP n'est pas suffisamment sensible ni spécifique pour servir comme test de dépistage.<sup>103</sup> De façon consistante, l'*European Association for the Study of Liver Disease (EASL)* confirme la place suboptimale de l'AFP dans le dépistage du CHC chez les patients à risque.<sup>104</sup>

Le gène *SEPT9* a été impliqué dans la carcinogenèse hépatique chez le rat impliquant son rôle potentiel dans l'initiation du processus de carcinogenèse hépatique.<sup>105</sup> A ce jour, une seule étude a évalué la faisabilité de la détection d'une méthylation aberrante liée à la tumeur chez des patients atteints de CHC et a suggéré que l'ADN tumoral hépatocytaire pouvait être détecté par les méthodes de mesure du niveau de méthylation (**Figure 19**).<sup>88</sup>

A ce jour, aucune étude n'a évalué la précision diagnostique de la mesure du niveau de méthylation de *SEPT9* (mSEPT9) dans le plasma pour le diagnostic du CHC. L'objectif principal du protocole SEPT9\_CROSS est de comparer les performances diagnostiques du test plasmatique mSEPT9 et de l'AFP pour le diagnostic du CHC chez le patient cirrhotique. Le critère d'évaluation principal est d'évaluer la performance diagnostique du test mSEPT9 et de l'AFP estimée par leur sensibilité, spécificité et l'aire sous la courbe ROC (Receiver Operating Characteristics, AUROC). Les patients suivis pour une cirrhose dans le service d'Hépatogastroentérologie du CHRU de Nancy et répondant aux critères de l'étude seront inclus de façon consécutive après recueil de leur consentement exprès oral. Si l'hypothèse de l'étude est confirmée, une étude nationale multicentrique aura pour but de répliquer les résultats afin d'évaluer la pertinence de mSEPT9 plasmatique comme nouveau biomarqueur du CHC chez le patient cirrhotique. La détermination quantitative du niveau de méthylation de SEPT9 sera réalisée après conversion bisulfite en utilisant le kit Epi proColon kit 2.0. La quantification du niveau de méthylation sera faite par Epi proColon 2.0 RT-PCR assay (**Figure 20**). Le protocole SEPT9\_CROSS est financé et a inclus à ce jour plus de 250 patients (**Figure 21**).

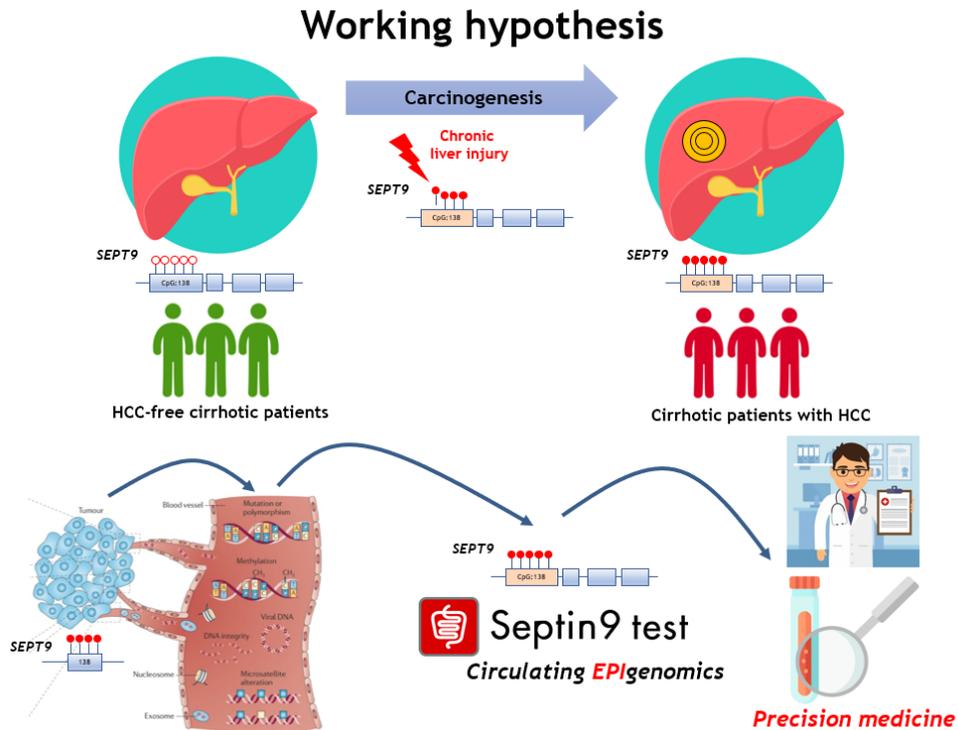


Figure 19. Schéma général et hypothèse d'étude du protocole SEPT9\_CROSS.

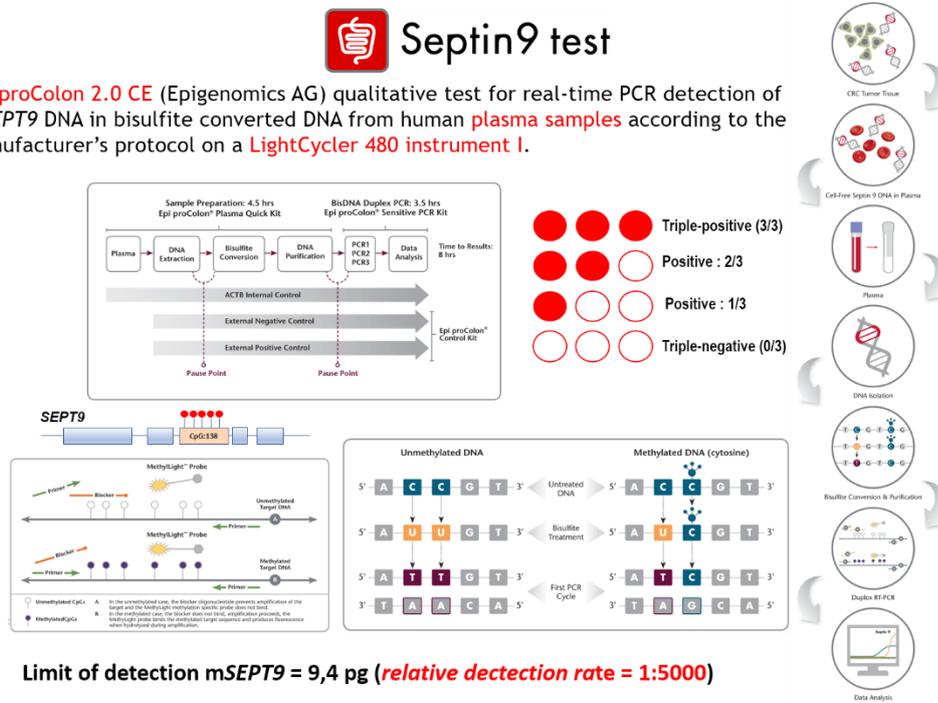
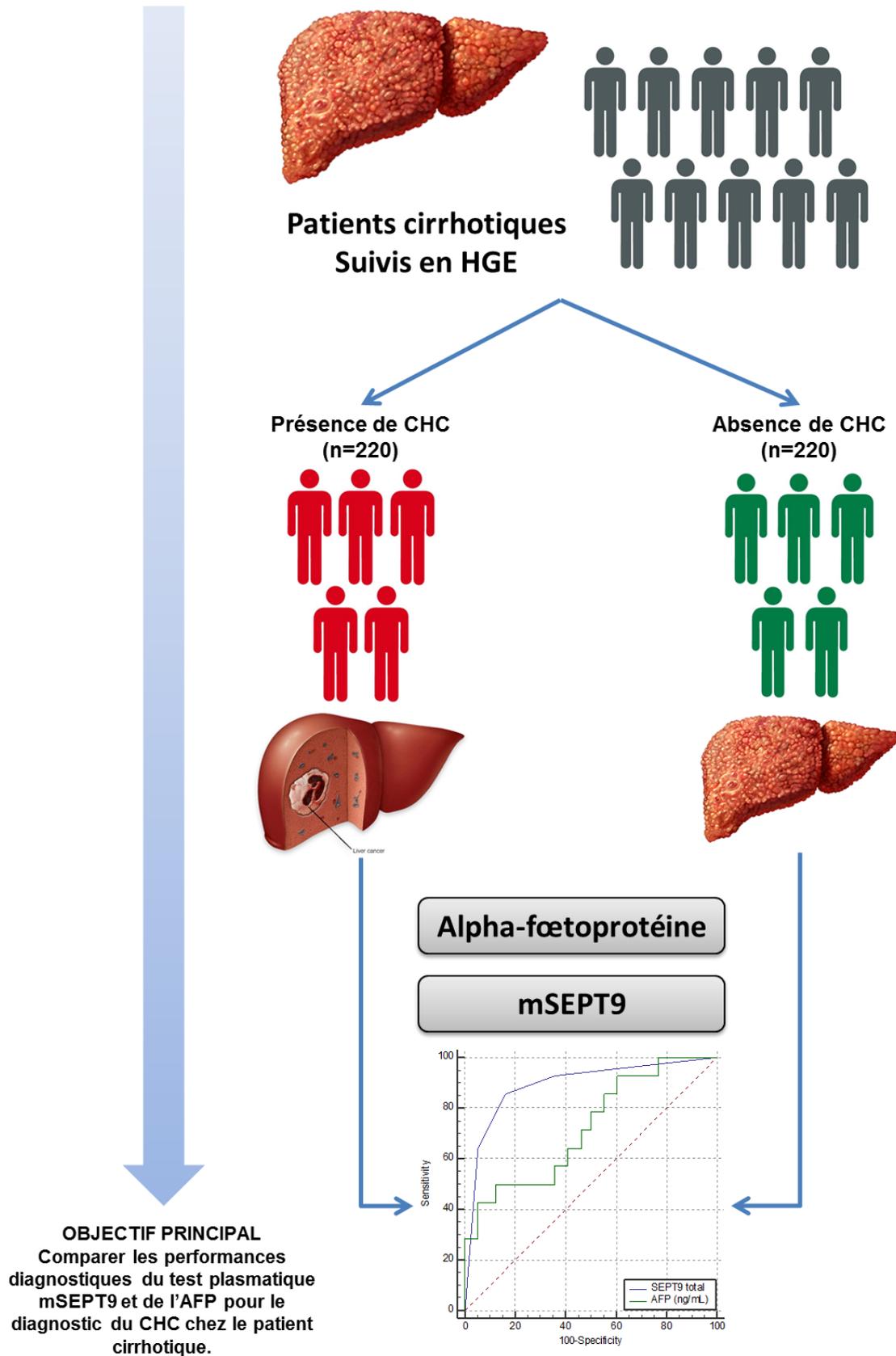


Figure 21. Principe d'évaluation du profil de méthylation de l'îlot CpG du gène SEPT9.

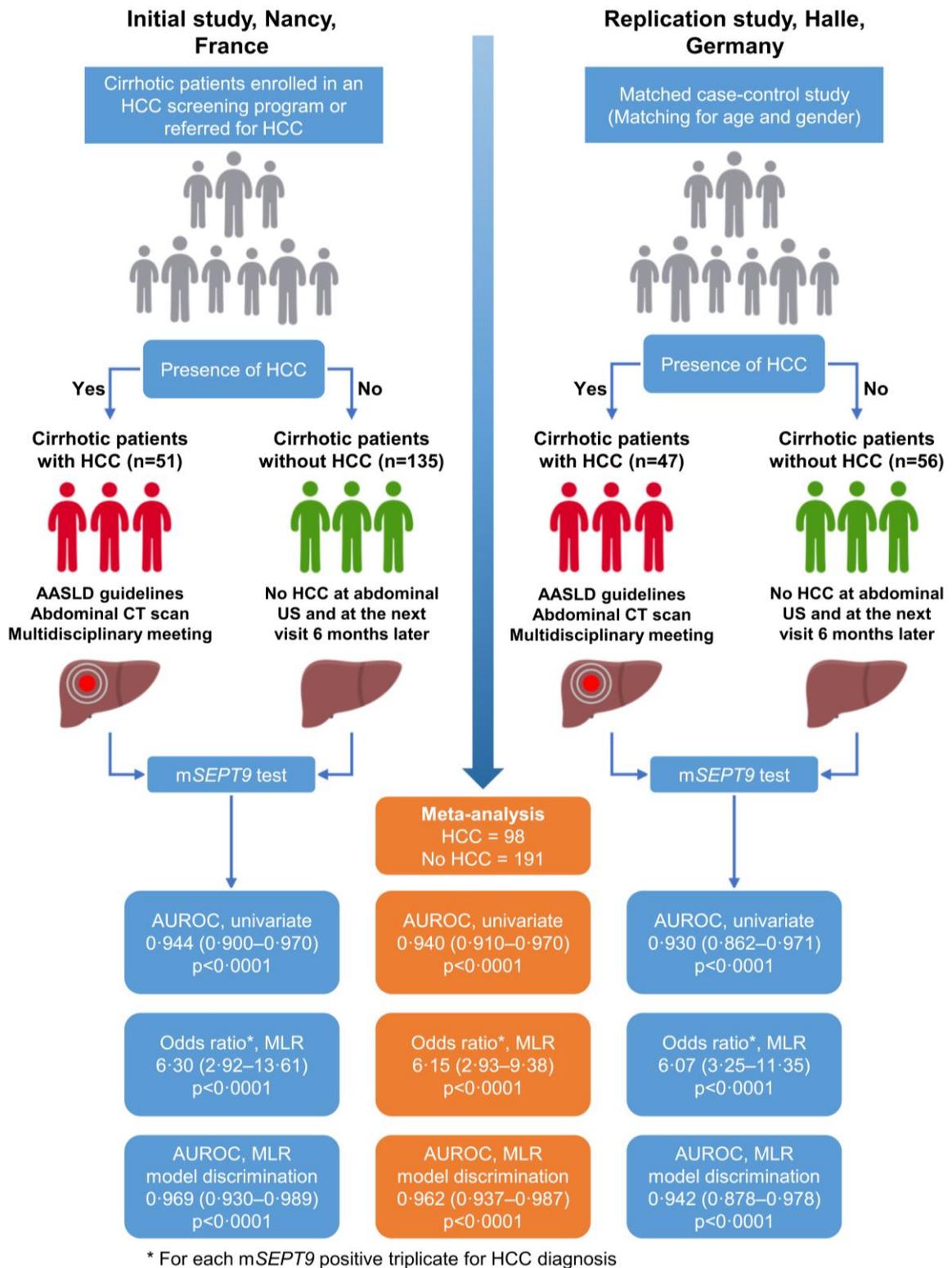


**Figure 21.** Conception de la recherche dans le cadre du protocole SEPT9\_CROSS

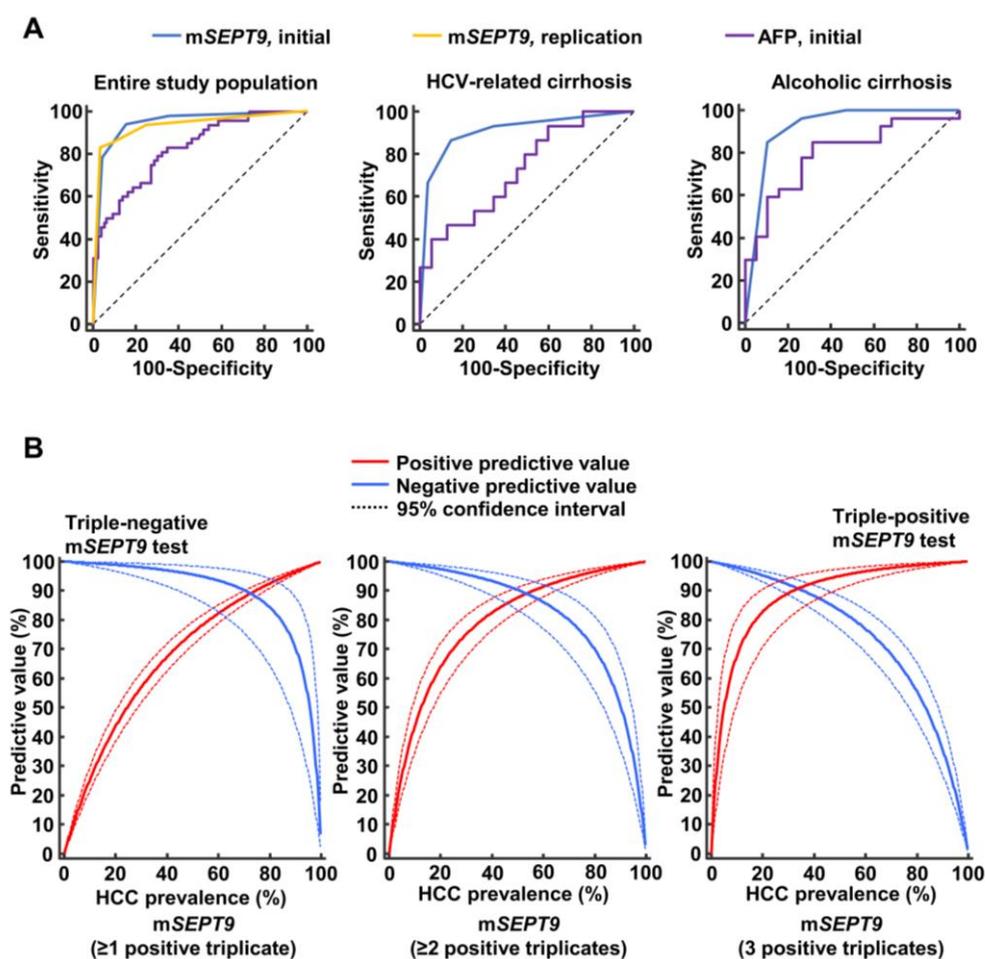
Depuis le mois de février 2018, un essai prospectif biomarqueur de phase 2 mené au CHRU de Nancy et coordonné par le Département de Médecine Moléculaire du CHRU de Nancy (*SEPT9\_CROSS*, NCT03311152 : *Circulating Cell-free DNA-based Epigenetic Biomarker mSEPT9 for Hepatocellular Carcinoma Detection in Cirrhosis* ; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03311152>) permettrait en cas de confirmation des résultats, d'apporter une validation indépendante du test m*SEPT9* comme biomarqueur diagnostique du CHC chez le patient cirrhotique. Les inclusions dans l'essai *SEPT9\_CROSS* ont débuté en février 2018 et ont permis de recruter sur une période de 7 mois un total de 200 patients sur les 440 attendus (recrutement moyen  $\approx$  30 patients par mois).

### 7.3.3.2. Protocole *SEPT9\_SuRV*

Les altérations épigénétiques, notamment via la méthylation de l'ADN, représentent un marqueur classique de la carcinogenèse chez l'homme.<sup>106, 107</sup> Le gène *SEPT9* code pour la protéine septine-9 qui joue un rôle de répresseur de tumeur.<sup>83, 102, 105</sup> L'inactivation épigénétique de l'expression du gène *SEPT9* par hyperméthylation de son promoteur a été démontrée comme étant un évènement moteur de la carcinogenèse hépatique chez le rat et chez l'homme.<sup>83, 105</sup> Plusieurs travaux ont démontré l'intérêt des approches omiques dans l'évaluation des altérations épigénétiques en lien avec la carcinogenèse, néanmoins à ce jour aucune approche n'a été validée pour une utilisation diagnostique à l'échelle du patient individuel.<sup>83</sup> Dans un essai *proof-of-concept* biomarqueur de phase 2 répliqué sur une cohorte indépendante allemande, sur 289 patients cirrhotiques, nous avons récemment démontré que la mesure du niveau de méthylation du gène *SEPT9* (biomarqueur m*SEPT9*) dans le plasma avait une excellente performance diagnostique pour la détection du CHC avec une aire sous la courbe ROC (AUROC) de 0,944 (0,900–0,970 ;  $P < 0,0001$ ) (Figure 1 et Figure 2A).<sup>48</sup> Un test m*SEPT9* triple-négatif était associé à un odds ratio (OR) de 54,66 pour exclure un CHC alors qu'un test m*SEPT9* triple-positif était associé à un OR de 91,53 pour retenir le diagnostic de CHC.<sup>48</sup> De la même façon, un test m*SEPT9* triple-négatif présentait une valeur prédictive négative de 97,2 % (92,1–100 ;  $P < 0,0001$ ) (pour l'exclusion du diagnostic de CHC) et un test m*SEPT9* triple-positif présentait une valeur prédictive positive de 91,5 % (83,6–99,4 ;  $P < 0,0001$ ) pour retenir un diagnostic de CHC (**Figures 22, 23**).<sup>48</sup>



**Figure 22.** Performance diagnostique du test mSEPT9 pour le diagnostic du carcinome hépatocellulaire chez les patients cirrhotiques (Oussalah A, *et al.* 2018)<sup>48</sup>



**Figure 23.** Performance diagnostique et valeurs prédictives positive et négatives du test mSEPT9 pour le diagnostic du carcinome hépatocellulaire chez les patients cirrhotiques (Oussalah A, *et al.* 2018)<sup>48</sup>

Les sociétés savantes Américaine (AASLD, *American Association for the Study of Liver Diseases*) et Européenne (EASL, *European Association for the Study of the Liver*) ont émis leur recommandations sur le dépistage du CHC chez le patient cirrhotique.<sup>108, 109</sup> Les deux sociétés savantes suggèrent une stratégie de dépistage du CHC basée sur l'échographie hépatique, tout en soulignant le caractère opérateur dépendant et la sensibilité limitée de cette stratégie pour le diagnostic du CHC, notamment à un stade précoce.<sup>108, 109</sup> Une étude cas-témoins récemment publiée a corroboré ces recommandations.<sup>110</sup> Cette étude a été menée sur la base de données « *US Veterans Affairs* » et a évalué l'efficacité de la stratégie de dépistage basée sur l'échographie et la mesure de l'alpha-fœtoprotéine pour la réduction de mortalité par CHC chez les patients cirrhotiques.<sup>110</sup> La comparaison de 238 cas appariés au même nombre de témoins n'a pas mis en évidence une différence

significative pour ce qui est de la proportion de patients ayant bénéficié d'une échographie hépatique, d'une mesure de l'alpha-fœtoprotéine ou les deux procédures combinées au cours des 4 années ayant précédé la date index de l'étude.<sup>110</sup> Dans leurs recommandations, les deux sociétés savantes (AASLD et EASL) insistent également sur la nécessité de rechercher de nouveaux biomarqueurs qui permettraient un diagnostic précoce du CHC.<sup>109</sup>

108

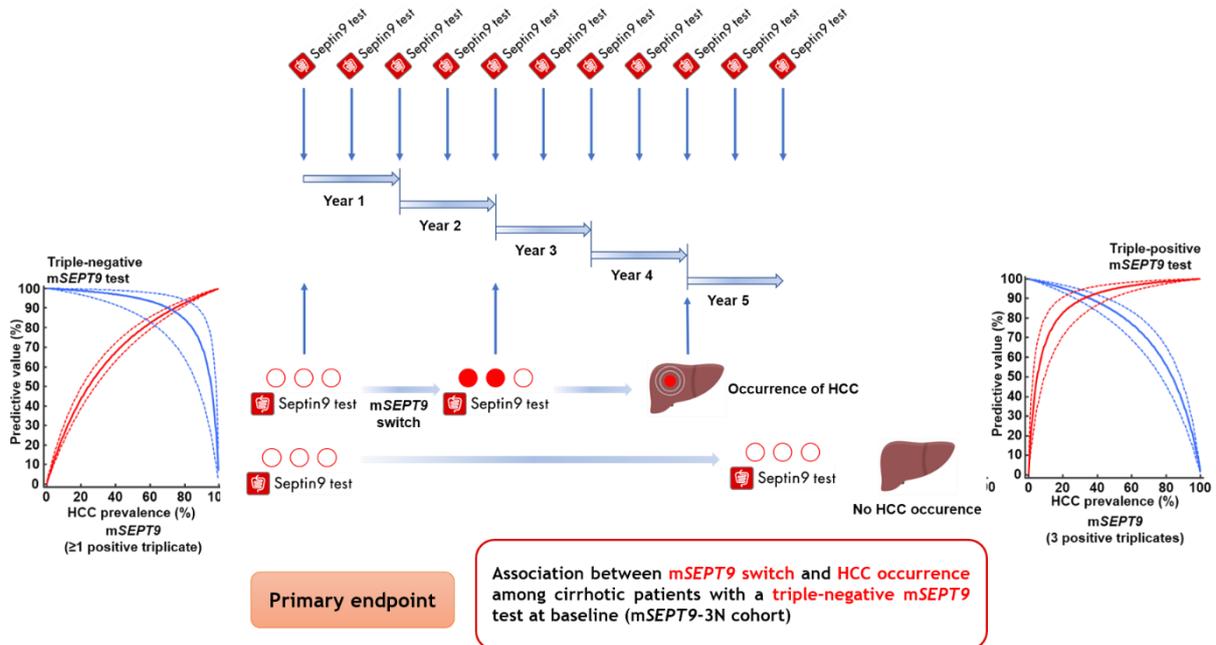
L'hyperméthylation du locus *SEPT9* est un événement primaire qui précède de plusieurs mois l'occurrence du CHC.<sup>83, 105</sup> Par conséquent, au cours de la carcinogenèse hépatique chez le patient cirrhotique, l'évolution depuis le stade CHC-négatif vers un stade CHC-positif s'accompagnera d'un switch du profil du test m*SEPT9* depuis statut négatif vers un statut positif pour au moins l'un des trois triplicats. Le switch m*SEPT9* surviendra plusieurs mois avant l'apparition du CHC car les mécanismes de la carcinogenèse hépatique médiés par la méthylation aberrante du locus *SEPT9* font intervenir une répression de l'expression du gène et une baisse de la fonction de répression tumorale exercée par la protéine septine-9 (**Figure 24**).

La présente étude (*SEPT9\_SuRV*) permettra de répondre à une nouvelle question qui est celle de l'utilité du test m*SEPT9* pour la prédiction de la survenue du CHC chez les patients présentant une cirrhose. L'objectif primaire du protocole *SEPT9\_SuRV* est d'évaluer l'association entre un switch du test m*SEPT9* et la survenue d'un CHC chez le patient cirrhotique dans les sous-groupes étiologiques les plus fréquents : alcool, VHC, VHB et stéatohépatite non-alcoolique (NASH). Une cohorte prospective de 400 patients cirrhotiques ne présentant pas de CHC lors de l'inclusion dans chacun des centres participants, sera suivie de façon standardisée tous les 6 mois, tel que préconisé par les recommandations internationales, sur une durée totale de 60 mois, soit une visite d'inclusion et 10 visites de suivi. Lors de chaque point d'évaluation, chaque patient bénéficiera d'une évaluation clinique, biologique et radiologique selon les recommandations internationales en vigueur avec l'ajout d'un test m*SEPT9* plasmatique, spécifique à la recherche, à chacune des 11 visites. Dans chaque centre d'inclusion et à chaque visite, lors de la réalisation de la phlébotomie pour l'évaluation biologique de routine, deux échantillons sanguins supplémentaires de 10 mL seront prélevés sur un tube EDTA et seront consacrés au test m*SEPT9*. A partir des échantillons sanguins, le plasma sera extrait et les aliquotes seront conservées à -80°C dans chaque centre en vue de la réalisation du test m*SEPT9* en centralisé au CHRU de Nancy. La réalisation des tests m*SEPT9* sera effectuée par séries (batches) tout au long de l'étude et les résultats seront exploités à la fin de l'étude. Les résultats du test m*SEPT9* ne seront pas transmis au clinicien pendant la période de l'étude car ils ne serviront pas à orienter la prise en charge des patients participant à l'étude. Ils

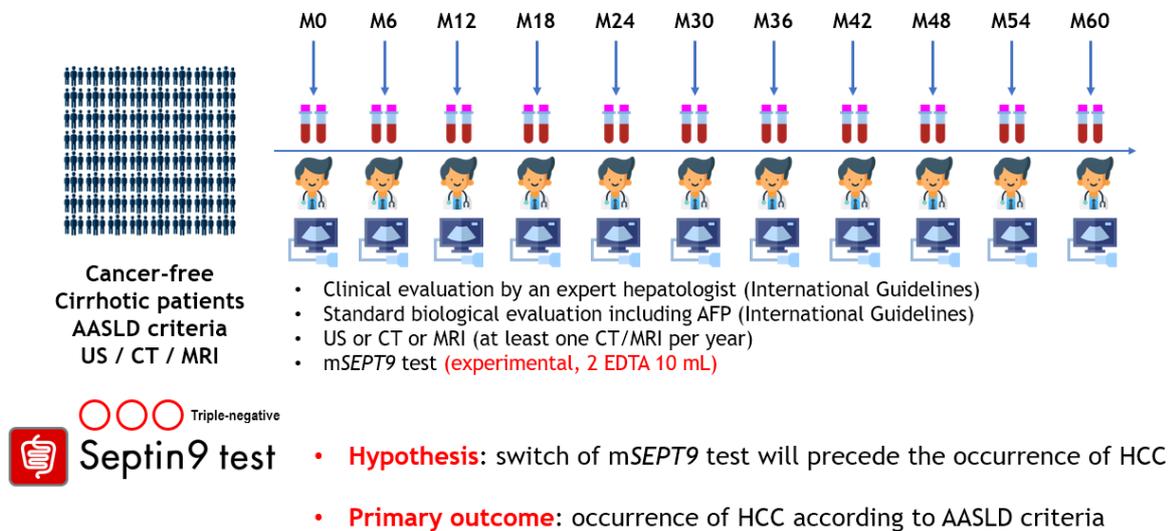
seront néanmoins communiqués après l'analyse finale des résultats. La survenue d'un CHC au cours du suivi du patient définit l'occurrence du critère d'évaluation principal, qui mène à une sortie prématurée de l'étude et à l'arrêt des prélèvements pour le test mSEPT9. Les données cliniques, biologiques et radiologiques seront recueillies à partir des dossiers médicaux dans un CRF électronique (CleanWeb®) géré par la plateforme d'aide à la recherche clinique (PARC) qui permettra le suivi multicentrique de tous les patients inclus dans la cohorte.

La problématique de l'étude *SEPT9\_SuRV* vise le développement d'un nouveau biomarqueur permettant la détection précoce du CHC et qui repose actuellement sur une stratégie peu sensible basée sur l'échographie hépatique et l'alpha-foetoprotéine.<sup>108-110</sup> La détection du CHC à un stade précoce (BLCL 0 ou BCLC A) est associée à une survie médiane supérieure à 5 ans en comparaison à celle observée pour les stades plus avancés (BCLC B, C et D).<sup>111</sup> Le caractère innovant du protocole *SEPT9\_SURV* repose sur l'approche non invasive du dépistage du CHC en se basant sur l'épigénome circulant avec un impact potentiel majeur sur les stratégies de dépistage du CHC chez le patient cirrhotique. Si l'hypothèse de l'étude se confirme, l'identification des sujets à risque permettra d'établir un suivi personnalisé rapproché pour les sujets cirrhotiques à risque, un diagnostic précoce de CHC et la mise en place de traitements précoces avec un impact sur la survie et la qualité de vie. La démonstration de l'intérêt du biomarqueur mSEPT9 comme outil de détection précoce apportera un changement dans les pratiques de dépistage et les recommandations quant à la surveillance du CHC chez le patient cirrhotique.

## SEPT9\_SuRV



## SEPT9\_SuRV study design



**Figure 24.** Hypothèse générale et design du protocole de recherche SEPT9\_SuRV

#### **7.4. Synthèse du projet et des perspectives de recherche**

Mon programme de recherche s'inscrit autour d'une thématique axée sur le métabolisme des monocarbones, la méthionine-dépendance et sa relation avec la cancérogenèse. Le projet EpiMet qui s'articule sur cette thématique permettra d'évaluer les relations étiopathogéniques entre le stress cellulaire, les altérations de l'épigénome et l'apparition de cellules souches cancéreuses. Le versant translationnel de ma thématique de recherche ouvre la voie à de nouvelles applications cliniques, notamment via l'utilisation de biomarqueurs basés sur l'épigénome circulant pour le diagnostic précoce et non-invasif du cancer à l'instar du carcinome hépatocellulaire chez le patient cirrhotique, dans le cadre d'une médecine de précision.



## 8. LISTE DETAILLÉE DES PUBLICATIONS

### 8.1. Manuscrits soumis

1. Wiedemann A, Coelho D, Flayac J, Gueguen N, Desquirit-Dumas V, Feillet F, Lavigne C, Neau JP, Fowler B, Baumgartner MR, Reynier P, Guéant JL, **Oussalah A** (**corresponding author**). *MTHFR* and *POLG* mutations and impaired activity of the mitochondrial respiratory chain in 46-year-old twins with spastic paraparesis. *Journal of Human Genetics*. **Accepted**.
2. Blanca M, **Oussalah A**, Cornejo-García JA, Rodriguez-Gueant RM, Doña I, Cristobalina M, Chery C, ROUYER P, CARMONA FD, López-Neyra A, Torres MJ, and Gueant JL. GNAI2 variants predict non-steroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity in a genome-wide study. *Allergy*. **Accepted**.
3. **Oussalah A**, Yip V, Mayorga C, Blanca M, Barbaud A, Nakonechna A, Cernadas J, Gotua M, Brockow K, Caubet JC, Bircher A, Atanaskovic-Markovic M, Pascal P, Kase-Tanno L, Terreehorst I, Laguna JJ, Romano A, Guéant JL, Pirmohamed M, on behalf of the Task Force “Genetic predictors of drug hypersensitivity” of the European Network on Drug Allergy (ENDA), European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). Genetic variants associated with T-cell mediated hypersensitivity reactions to drugs: a PRISMA-compliant systematic review. *Allergy*. **Accepted**.
4. **Oussalah A** (**corresponding author**), Levy J, Berthezène C, Alpers DH, and Guéant JL. Health Outcomes Associated with Vegetarian Diets: An Umbrella Review of Systematic Reviews and Meta-Analyses. **Submitted**.
5. **Oussalah A**, Jeannesson-Thivisol E, Chéry C, Perrin P, Rouyer P, Josse T, Cano A, Barth M, Fouilhoux A, Mention K, Labarthe F, Arnoux JB, Maillot F, Lenaerts C, Dumesnil C, Wagner K, Terral D, Broué P, De Parscau L, Gay C, Kuster A, Bédu A, Besson G, Lamireau D, Odent S, Masurel A, Herbeth B, Guéant-Rodriguez RM, Feillet, Guéant JL, Namour F. Combined Multiethnic Sanger Sequencing, Exome-Wide Association Study, and Whole-Genome Sequencing Analysis for Deciphering the Genomic Architecture of the PAH Gene: Results from a French Nationwide Study of Patients with Phenylketonuria. **Submitted**.
6. Feigerlová E\*, **Oussalah A**\*, Zuily S, Sordet S, Braun M, Guéant JL, Guerci B. Effects of e-health educational interventions on HbA1c level in patients with type 1 diabetes on

intensive insulin therapy: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Revision.**

## 8.2. Publications dans les revues indexées (PubMed)

1. Renard E, Chery C, **Oussalah A**, Josse T, Perrin P, Tramoy D, Voirin J, Klein O, Leheup B, Feillet F, Gueant-Rodriguez RM, Guéant JL. Exome sequencing of cases with neural tube defects identifies candidate genes involved in one-carbon/vitamin B12 metabolisms and Sonic Hedgehog pathway. Hum Genet 2019.
2. Pierre C, Agopiantz M, Brunaud L, Battaglia-Hsu SF, Max A, Pouget C, Nomine C, Lomazzi S, Vignaud JM, Weryha G, **Oussalah A**, Gauchotte G, Busby-Venner H. COPPS, a composite score integrating pathological features, PS100 and SDHB losses, predicts the risk of metastasis and progression-free survival in pheochromocytomas/paragangliomas. Virchows Arch 2019.
3. **Oussalah A**, Julien M, Levy J, Hajjar O, Franczak C, Stephan C, Laugel E, Wandzel M, Filhine-Tresarrieu P, Green R, Guéant JL. Global Burden Related to Nitrous Oxide Exposure in Medical and Recreational Settings: A Systematic Review and Individual Patient Data Meta-Analysis. J Clin Med 2019;8.
4. **Oussalah A (corresponding author)**, Rischer S, Bensenane M, Conroy G, Filhine-Tresarrieu P, Debard R, Forest-Tramoy D, Josse T, Reinicke D, Garcia M, Luc A, Baumann C, Ayav A, Laurent V, Hollenbach M, Ripoll C, Gueant-Rodriguez RM, Namour F, Zipprich A, Fleischhacker M, Bronowicki JP, Guéant JL. Plasma mSEPT9: A Novel Circulating Cell-free DNA-Based Epigenetic Biomarker to Diagnose Hepatocellular Carcinoma. EBioMedicine 2018;30:138-147.
5. Guéant JL, Chery C, **Oussalah A**, Nadaf J, Coelho D, Josse T, Flayac J, Robert A, Koscinski I, Gustin I, Filhine-Tresarrieu P, Pupavac M, Brebner A, Watkins D, Pastinen T, Montpetit A, Hariri F, Tregouet D, Raby BA, Chung WK, Morange PE, Froese DS, Baumgartner MR, Benoist JF, Ficicioglu C, Marchand V, Motorin Y, Bonnemains C, Feillet F, Majewski J, Rosenblatt DS. APRDX1 mutant allele causes a MMACHC secondary epimutation in cbIC patients. Nat Commun 2018;9:67.
6. **Oussalah A**, Levy J, Filhine-Tresarrieu P, Namour F, Guéant JL. Association of TCN2 rs1801198 c.776G>C polymorphism with markers of one-carbon metabolism and related

diseases: a systematic review and meta-analysis of genetic association studies. *Am J Clin Nutr* 2017;106:1142-1156.

7. **Oussalah A**, Avogbe PH, Guyot E, Chery C, Gueant-Rodriguez RM, Ganne-Carrie N, Cobat A, Moradpour D, Nalpas B, Negro F, Poynard T, Pol S, Bochud PY, Abel L, Jeulin H, Schvoerer E, Chabi N, Amouzou E, Sanni A, Barraud H, Rouyer P, Josse T, Goffinet L, Jouve JL, Minello A, Bonithon-Kopp C, Thieffin G, Di Martino V, Doffoel M, Richou C, Raab JJ, Hillon P, Bronowicki JP, Guéant JL. BRIP1 coding variants are associated with a high risk of hepatocellular carcinoma occurrence in patients with HCV- or HBV-related liver disease. *Oncotarget* 2017;8:62842-62857.
8. **Oussalah A**, Mayorga C, Blanca M, Barbaud A, Nakonechna A, Cernadas J, Gotua M, Brockow K, Caubet JC, Bircher A, Atanaskovic M, Demoly P, L KT, Terreehorst I, Laguna JJ, Romano A, Guéant JL. Genetic variants associated with drugs-induced immediate hypersensitivity reactions: a PRISMA-compliant systematic review. *Allergy* 2016;71:443-62.
9. Goffinet L, **Oussalah A**, Gueant-Rodriguez RM, Chery C, Basha M, Avogbe PH, Josse T, Jeannesson E, Rouyer P, Flayac J, Gerard P, Le Touze A, Bonin-Goga B, Goga D, Simon E, Feillet F, Vikkula M, Guéant JL. Cystathionine beta-synthase genetic variant rs2124459 is associated with a reduced risk of cleft palate in French and Belgian populations. *J Med Genet* 2016;53:828-834.
10. Feigerlova E, **Oussalah A (corresponding author)**, Fournier JP, Antonelli A, Hadjadj S, Marechaud R, Guéant JL, Roblot P, Braun M. Predictors of High Motivation Score for Performing Research Initiation Fellowship, Master 1, Research Master 2, and PhD Curricula During Medical Studies: A Strobe-Compliant Article. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e2633.
11. Cornejo-Garcia JA, Romano A, Gueant-Rodriguez RM, **Oussalah A**, Blanca-Lopez N, Gaeta F, Tramoy D, Josse T, Dona I, Torres MJ, Canto G, Blanca M, Guéant JL. A non-synonymous polymorphism in galectin-3 lectin domain is associated with allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Pharmacogenomics J* 2016;16:79-82.

12. Cornejo-Garcia JA, **Oussalah A**, Blanca M, Gueant-Rodriguez RM, Mayorga C, Waton J, Barbaud A, Gaeta F, Romano A, Guéant JL. Genetic Predictors of Drug Hypersensitivity. *Curr Pharm Des* 2016;22:6725-6733.
13. **Oussalah A (corresponding author)**, Fournier JP, Guéant JL, Braun M. Information-seeking behavior during residency is associated with quality of theoretical learning, academic career achievements, and evidence-based medical practice: a strobe-compliant article. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e535.
14. **Oussalah A (corresponding author)**, Ferrand J, Filhine-Tresarrieu P, Aissa N, Aimone-Gastin I, Namour F, Garcia M, Lozniewski A, Guéant JL. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin for Predicting Blood Culture Results in Patients With Suspected Bloodstream Infection: An Observational Study of 35,343 Consecutive Patients (A STROBE-Compliant Article). *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e1774.
15. **Oussalah A**, Bosco P, Anello G, Spada R, Guéant-Rodriguez RM, Chery C, Rouyer P, Josse T, Romano A, Elia M, Bronowicki JP, Guéant JL. Exome-Wide Association Study Identifies New Low-Frequency and Rare UGT1A1 Coding Variants and UGT1A6 Coding Variants Influencing Serum Bilirubin in Elderly Subjects: A Strobe Compliant Article. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e925.
16. Guéant JL, Romano A, Cornejo-Garcia JA, **Oussalah A**, Chery C, Blanca-Lopez N, Gueant-Rodriguez RM, Gaeta F, Rouyer P, Josse T, Canto G, Carmona FD, Bossini-Castillo L, Martin J, Laguna JJ, Fernandez J, Feo F, Ostrov DA, Plasencia PC, Mayorga C, Torres MJ, Blanca M. HLA-DRA variants predict penicillin allergy in genome-wide fine-mapping genotyping. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:253-9.
17. Elakoum R, Gauchotte G, **Oussalah A**, Wissler MP, Clement-Duchene C, Vignaud JM, Guéant JL, Namour F. CARM1 and PRMT1 are dysregulated in lung cancer without hierarchical features. *Biochimie* 2014;97:210-8.
18. Hristova L, Soyer P, Hoeffel C, Marteau P, **Oussalah A**, Lavergne-Slove A, Boudiaf M, Dohan A, Laurent V. Colorectal cancer in inflammatory bowel diseases: CT features with pathological correlation. *Abdom Imaging* 2013;38:421-35.

19. Chery C, Hehn A, Mrabet N, **Oussalah A**, Jeannesson E, Besseau C, Alberto JM, Gross I, Josse T, Gerard P, Gueant-Rodriguez RM, Freund JN, Devignes J, Bourgaud F, Peyrin-Biroulet L, Feillet F, Guéant JL. Gastric intrinsic factor deficiency with combined GIF heterozygous mutations and FUT2 secretor variant. *Biochimie* 2013;95:995-1001.
20. Bursztejn AC, Romano A, Gueant-Rodriguez RM, Cornejo JA, **Oussalah A**, Chery C, Gastin I, Gaeta F, Barbaud A, Blanca M, Guéant JL. Allergy to betalactams and nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) gene polymorphisms. *Allergy* 2013;68:1076-80.
21. Bressenot A, Chevaux JB, Williet N, **Oussalah A**, Germain A, Gauchotte G, Wissler MP, Vignaud JM, Bresler L, Bigard MA, Plenat F, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Submucosal plexitis as a predictor of postoperative surgical recurrence in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:1654-61.
22. Williet N, Pillot C, **Oussalah A**, Billioud V, Chevaux JB, Bresler L, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Incidence of and impact of medications on colectomy in newly diagnosed ulcerative colitis in the era of biologics. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:1641-6.
23. Peyrin-Biroulet L, Pillot C, **Oussalah A**, Billioud V, Aissa N, Balde M, Williet N, Germain A, Lozniewski A, Bresler L, Guéant JL, Bigard MA. Urinary tract infections in hospitalized inflammatory bowel disease patients: a 10-year experience. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:697-702.
24. **Oussalah A**, Besseau C, Chery C, Jeannesson E, Gueant-Rodriguez RM, Anello G, Bosco P, Elia M, Romano A, Bronowicki JP, Gerard P, Paoli J, Avogbe PH, Chabi N, Sanni A, Amouzou E, Peyrin-Biroulet L, Guéant JL. Helicobacter pylori serologic status has no influence on the association between fucosyltransferase 2 polymorphism (FUT2 461 G->A) and vitamin B-12 in Europe and West Africa. *Am J Clin Nutr* 2012;95:514-21.
25. Drid N, Groussel R, Belhocine K, Salah A, **Oussalah A**. Upper gastrointestinal endoscopy for hematemesis in a patient aged 117 years. *Endoscopy* 2012;44 Suppl 2 UCTN:E333.

26. Billioud V, Gibot S, Massin F, **Oussalah A**, Chevaux JB, Williet N, Bronowicki JP, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Plasma soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2012;44:466-70.
27. Roblin X, Pillet S, **Oussalah A**, Berthelot P, Del Tedesco E, Phelip JM, Chambonniere ML, Garraud O, Peyrin-Biroulet L, Pozzetto B. Cytomegalovirus load in inflamed intestinal tissue is predictive of resistance to immunosuppressive therapy in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2011;106:2001-8.
28. Roblin X, **Oussalah A**, Chevaux JB, Sparrow M, Peyrin-Biroulet L. Use of thiopurine testing in the management of inflammatory bowel diseases in clinical practice: a worldwide survey of experts. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:2480-7.
29. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Williet N, Pillot C, Bresler L, Bigard MA. Impact of azathioprine and tumour necrosis factor antagonists on the need for surgery in newly diagnosed Crohn's disease. *Gut* 2011;60:930-6.
30. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Roblin X, Sparrow MP. The use of azathioprine in Crohn's disease during pregnancy and in the post-operative setting: a worldwide survey of experts. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:707-13.
31. **Oussalah A**, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Meta-analysis: hyperhomocysteinaemia in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:1173-84.
32. Billioud V, Laharie D, Filippi J, Roblin X, **Oussalah A**, Chevaux JB, Hebuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Adherence to adalimumab therapy in Crohn's disease: a French multicenter experience. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:152-9.
33. **Oussalah A**, Laurent V, Bruot O, Guéant JL, Regent D, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Additional benefit of procalcitonin to C-reactive protein to assess disease activity and severity in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:1135-44.
34. **Oussalah A**, Laurent V, Bruot O, Bressenot A, Bigard MA, Regent D, Peyrin-Biroulet L. Diffusion-weighted magnetic resonance without bowel preparation for detecting colonic inflammation in inflammatory bowel disease. *Gut* 2010;59:1056-65.

35. **Oussalah A**, Evesque L, Laharie D, Roblin X, Boschetti G, Nancey S, Filippi J, Flourie B, Hebuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. A multicenter experience with infliximab for ulcerative colitis: outcomes and predictors of response, optimization, colectomy, and hospitalization. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2617-25.
36. **Oussalah A**, Danese S, Peyrin-Biroulet L. Efficacy of TNF antagonists beyond one year in adult and pediatric inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Curr Drug Targets* 2010;11:156-75.
37. **Oussalah A**, Chevaux JB, Fay R, Sandborn WJ, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Predictors of infliximab failure after azathioprine withdrawal in Crohn's disease treated with combination therapy. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1142-9.
38. Chevaux JB, Nani A, **Oussalah A**, Venard V, Bensenane M, Belle A, Guéant JL, Bigard MA, Bronowicki JP, Peyrin-Biroulet L. Prevalence of hepatitis B and C and risk factors for nonvaccination in inflammatory bowel disease patients in Northeast France. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:916-24.
39. Roblin X, **Oussalah A**, Phelip JM, Peyrin-Biroulet L. [Azathioprine metabolism: what to do or not to do in clinical practice?]. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33:172-5.
40. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Boucekkine T, Bigard MA. TNF antagonists in the treatment of inflammatory bowel disease: results of a survey of gastroenterologists in the French region of Lorraine. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33:23-30.
41. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Bigard MA. Crohn's disease: the hot hypothesis. *Med Hypotheses* 2009;73:94-6.
42. **Oussalah A**, Roblin X, Laharie D, Filippi J, Flamant M, Faure P, Phelip JM, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Tumour necrosis factor antagonists and inflammatory bowel diseases: a national practice survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:854-63.
43. **Oussalah A**, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Certolizumab use in pregnancy. *Gut* 2009;58:608.

44. **Oussalah A**, Babouri A, Chevaux JB, Stancu L, Trouilloud I, Bensenane M, Boucekkine T, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Adalimumab for Crohn's disease with intolerance or lost response to infliximab: a 3-year single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29:416-23.
45. Chevaux JB, Bigard MA, Bensenane M, **Oussalah A**, Jarlot S, Belle A, Nani A, Bronowicki JP, Peyrin-Biroulet L. Inflammatory bowel disease and hepatitis B and C. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33:1082-93.
46. Bouguen G, Trouilloud I, Siproudhis L, **Oussalah A**, Bigard MA, Bretagne JF, Peyrin-Biroulet L. Long-term outcome of non-fistulizing (ulcers, stricture) perianal Crohn's disease in patients treated with infliximab. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:749-56.
47. Peyrin-Biroulet L, Cadranel JF, Nousbaum JB, **Oussalah A**, Seddik M, Canva V, Cortot A, Sogni P, Guéant JL, Bigard MA, Roblin X, Bronowicki JP. Interaction of ribavirin with azathioprine metabolism potentially induces myelosuppression. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:984-93.
48. **Oussalah A**, Laclotte C, Chevaux JB, Bensenane M, Babouri A, Serre AA, Boucekkine T, Roblin X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Long-term outcome of adalimumab therapy for ulcerative colitis with intolerance or lost response to infliximab: a single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:966-72.
49. Laclotte C, **Oussalah A**, Rey P, Bensenane M, Pluvinage N, Chevaux JB, Trouilloud I, Serre AA, Boucekkine T, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. [Helminths and inflammatory bowel diseases]. *Gastroenterol Clin Biol* 2008;32:1064-74.
50. Belhocine K, Baiod N, **Oussalah A**, Cazals-Hatem D, Sauvanet A, Castier Y, Guigui P, Dauzac C, Benayoun L, Pease S, Panis Y, Bellier C, Boucekkine T. [Digestive obstruction: an unusual complication of hereditary multiple exostoses]. *Gastroenterol Clin Biol* 2008;32:601-5.
51. **Oussalah A**. Uninvestigated dyspepsia or functional dyspepsia: that is the question. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2109-10.

### 8.3. Articles didactiques et chapitres de livres

1. **Oussalah A.** Hépatomégalie et masse abdominale (ECN, Item 273). Référentiel du Collège de National Biochimie Biologie Moléculaire Médicales (2019).
2. **Oussalah A.** Ictère (ECN, Item 275). Référentiel du Collège de National Biochimie Biologie Moléculaire Médicales (2019).
3. **Oussalah A.** Cirrhose et ses complications (ECN, Item 276). Référentiel du Collège de National Biochimie Biologie Moléculaire Médicales (2019).
4. **Oussalah A.** Ascite (ECN, Item 277). Référentiel du Collège de National Biochimie Biologie Moléculaire Médicales (2019).
5. **Oussalah A.** Interprétation des examens biologiques en hépato-gastroentérologie. La Lettre de l'Hépatogastroentérologue (2014).
6. **Oussalah A.** Anémies au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. La Lettre de l'Hépatogastroentérologue (2012).
7. **Oussalah A.** Interprétation des examens biologiques en hépato-gastroentérologie : Principaux scores et classifications biologiques, approches diagnostiques et algorithmes. La Lettre de l'Hépatogastroentérologue (2014).
8. **Oussalah A.** Place de la colo-IRM et de l'IRM de diffusion dans l'évaluation des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. La Lettre de l'Hépatogastroentérologue (2011).
9. **Oussalah A,** Peyrin-Biroulet L. Diagnostic et prise en charge de la dysplasie au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. La Lettre de l'Hépatogastroentérologue (2010).
10. **Oussalah A,** Peyrin-Biroulet L. Efficacité et tolérance des anti-TNF $\alpha$  dans la maladie de Crohn : méta-analyse des essais contrôlés randomisés contre placebo. Hépatogastro (2009).
11. **Oussalah A,** Peyrin-Biroulet L. Quels objectifs thérapeutiques dans les MICI en 2009 ? Hépatogastro 2009;16:7-12.

12. **Oussalah A.** Existe-t-il des différences entre les 5-ASA ? La Lettre de l'Hépatogastroentérologue (2009).
13. **Oussalah A.** Formes locales des 5-ASA : conseils et modalités pratiques d'administration. La Lettre de l'Hépatogastroentérologue (2009).
14. **Oussalah A.** Efficacité et sécurité d'utilisation des anti-TNF $\alpha$  dans la maladie de Crohn : méta-analyse des essais contrôlés randomisés versus placebo. Bulletin MICI (2008).
15. **Oussalah A.** Observance des traitements au cours des MICI. Bulletin MICI (2008).

#### 8.4. Communications orales

1. **Oussalah A**, Guéant-Rodriguez RM, Bosco P, Anello G, Spada R, Chery C, Rouyer P, Josse T, Romano A, Alia M, Tran A, Gual P, Brunaud L, Bronowicki JP, Guéant JL. Facteurs génétiques prédictif de la fibrose hépatique au cours de la stéatohépatite non-alcoolique : étude d'association de type Exome-wide de deux populations en Sicile et en France et étude d'association de type Phenome-wide dans une cohorte de Nice. **Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive (2019) (Best Oral Presentation Award).**
2. Plasma mSEPT9: a novel circulating cell-free DNA-based epigenetic biomarker to diagnose hepatocellular carcinoma. **Corporate Workshop Day October 31, 2018 Association for Molecular Pathology, Houston, USA (2018).**
3. **Oussalah A**, Rischer S, Bensenane M, Conroy G, Filhine-Tresarrieu P, Debard R, Forest-Tramoy D, Josse T, Reinicke D, Garcia M, Luc A, Baumann C, Ayav A, Laurent V, Hollenbach M, Ripoll C, Guéant-Rodriguez RM, Namour F, Zipprich A, Fleischhacker M, Bronowicki JP, Guéant JL. Plasma mSEPT9: a novel circulating cell-free DNA-based epigenetic biomarker for diagnosing hepatocellular carcinoma. **Réunion d'Automne du CNBBMM, Septembre 2017, REIMS**
4. Goffinet L\*, **Oussalah A**, Guéant-Rodriguez RM, Chery C, Basha M, Avogbe P, Josse T, Jeannesson E, Rouyer P, Flayac J, Gerard P, Le Touze A, Bonin-Goga B, Goga D, Simon E, Feillet F, Vikkula M, Guéant JL. Le variant génétique rs2124459 de la Cystathionine beta-synthase est associé à un risque réduit de fentes palatines dans les populations Française et Belge. **11<sup>e</sup> Journée de la Recherche Hospitalo Universitaire du CHRU de Nancy (2016).**
5. Casse JM, **Oussalah A**, Vigouroux C, Brochin L, Helle D, Ghemrawi R, Lomazzi S, Busby-Venner H, Gambier N, Scala-Bertola J, Guéant JL, Vignaud JM, Battaglia-Hsu SF, Gauchotte G. MiR-16, but Not MiR-519, Suppresses Tumor Cell Proliferation in Meningiomas via HuR Inhibition. **Annual Meeting of the United-States-and-Canadian-Academy-of-Pathology Location: Seattle (2016).**
6. Approches pédagogiques en Biochimie à l'aire de SiDES et des ECNi. Expérience de la Faculté de Médecine de Nancy. **Colloque du Collège National de Biochimie et Biologie Moléculaire Médicales, Septembre 2016.**

7. **Oussalah A**, Fournier JP, Braun M. Etude du comportement des internes en médecine concernant l'utilisation des ressources pédagogiques théoriques : évaluation du concept d'Information-Seeking Behavior en 3e cycle des études médicales. **2<sup>e</sup> états généraux de la formation et de la recherche médicales. 2013.**
8. **Oussalah A**, Chery C, Mrabet N, Jeannesson E, Besseau C, Hehn A, Guéant-Rodriguez RM, Anello G, Bosco P, Elia M, Romano A, Bronowicki JP, Gerard P, Paoli J, Avogbe PH, Chabi N, Sanni A, Amouzou E, Peyrin-Biroulet L, Gross I, Freund JN, Guéant JL. From GWAS to replication studies: Helicobacter pylori serologic status has no influence on the association between fucosyltransferase 2 polymorphism (*FUT2 461 G->A*) and vitamin B-12 in Europe and West Africa. **Vitamin B12 Symposium, 2012, Nancy, France.**
9. **Oussalah A**, Aimone-Gastin I, Salignac S, Gurgul C, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Comparison of the diagnostic performance of the "ferritin / CRP" and the "soluble transferrin receptor (sTfR)" strategies for diagnosing iron deficiency in patients with inflammatory bowel diseases: Results from a prospective study. **Digestive Disease Week, American Gastroenterological Association, 2012.**
10. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Williet N, Pillot C, Bresler L, Bigard MA. Impact du traitement par azathioprine et des anti-TNF alpha sur le recours à la chirurgie au cours de la maladie de Crohn. **Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2011.**
11. **Oussalah A**, Evesque L, Laharie D, Boschetti G, Nancey S, Filippi J, Flourié B, Hebuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Etude multicentrique sur le traitement de la rectocolite hémorragique par l'infliximab : facteurs prédictifs de la réponse, de l'optimisation, de la colectomie et de l'hospitalisation. **6<sup>e</sup> Journée Claude Huriet de la Recherche Biomédicale, 2010.**
12. **Oussalah A**, Chevaux JB, Fay R, Sandborn WJ, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Predictors of infliximab failure after azathioprine withdrawal in Crohn's disease treated with combination therapy. **United European Gastroenterology Week 2010.**

13. **Oussalah A**, Evesque L, Laharie D, Boschetti G, Nancey S, Filippi J, Flourié B, Hebuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. A multicenter experience with infliximab for ulcerative colitis: outcomes and predictors of response, optimization, colectomy, and hospitalization. **United European Gastroenterology Week 2010.**



### 8.5. Conférences sur invitation

1. Effets sur la santé des régimes végétariens. Académie Nationale de Médecine (2018).
2. Plasma mSEPT9: a Novel Circulating Cell-free DNA-based Epigenetic Biomarker for Diagnosing Hepatocellular Carcinoma. Journées Nationales de la SFBC (2017).
3. State of the ART: Sepsis Marker application scenarios/Starting position for RAIS. Diagnostic accuracy of Procalcitonin. RAIS H2020 workshop (2017).
4. Molecular genetic testing of phenylalanine hydroxylase deficiency: Sanger or Next generation sequencing? 9e symposium PCU. Conference Center Imagine (2017)
5. Perte de réponse aux anti-TNF : que faire en pratique ? XV<sup>e</sup> journées de Gastroentérologie d'Afrique Francophone. 13 décembre 2012.
6. Les anti-TNF : présentation, mode d'action et profil de tolérance. XV<sup>e</sup> journées de Gastroentérologie d'Afrique Francophone. 13 décembre 2012.
7. Sevrage et constipation. 5e Congrès National de la Société Française de Tabacologie. 17 novembre 2011.
8. Sixième Rencontre autour des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin. Société Algérienne d'Hépatogastroentérologie. Perte de réponse aux Anti TNF : que faire en pratique ? 09 novembre 2011.
9. Sixième Rencontre autour des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin. Société Algérienne d'Hépatogastroentérologie. Indications des anti-TNF dans la Rectocolite Hémorragique. 09 novembre 2011.
10. Les anti-TNF : présentation, mode d'action et profil de tolérance. Conférence de Consensus sur l'usage des anti-TNF. Institut Pasteur Algérie. Avril 2011.
11. Cinquième Rencontre autour des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin. Société Algérienne d'Hépatogastroentérologie. Poussée sévère corticorésistante de RCH : cyclosporine ou infliximab ? 4 novembre 2010.

12. Cinquième Rencontre autour des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin. Société Algérienne d'Hépatogastroentérologie. Exploration morphologique des MICI en 2010 : IRM ou endoscopie ? 4 novembre 2010.
  
13. Journées sur les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin – Société Algérienne d'Hépatogastroentérologie. 04 Novembre 2010.
  
14. Les anti-TNF dans les MICI : Utilisation pratique. 20<sup>e</sup> Journées de la Société Algérienne d'Hépatogastroentérologie. 18 novembre 2008.
  
15. Les anti-TNF dans les MICI : Mécanismes d'action et EBM. 20<sup>e</sup> Journées de la Société Algérienne d'Hépatogastroentérologie. 18 novembre 2008.
  
16. Physiopathologie des troubles fonctionnels intestinaux : le concept axe cerveau-intestin doit être revisité : V<sup>e</sup> Journée de la Clinique Médicale Mars 2007.

## 8.6. Communications affichées

1. **Oussalah A**, Chery C, Josse T, Guéant-Rodriguez RM, Jeannesson E, Perrin P, Seeleuthner Y, Rattina V, Cobat A, Abel L, Guéant JL. Approche par séquençage parallèle massif (next-generation sequencing) des loci HLA chez des patients présentant une maladie de Biermer avec ou sans contexte familial. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2019.
2. **Oussalah A**, Coelho D, Chery C, Pupavac M, Brebner A, Watkins D, Josse T, Aimone-Gastin I, Tregouët D, Morange PE, Bonnemains C, Feillet F, Rosenblatt D, Guéant JL. Deciphering the methylome landscape of patients with cblC: Results from an epigenome wide association study using Infinium HumanMethylation450 BeadChip array. 11th International Conference on Homocysteine and One-Carbon Metabolism (Aarhus, Denmark), 2017.
3. Chevaux JB, Barraud H, Hudziak H, **Oussalah A**, Billioud V, Massoure MP, Nani A, Babouri A, Choné L, Watelet J, Bronowicki JP, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Facteurs prédictifs d'une bonne préparation colique lors de la coloscopie de l'adulte : Résultats d'une étude prospective observationnelle dans un centre tertiaire. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2013.
4. **Oussalah A**, Aimone-Gastin I, Salignac S, Gurgul C, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Predictors of clinical remission in ulcerative colitis patients treated with anti-TNF: Results from a prospective study. Digestive Disease Week, AGA, 2012.
5. **Oussalah A**, Peyrin-Biroulet L, Goffinet L, Chery C, Gerard P, Rouyer P, Jeannesson E, Forest Tramoy D, Chevaux JB, Zallot C, Bigard MA, Guéant JL. *ABCB1* and *CHDH* polymorphisms predict early Crohn's disease onset: Results from a fine mapping of one-carbon metabolism pathway genes. European Crohn's and Colitis Organisation 2012.
6. **Oussalah A**, Aimone-Gastin I, Salignac S, Gurgul C, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Predictors of clinical remission in ulcerative colitis patients treated with anti-TNF: Results from a prospective study. European Crohn's and Colitis Organisation 2012.
7. **Oussalah A**, Aimone-Gastin I, Salignac S, Gurgul C, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Comparison of the diagnostic performance of the "ferritin / CRP" and the "soluble transferrin receptor (sTfR)" strategies for diagnosing iron deficiency in patients

with inflammatory bowel diseases: Results from a prospective study. European Crohn's and Colitis Organisation 2012.

8. **Oussalah A**, Peyrin-Biroulet L, Goffinet L, Chery C, Gerard P, Rouyer P, Jeannesson E, Forest Tramoy D, Chevaux JB, Zallot C, Bigard MA, Guéant JL. Déterminants génétiques du taux plasmatique de l'homocystéine, de la superoxyde dismutase et de l'âge de survenue de la maladie de Crohn : étude d'association sur un SNP array exhaustif du métabolisme des monocarbones. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2012.
9. **Oussalah A**, Besseau C, Chery C, Jeannesson E, Guéant-Rodriguez RM, Anello G, Bosco P, Elia M, Romano A, Bronowicki JP, Gerard P, Paoli J, Avogbe PH, Chabi N, Sanni A, Amouzou E, Peyrin-Biroulet L, Guéant JL. Le statut sérologique de l'infection par *Helicobacter pylori* n'a aucune influence sur l'association entre le polymorphisme FUT2 461 G>A de la fucosyltransférase 2 et le taux de vitamine B12 plasmatique en Europe et en Afrique de l'Ouest. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2012.
10. **Oussalah A**, Aimone-Gastin I, Salignac S, Gurgul C, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Comparaison des performances de la stratégie 'ferritine/CRP' et du récepteur soluble de la transferrine (sTfR) dans le diagnostic de la carence martiale chez les patients suivis pour une MICI : résultats d'une étude prospective. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2012.
11. **Oussalah A**, Aimone-Gastin I, Salignac S, Gurgul C, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Facteurs prédictifs de la rémission chez les patients traités par anti-TNF au cours de la rectocolite hémorragique : résultats d'une étude prospective. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2012.
12. Billioud V, Gibot S, Massin F, **Oussalah A**, Chevaux JB, Bronowicki JP, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Taux plasmatique du "Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells-1" soluble dans la maladie de Crohn. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2012.
13. Williet N, Pilot C, **Oussalah A**, Billioud V, Chevaux JB, Bresler L, Bigard MA, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Recours à la colectomie et impact des traitements dans la rectocolite

hémorragique à l'ère des biothérapies. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2012.

14. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Roblin X, Sparrow M. Utilisation des thiopurines au cours de la grossesse et dans la prévention postopératoire de la maladie de Crohn : Résultats d'une enquête mondiale. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2011.
15. Roblin X, **Oussalah A**, Chevaux JB, Sparrow M, Peyrin-Biroulet L. Exploration du métabolisme des thiopurines au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : Résultats d'une enquête mondiale. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2011.
16. **Oussalah A**, Laurent V, Bruot O, Guéant JL, Regent D, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Bénéfice additionnel du dosage de la procalcitonine à celui de la protéine C-réactive dans l'évaluation de l'activité et de la sévérité de la maladie de Crohn. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2011.
17. Billioud V, Laharie D, Filippi J, Roblin X, **Oussalah A**, Chevaux JB, Hébuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Observance de l'adalimumab dans la maladie de Crohn : Une expérience française multicentrique. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2011.
18. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Roblin X, Sparrow M. Use of azathioprine during pregnancy and in the postoperative setting in Crohn's disease: A worldwide survey of experts. J Crohns Colitis 2011;5:S102.
19. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Williet N, Pillot C, Bresler L, Bigard MA. Impact of azathioprine and tumour necrosis factor antagonists on the need for surgery in newly diagnosed Crohn's disease. J Crohns Colitis 2011;5:S97.
20. Roblin X, **Oussalah A**, Chevaux JB, Sparrow M, Peyrin-Biroulet L. Use of thiopurine testing in the management of inflammatory bowel diseases in clinical practice: a worldwide survey of experts. J Crohns Colitis 2011;5:S85.
21. Billioud V, Laharie D, Filippi J, Roblin X, **Oussalah A**, Chevaux JB, Hébuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Adherence to Adalimumab Therapy in Crohn's Disease: A French Multicenter Experience. J Crohns Colitis 2011;5:S75.

22. Roblin X, **Oussalah A**, Sparrow M, Peyrin-Biroulet L. Thiopurine metabolism in clinical practice in inflammatory bowel diseases: a worldwide experts survey. United European Gastroenterology Week 2010.
23. **Oussalah A**, Laurent V, Bruot O, Bressenot A, Bigard MA, Regent D, Peyrin-Biroulet L. Diffusion-weighted magnetic resonance without bowel preparation for detecting colonic inflammation in inflammatory bowel disease. United European Gastroenterology Week 2010.
24. Billioud V, Laharie D, Filippi J, Roblin X, **Oussalah A**, Chevaux JB, Hébuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Adherence to adalimumab therapy in Crohn's disease: a French multicenter experience. United European Gastroenterology Week 2010.
25. Peyrin-Biroulet L, **Oussalah A**, Sparrow M, Roblin X. Use of azathioprine during pregnancy and in the postoperative setting in Crohn's disease: a worldwide experts survey. United European Gastroenterology Week 2010.
26. Del Tedesco E, Laharie D, **Oussalah A**, Phelip JM, Peyrin-Biroulet L, Roblin X. Interferon gamma release assay (IGRA) and/or tuberculin skin test in inflammatory bowel disease population: discordance and performance. Best strategy for detecting tuberculosis. United European Gastroenterology Week 2010.
27. Roblin X, Pillet S, **Oussalah A**, Del Tedesco E, Peyrin-Biroulet L, Phelip JM, Pozzeto B. Tissue detection of cytomegalovirus (CMV) by real-time PCR in inflammatory bowel disease (IBD) is predictive for therapeutic resistance. United European Gastroenterology Week 2010.
28. Gamar L, Kaddache N, Bouseloub A, Nakmouche M, Bounab N, Kecili L, Layaida K, Baiod N, **Oussalah A**, Boucekkine T. Characteristics and predictive factors for the first intestinal resection in Crohn's disease – a retrospective study. United European Gastroenterology Week 2010.
29. **Oussalah A**, Filippi J, Laharie D, Roblin X, Boschetti G, Nancey S, Evesque L, Flourie B, Hébuterne X, Bigard M-A, Peyrin-Biroulet L. W1293 Long-Term Colectomy and Hospitalization Rates in Ulcerative Colitis Treated With Infliximab: A Retrospective Multicenter Study. Gastroenterology 2010;138:S-692-S-693.

30. **Oussalah A**, Evesque L, Laharie D, Roblin X, Boschetti G, Nancey S, Filippi J, Flourie B, Hebuterne X, Bigard M-A, Peyrin-Biroulet L. W1294 Predictors of Primary Non-Response to Infliximab and Optimization in Ulcerative Colitis: A Retrospective Multicenter Study. *Gastroenterology* 2010;138:S-693.
31. Roblin X, Pillet S, **Oussalah A**, Biroulet LP, Phelip JM, Pozzetto B. T1320 Tissue Detection of Cytomegalovirus (CMV) by Real-Time PCR in Inflammatory Bowel Disease (IBD) is Predictive for Therapeutic Resistance. *Gastroenterology* 2010;138:S-536.
32. Del Tedesco E, **Oussalah A**, Laharie D, Biroulet LP, Phelip JM, Roblin X. W1200 Interferon Gamma Release Assay (Igra) and/or Tuberculin Skin Test (Tst) in Inflammatory Bowel Disease Population: Discordance and Performance. Best Strategy for Detecting Tuberculosis. *Gastroenterology* 2010;138:S-672-S-673.
33. Chevaux JB, Nani A, **Oussalah A**, Venard V, Bensenane M, Belle A, Guéant JL, Bigard MA, Bronowicki JP, Peyrin-Biroulet L. Prévalence des hépatites B et C, facteurs de risque de non vaccination au cours des maladies inflammatoires chroniques intestinales dans le nord-est de la France. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2010.
34. Kaddache N, Kecili L, Bounab N, Balamane A, Gamar L, Debzi N, Layaida K, Guessab N, Afredj N, **Oussalah A**, Baiod N, Boucekkine T. Evolution à long terme et sévérité des formes familiales et sporadiques des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin – Etude rétrospective comparative. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2010.
35. Gamar L, Kaddache N, Balamane A, Debzi N, Bounab N, Kecili L, Guessab N, Afredj N, Layaida K, Baiod N, **Oussalah A**, Boucekkine T. Caractères et facteurs prédictifs de l'exérèse chirurgicale au cours de la maladie de Crohn. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2010.
36. Roblin X, Pillet S, Chambonnières ML, **Oussalah A**, Del Tedesco E, Peyrin-Biroulet L, Peoc'H M, Phelip JM, Pozzetto B. Corrélation entre la présence de cytomégalovirus (CMV) dans le tissu colique affirmée par PCR temps réel, la gravité endoscopique et les résultats histologiques au cours des rectocolites hémorragiques en poussée. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2010.

37. Roblin X, Pillet S, **Oussalah A**, Del Tedesco E, Peyrin-Biroulet L, Phelip JM, Pozzetto B. La recherche de cytomégalo virus tissulaire par PCR temps réel est prédictive d'une résistance thérapeutique au cours de la rectocolite hémorragique en poussée. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2010.
38. Del Tedesco E, **Oussalah A**, Laharie D, Patouillard B, Phelip JM, Peyrin-Biroulet L, Roblin X. Intradermoréaction à la tuberculine et QuantiFERON® dans le dépistage de la tuberculose latente au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : des tests à associer ? Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2010.
39. Chevaux JB, Nani A, **Oussalah A**, Venard V, Bensenane M, Belle A, Guéant JL, Bigard MA, Bronowicki JP, Peyrin-Biroulet L. Prevalence of hepatitis B and C and risk factors for nonvaccination in inflammatory bowel disease patients in Northeast France. United European Gastroenterology Week 2009.
40. **Oussalah A**, Roblin X, Laharie D, Filippi J, Flamant M, Faure P, Phelip JM, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Tumour necrosis factor antagonists and inflammatory bowel diseases: a national practice survey. United European Gastroenterology Week 2009.
41. Bounab N, Kaddache N, Kecili L, Balamane A, Layaida K, **Oussalah A**, Gamar L, Belhocine K, Boucekkine T. Aspects anatomocliniques et évolutifs des colites aiguës sévères de la rectocolite hémorragique à Alger. Gastroentérologie Clinique et Biologique 2009;33:A102-A102.
42. Peyrin-Biroulet L, Cadranel JF, Nousbaum JB, **Oussalah A**, Seddik M, Canva V, Sogni P, Guéant JL, Bigard MA, Roblin X, Bronowicki JP. Interaction of ribavirin with azathioprine metabolism potentially induces myelosuppression. AASLD 2008.
43. Peyrin-Biroulet L, Cadranel JF, Nousbaum JB, **Oussalah A**, Seddik M, Canva V, Cortot A, Sogni P, Guéant JL, Bigard MA, Roblin X, Bronowicki JP. Interaction of ribavirin with azathioprine metabolism potentially induces myelosuppression. United European Gastroenterology Week 2008.
44. Balamane A, **Oussalah A**, Boucekkine T. Impact de l'information du patient avant une endoscopie digestive. Expérience d'un service hospitalo-universitaire. Journées Francophones de Pathologie Digestive 2008.

45. Balamane A, **Oussalah A**, Boucekkine T. Impact of prior information with respect to anxiety, tolerance and satisfaction on patient undergoing upper endoscopy. A prospective, randomized study. United European Gastroenterology Week 2007.
46. Baiod N, Nakmouche M, Kaddache N, Balamane A, Belhocine K, Gamar L, Bounab N, Kecili L, Afredj N, Layaida K, Nani A, Boutaleb A, Saoula H, **Oussalah A**, Boucekkine T. Age hreshold for endoscopy in uninvestigated dyspepsia in Algeria, a low incidence gastric cancer country. United European Gastroenterology Week 2007.
47. Kecili L, Nakmouche M, Kaddache N, Balamane A, Gamar L, Bounab N, Saoula H, Boutaleb A, Belhocine K, Layaida K, **Oussalah A**, Debzi N, Baiod N, Boucekkine T. Is the need of corticosteroids for the first flare of Crohn's disease a predictor of severity? A prospective and comparative long-term follow-up study. United European Gastroenterology Week 2007.
48. Bounab N, Nakmouche M., Kaddache N., Debzi N, Kecili L, Belhocine K, **Oussalah A**, Afredj N, Baiod N, Boucekkine T. La cicatrisation des lésions muqueuses par les corticostéroïdes modifie-t-elle l'évolution à court et à long termes de la maladie de Crohn ? Journées Francophones de pathologie Digestive 2006.



## 9. RÉFÉRENCES CITÉES DANS LE MÉMOIRE

1. Oussalah A. Uninvestigated dyspepsia or functional dyspepsia: that is the question. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2109-10.
2. Belhocine K, Baiod N, Oussalah A, Cazals-Hatem D, Sauvanet A, Castier Y, Guigui P, Dauzac C, Benayoun L, Pease S, Panis Y, Bellier C, Boucekkine T. [Digestive obstruction: an unusual complication of hereditary multiple exostoses]. *Gastroenterol Clin Biol* 2008;32:601-5.
3. Laclotte C, Oussalah A, Rey P, Bensenane M, Pluvinage N, Chevaux JB, Trouilloud I, Serre AA, Boucekkine T, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. [Helminths and inflammatory bowel diseases]. *Gastroenterol Clin Biol* 2008;32:1064-74.
4. Oussalah A, Laclotte C, Chevaux JB, Bensenane M, Babouri A, Serre AA, Boucekkine T, Roblin X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Long-term outcome of adalimumab therapy for ulcerative colitis with intolerance or lost response to infliximab: a single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:966-72.
5. Peyrin-Biroulet L, Cadranet JF, Nousbaum JB, Oussalah A, Seddik M, Canva V, Cortot A, Sogni P, Gueant JL, Bigard MA, Roblin X, Bronowicki JP. Interaction of ribavirin with azathioprine metabolism potentially induces myelosuppression. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:984-93.
6. Bouguen G, Trouilloud I, Siproudhis L, Oussalah A, Bigard MA, Bretagne JF, Peyrin-Biroulet L. Long-term outcome of non-fistulizing (ulcers, stricture) perianal Crohn's disease in patients treated with infliximab. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:749-56.
7. Chevaux JB, Bigard MA, Bensenane M, Oussalah A, Jarlot S, Belle A, Nani A, Bronowicki JP, Peyrin-Biroulet L. Inflammatory bowel disease and hepatitis B and C. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33:1082-93.
8. Oussalah A, Babouri A, Chevaux JB, Stancu L, Trouilloud I, Bensenane M, Boucekkine T, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Adalimumab for Crohn's disease with intolerance or lost response to infliximab: a 3-year single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29:416-23.
9. Oussalah A, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Certolizumab use in pregnancy. *Gut* 2009;58:608.
10. Oussalah A, Roblin X, Laharie D, Filippi J, Flamant M, Faure P, Phelip JM, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Tumour necrosis factor antagonists and inflammatory bowel diseases: a national practice survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:854-63.
11. Peyrin-Biroulet L, Oussalah A, Bigard MA. Crohn's disease: the hot hypothesis. *Med Hypotheses* 2009;73:94-6.

12. Peyrin-Biroulet L, Oussalah A, Boucekkine T, Bigard MA. TNF antagonists in the treatment of inflammatory bowel disease: results of a survey of gastroenterologists in the French region of Lorraine. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33:23-30.
13. Roblin X, Oussalah A, Phelip JM, Peyrin-Biroulet L. [Azathioprine metabolism: what to do or not to do in clinical practice?]. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33:172-5.
14. Chevaux JB, Nani A, Oussalah A, Venard V, Bensenane M, Belle A, Gueant JL, Bigard MA, Bronowicki JP, Peyrin-Biroulet L. Prevalence of hepatitis B and C and risk factors for nonvaccination in inflammatory bowel disease patients in Northeast France. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:916-24.
15. Oussalah A, Chevaux JB, Fay R, Sandborn WJ, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Predictors of infliximab failure after azathioprine withdrawal in Crohn's disease treated with combination therapy. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1142-9.
16. Oussalah A, Danese S, Peyrin-Biroulet L. Efficacy of TNF antagonists beyond one year in adult and pediatric inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Curr Drug Targets* 2010;11:156-75.
17. Oussalah A, Evesque L, Laharie D, Roblin X, Boschetti G, Nancey S, Filippi J, Flourie B, Hebuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. A multicenter experience with infliximab for ulcerative colitis: outcomes and predictors of response, optimization, colectomy, and hospitalization. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2617-25.
18. Oussalah A, Laurent V, Bruot O, Bressenot A, Bigard MA, Regent D, Peyrin-Biroulet L. Diffusion-weighted magnetic resonance without bowel preparation for detecting colonic inflammation in inflammatory bowel disease. *Gut* 2010;59:1056-65.
19. Oussalah A, Laurent V, Bruot O, Gueant JL, Regent D, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Additional benefit of procalcitonin to C-reactive protein to assess disease activity and severity in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:1135-44.
20. Billioud V, Laharie D, Filippi J, Roblin X, Oussalah A, Chevaux JB, Hebuterne X, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Adherence to adalimumab therapy in Crohn's disease: a French multicenter experience. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:152-9.
21. Oussalah A, Gueant JL, Peyrin-Biroulet L. Meta-analysis: hyperhomocysteinaemia in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:1173-84.
22. Peyrin-Biroulet L, Oussalah A, Roblin X, Sparrow MP. The use of azathioprine in Crohn's disease during pregnancy and in the post-operative setting: a worldwide survey of experts. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:707-13.
23. Peyrin-Biroulet L, Oussalah A, Williet N, Pillot C, Bresler L, Bigard MA. Impact of azathioprine and tumour necrosis factor antagonists on the need for surgery in newly diagnosed Crohn's disease. *Gut* 2011;60:930-6.

24. Roblin X, Oussalah A, Chevaux JB, Sparrow M, Peyrin-Biroulet L. Use of thiopurine testing in the management of inflammatory bowel diseases in clinical practice: a worldwide survey of experts. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:2480-7.
25. Roblin X, Pillet S, Oussalah A, Berthelot P, Del Tedesco E, Phelip JM, Chambonniere ML, Garraud O, Peyrin-Biroulet L, Pozzetto B. Cytomegalovirus load in inflamed intestinal tissue is predictive of resistance to immunosuppressive therapy in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2011;106:2001-8.
26. Billioud V, Gibot S, Massin F, Oussalah A, Chevaux JB, Williet N, Bronowicki JP, Bigard MA, Gueant JL, Peyrin-Biroulet L. Plasma soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2012;44:466-70.
27. Drid N, Groussel R, Belhocine K, Salah A, Oussalah A. Upper gastrointestinal endoscopy for hematemesis in a patient aged 117 years. *Endoscopy* 2012;44 Suppl 2 UCTN:E333.
28. Oussalah A, Besseau C, Chery C, Jeannesson E, Gueant-Rodriguez RM, Anello G, Bosco P, Elia M, Romano A, Bronowicki JP, Gerard P, Paoli J, Avogbe PH, Chabi N, Sanni A, Amouzou E, Peyrin-Biroulet L, Gueant JL. Helicobacter pylori serologic status has no influence on the association between fucosyltransferase 2 polymorphism (FUT2 461 G->A) and vitamin B-12 in Europe and West Africa. *Am J Clin Nutr* 2012;95:514-21.
29. Peyrin-Biroulet L, Pillot C, Oussalah A, Billioud V, Aissa N, Balde M, Williet N, Germain A, Lozniewski A, Bresler L, Gueant JL, Bigard MA. Urinary tract infections in hospitalized inflammatory bowel disease patients: a 10-year experience. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:697-702.
30. Williet N, Pillot C, Oussalah A, Billioud V, Chevaux JB, Bresler L, Bigard MA, Gueant JL, Peyrin-Biroulet L. Incidence of and impact of medications on colectomy in newly diagnosed ulcerative colitis in the era of biologics. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:1641-6.
31. Bressenot A, Chevaux JB, Williet N, Oussalah A, Germain A, Gauchotte G, Wissler MP, Vignaud JM, Bresler L, Bigard MA, Plenat F, Gueant JL, Peyrin-Biroulet L. Submucosal plexitis as a predictor of postoperative surgical recurrence in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:1654-61.
32. Bursztejn AC, Romano A, Gueant-Rodriguez RM, Cornejo JA, Oussalah A, Chery C, Gastin I, Gaeta F, Barbaud A, Blanca M, Gueant JL. Allergy to betalactams and nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) gene polymorphisms. *Allergy* 2013;68:1076-80.
33. Chery C, Hehn A, Mrabet N, Oussalah A, Jeannesson E, Besseau C, Alberto JM, Gross I, Josse T, Gerard P, Gueant-Rodriguez RM, Freund JN, Devignes J,

- Bourgaud F, Peyrin-Biroulet L, Feillet F, Gueant JL. Gastric intrinsic factor deficiency with combined GIF heterozygous mutations and FUT2 secretor variant. *Biochimie* 2013;95:995-1001.
34. Hristova L, Soyer P, Hoeffel C, Marteau P, Oussalah A, Lavergne-Slove A, Boudiaf M, Dohan A, Laurent V. Colorectal cancer in inflammatory bowel diseases: CT features with pathological correlation. *Abdom Imaging* 2013;38:421-35.
  35. Elakoum R, Gauchotte G, Oussalah A, Wissler MP, Clement-Duchene C, Vignaud JM, Gueant JL, Namour F. CARM1 and PRMT1 are dysregulated in lung cancer without hierarchical features. *Biochimie* 2014;97:210-8.
  36. Gueant JL, Romano A, Cornejo-Garcia JA, Oussalah A, Chery C, Blanca-Lopez N, Gueant-Rodriguez RM, Gaeta F, Rouyer P, Josse T, Canto G, Carmona FD, Bossini-Castillo L, Martin J, Laguna JJ, Fernandez J, Feo F, Ostrov DA, Plasencia PC, Mayorga C, Torres MJ, Blanca M. HLA-DRA variants predict penicillin allergy in genome-wide fine-mapping genotyping. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:253-9.
  37. Oussalah A, Bosco P, Anello G, Spada R, Gueant-Rodriguez RM, Chery C, Rouyer P, Josse T, Romano A, Elia M, Bronowicki JP, Gueant JL. Exome-Wide Association Study Identifies New Low-Frequency and Rare UGT1A1 Coding Variants and UGT1A6 Coding Variants Influencing Serum Bilirubin in Elderly Subjects: A Strobe Compliant Article. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e925.
  38. Oussalah A, Ferrand J, Filhine-Tresarrieu P, Aissa N, Aimone-Gastin I, Namour F, Garcia M, Lozniewski A, Gueant JL. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin for Predicting Blood Culture Results in Patients With Suspected Bloodstream Infection: An Observational Study of 35,343 Consecutive Patients (A STROBE-Compliant Article). *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e1774.
  39. Oussalah A, Fournier JP, Gueant JL, Braun M. Information-seeking behavior during residency is associated with quality of theoretical learning, academic career achievements, and evidence-based medical practice: a strobe-compliant article. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e535.
  40. Cornejo-Garcia JA, Oussalah A, Blanca M, Gueant-Rodriguez RM, Mayorga C, Waton J, Barbaud A, Gaeta F, Romano A, Gueant JL. Genetic Predictors of Drug Hypersensitivity. *Curr Pharm Des* 2016;22:6725-6733.
  41. Cornejo-Garcia JA, Romano A, Gueant-Rodriguez RM, Oussalah A, Blanca-Lopez N, Gaeta F, Tramoy D, Josse T, Dona I, Torres MJ, Canto G, Blanca M, Gueant JL. A non-synonymous polymorphism in galectin-3 lectin domain is associated with allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Pharmacogenomics J* 2016;16:79-82.
  42. Feigerlova E, Oussalah A, Fournier JP, Antonelli A, Hadjadj S, Marechaud R, Gueant JL, Roblot P, Braun M. Predictors of High Motivation Score for Performing Research

- Initiation Fellowship, Master 1, Research Master 2, and PhD Curricula During Medical Studies: A Strobe-Compliant Article. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e2633.
43. Goffinet L, Oussalah A, Gueant-Rodriguez RM, Chery C, Basha M, Avogbe PH, Josse T, Jeannesson E, Rouyer P, Flayac J, Gerard P, Le Touze A, Bonin-Goga B, Goga D, Simon E, Feillet F, Vikkula M, Gueant JL. Cystathionine beta-synthase genetic variant rs2124459 is associated with a reduced risk of cleft palate in French and Belgian populations. *J Med Genet* 2016;53:828-834.
  44. Oussalah A, Mayorga C, Blanca M, Barbaud A, Nakonechna A, Cernadas J, Gotua M, Brockow K, Caubet JC, Bircher A, Atanaskovic M, Demoly P, L KT, Terreehorst I, Laguna JJ, Romano A, Gueant JL. Genetic variants associated with drugs-induced immediate hypersensitivity reactions: a PRISMA-compliant systematic review. *Allergy* 2016;71:443-62.
  45. Oussalah A, Avogbe PH, Guyot E, Chery C, Gueant-Rodriguez RM, Ganne-Carrie N, Cobat A, Moradpour D, Nalpas B, Negro F, Poynard T, Pol S, Bochud PY, Abel L, Jeulin H, Schvoerer E, Chabi N, Amouzou E, Sanni A, Barraud H, Rouyer P, Josse T, Goffinet L, Jouve JL, Minello A, Bonithon-Kopp C, Thieffin G, Di Martino V, Doffoel M, Richou C, Raab JJ, Hillon P, Bronowicki JP, Gueant JL. BRIP1 coding variants are associated with a high risk of hepatocellular carcinoma occurrence in patients with HCV- or HBV-related liver disease. *Oncotarget* 2017;8:62842-62857.
  46. Oussalah A, Levy J, Filhine-Tresarrieu P, Namour F, Gueant JL. Association of TCN2 rs1801198 c.776G>C polymorphism with markers of one-carbon metabolism and related diseases: a systematic review and meta-analysis of genetic association studies. *Am J Clin Nutr* 2017;106:1142-1156.
  47. Gueant JL, Chery C, Oussalah A, Nadaf J, Coelho D, Josse T, Flayac J, Robert A, Koscinski I, Gastin I, Filhine-Tresarrieu P, Pupavac M, Brebner A, Watkins D, Pastinen T, Montpetit A, Hariri F, Tregouet D, Raby BA, Chung WK, Morange PE, Froese DS, Baumgartner MR, Benoist JF, Ficicioglu C, Marchand V, Motorin Y, Bonnemains C, Feillet F, Majewski J, Rosenblatt DS. APRDX1 mutant allele causes a MMACHC secondary epimutation in cblC patients. *Nat Commun* 2018;9:67.
  48. Oussalah A, Rischer S, Bensenane M, Conroy G, Filhine-Tresarrieu P, Debard R, Forest-Tramoy D, Josse T, Reinicke D, Garcia M, Luc A, Baumann C, Ayav A, Laurent V, Hollenbach M, Ripoll C, Gueant-Rodriguez RM, Namour F, Zipprich A, Fleischhacker M, Bronowicki JP, Gueant JL. Plasma mSEPT9: A Novel Circulating Cell-free DNA-Based Epigenetic Biomarker to Diagnose Hepatocellular Carcinoma. *EBioMedicine* 2018;30:138-147.
  49. Oussalah A, Julien M, Levy J, Hajjar O, Franczak C, Stephan C, Laugel E, Wandzel M, Filhine-Tresarrieu P, Green R, Gueant JL. Global Burden Related to Nitrous Oxide

- Exposure in Medical and Recreational Settings: A Systematic Review and Individual Patient Data Meta-Analysis. *J Clin Med* 2019;8.
50. Pierre C, Agopiantz M, Brunaud L, Battaglia-Hsu SF, Max A, Pouget C, Nomine C, Lomazzi S, Vignaud JM, Weryha G, Oussalah A, Gauchotte G, Busby-Venner H. COPPS, a composite score integrating pathological features, PS100 and SDHB losses, predicts the risk of metastasis and progression-free survival in pheochromocytomas/paragangliomas. *Virchows Arch* 2019.
  51. Renard E, Chery C, Oussalah A, Josse T, Perrin P, Tramoy D, Voirin J, Klein O, Leheup B, Feillet F, Gueant-Rodriguez RM, Gueant JL. Exome sequencing of cases with neural tube defects identifies candidate genes involved in one-carbon/vitamin B12 metabolisms and Sonic Hedgehog pathway. *Hum Genet* 2019.
  52. Wang Z, Yip LY, Lee JHJ, Wu Z, Chew HY, Chong PKW, Teo CC, Ang HY, Peh KLE, Yuan J, Ma S, Choo LSK, Basri N, Jiang X, Yu Q, Hillmer AM, Lim WT, Lim TKH, Takano A, Tan EH, Tan DSW, Ho YS, Lim B, Tam WL. Methionine is a metabolic dependency of tumor-initiating cells. *Nat Med* 2019;25:825-837.
  53. Gueant JL, Caillerez-Fofou M, Battaglia-Hsu S, Alberto JM, Freund JN, Dulluc I, Adjalla C, Maury F, Merle C, Nicolas JP, Namour F, Daval JL. Molecular and cellular effects of vitamin B12 in brain, myocardium and liver through its role as co-factor of methionine synthase. *Biochimie* 2013;95:1033-40.
  54. Gueant JL, Namour F, Gueant-Rodriguez RM, Daval JL. Folate and fetal programming: a play in epigenomics? *Trends Endocrinol Metab* 2013;24:279-89.
  55. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature* 2009;458:719-24.
  56. Cavuoto P, Fenech MF. A review of methionine dependency and the role of methionine restriction in cancer growth control and life-span extension. *Cancer Treat Rev* 2012;38:726-36.
  57. Qiang Y, Li Q, Xin Y, Fang X, Tian Y, Ma J, Wang J, Wang Q, Zhang R, Wang J, Wang F. Intake of Dietary One-Carbon Metabolism-Related B Vitamins and the Risk of Esophageal Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis. *Nutrients* 2018;10.
  58. Huang JY, Butler LM, Wang R, Jin A, Koh WP, Yuan JM. Dietary Intake of One-Carbon Metabolism-Related Nutrients and Pancreatic Cancer Risk: The Singapore Chinese Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2016;25:417-24.
  59. Lochhead P, Nishihara R, Qian ZR, Mima K, Cao Y, Sukawa Y, Kim SA, Inamura K, Zhang X, Wu K, Giovannucci E, Meyerhardt JA, Chan AT, Fuchs CS, Ogino S. Postdiagnostic intake of one-carbon nutrients and alcohol in relation to colorectal cancer survival. *Am J Clin Nutr* 2015;102:1134-41.

60. Nishihara R, Wang M, Qian ZR, Baba Y, Yamauchi M, Mima K, Sukawa Y, Kim SA, Inamura K, Zhang X, Wu K, Giovannucci EL, Chan AT, Fuchs CS, Ogino S, Schernhammer ES. Alcohol, one-carbon nutrient intake, and risk of colorectal cancer according to tumor methylation level of IGF2 differentially methylated region. *Am J Clin Nutr* 2014;100:1479-88.
61. Zhou ZY, Wan XY, Cao JW. Dietary methionine intake and risk of incident colorectal cancer: a meta-analysis of 8 prospective studies involving 431,029 participants. *PLoS One* 2013;8:e83588.
62. Zimmerman JA, Malloy V, Krajcik R, Orentreich N. Nutritional control of aging. *Exp Gerontol* 2003;38:47-52.
63. Sugimura T, Birnbaum SM, Winitz M, Greenstein JP. Quantitative nutritional studies with water-soluble, chemically defined diets. VIII. The forced feeding of diets each lacking in one essential amino acid. *Arch Biochem Biophys* 1959;81:448-55.
64. Halpern BC, Clark BR, Hardy DN, Halpern RM, Smith RA. The effect of replacement of methionine by homocystine on survival of malignant and normal adult mammalian cells in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1974;71:1133-6.
65. Breillout F, Antoine E, Poupon MF. Methionine dependency of malignant tumors: a possible approach for therapy. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:1628-32.
66. Hoffman RM. Altered methionine metabolism, DNA methylation and oncogene expression in carcinogenesis. A review and synthesis. *Biochim Biophys Acta* 1984;738:49-87.
67. Lu S, Epner DE. Molecular mechanisms of cell cycle block by methionine restriction in human prostate cancer cells. *Nutr Cancer* 2000;38:123-30.
68. Poirson-Bichat F, Goncalves RA, Miccoli L, Dutrillaux B, Poupon MF. Methionine depletion enhances the antitumoral efficacy of cytotoxic agents in drug-resistant human tumor xenografts. *Clin Cancer Res* 2000;6:643-53.
69. Guo HY, Herrera H, Groce A, Hoffman RM. Expression of the biochemical defect of methionine dependence in fresh patient tumors in primary histoculture. *Cancer Res* 1993;53:2479-83.
70. Miousse IR, Kutanzi KR, Koturbash I. Effects of ionizing radiation on DNA methylation: from experimental biology to clinical applications. *Int J Radiat Biol* 2017;93:457-469.
71. Rodriguez-Paredes M, Esteller M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nat Med* 2011;17:330-9.
72. Hoffman RM. Is DNA methylation the new guardian of the genome? *Mol Cytogenet* 2017;10:11.

73. Hoffman RM. Development of recombinant methioninase to target the general cancer-specific metabolic defect of methionine dependence: a 40-year odyssey. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15:21-31.
74. Loewy AD, Niles KM, Anastasio N, Watkins D, Lavoie J, Lerner-Ellis JP, Pastinen T, Trasler JM, Rosenblatt DS. Epigenetic modification of the gene for the vitamin B(12) chaperone MMACHC can result in increased tumorigenicity and methionine dependence. *Mol Genet Metab* 2009;96:261-7.
75. Watkins D. Cobalamin metabolism in methionine-dependent human tumour and leukemia cell lines. *Clin Invest Med* 1998;21:151-8.
76. Zhang W, Braun A, Bauman Z, Olteanu H, Madzelan P, Banerjee R. Expression profiling of homocysteine junction enzymes in the NCI60 panel of human cancer cell lines. *Cancer Res* 2005;65:1554-60.
77. Tang B, Li YN, Kruger WD. Defects in methylthioadenosine phosphorylase are associated with but not responsible for methionine-dependent tumor cell growth. *Cancer Res* 2000;60:5543-7.
78. Chow WA, Bedell V, Gaytan P, Borden E, Goldblum J, Hicks D, Slovak ML. Methylthioadenosine phosphorylase gene deletions are frequently detected by fluorescence in situ hybridization in conventional chondrosarcomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2006;166:95-100.
79. O'Leary VB, Ovsepian SV, Carrascosa LG, Buske FA, Radulovic V, Niyazi M, Moertl S, Trau M, Atkinson MJ, Anastasov N. PARTICLE, a Triplex-Forming Long ncRNA, Regulates Locus-Specific Methylation in Response to Low-Dose Irradiation. *Cell Rep* 2015;11:474-85.
80. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011;365:1118-27.
81. Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-Based Diagnosis, Staging, and Treatment of Patients With Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology* 2016;150:835-53.
82. Oussalah A, Avogbe PH, Guyot E, Chery C, Gueant-Rodriguez RM, Ganne-Carrie N, Cobat A, Moradpour D, Nalpas B, Negro F, Poynard T, Pol S, Bochud PY, Abel L, Jeulin H, Schvoerer E, Chabi N, Amouzou E, Sanni A, Barraud H, Rouyer P, Josse T, Goffinet L, Jouve JL, Minello A, Bonithon-Kopp C, Thieffin G, Di Martino V, Doffoel M, Richou C, Raab JJ, Hillon P, Bronowicki JP, Gueant JL, Study Group FT. BRIP1 coding variants are associated with a high risk of hepatocellular carcinoma occurrence in patients with HCV- or HBV-related liver disease. *Oncotarget* 2016. doi: 10.18632/oncotarget.11327.
83. Villanueva A, Portela A, Sayols S, Battiston C, Hoshida Y, Mendez-Gonzalez J, Imbeaud S, Letouze E, Hernandez-Gea V, Cornella H, Pinyol R, Sole M, Fuster J, Zucman-Rossi J, Mazzaferro V, Esteller M, Llovet JM, Consortium H. DNA

- methylation-based prognosis and epidrivers in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2015;61:1945-56.
84. Mostowy S, Cossart P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13:183-94.
  85. Weirich CS, Erzberger JP, Barral Y. The septin family of GTPases: architecture and dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:478-89.
  86. Hall PA, Russell SE. The pathobiology of the septin gene family. *J Pathol* 2004;204:489-505.
  87. Esteller M, Sanchez-Cespedes M, Rosell R, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG. Detection of aberrant promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in serum DNA from non-small cell lung cancer patients. *Cancer Res* 1999;59:67-70.
  88. Wong IH, Lo YM, Zhang J, Liew CT, Ng MH, Wong N, Lai PB, Lau WY, Hjelm NM, Johnson PJ. Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. *Cancer Res* 1999;59:71-3.
  89. Toth K, Sipos F, Kalmar A, Patai AV, Wichmann B, Stoehr R, Golcher H, Schellerer V, Tulassay Z, Molnar B. Detection of Methylated SEPT9 in Plasma Is a Reliable Screening Method for Both Left- and Right-Sided Colon Cancers. *PLoS One* 2012;7:e46000.
  90. He Q, Chen HY, Bai EQ, Luo YX, Fu RJ, He YS, Jiang J, Wang HQ. Development of a multiplex MethyLight assay for the detection of multigene methylation in human colorectal cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2010;202:1-10.
  91. Payne SR. From discovery to the clinic: the novel DNA methylation biomarker (m)SEPT9 for the detection of colorectal cancer in blood. *Epigenomics* 2010;2:575-85.
  92. Tanaka M, Kijima H, Itoh J, Matsuda T, Tanaka T. Impaired expression of a human septin family gene Bradeion inhibits the growth and tumorigenesis of colorectal cancer in vitro and in vivo. *Cancer Gene Ther* 2002;9:483-8.
  93. Toth K, Galamb O, Spisak S, Wichmann B, Sipos F, Valcz G, Leiszter K, Molnar B, Tulassay Z. The influence of methylated septin 9 gene on RNA and protein level in colorectal cancer. *Pathol Oncol Res* 2011;17:503-9.
  94. Newton KF, Newman W, Hill J. Review of biomarkers in colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2012;14:3-17.
  95. Rand KN, Young GP, Ho T, Molloy PL. Sensitive and selective amplification of methylated DNA sequences using helper-dependent chain reaction in combination with a methylation-dependent restriction enzymes. *Nucleic Acids Res* 2012.
  96. Grutzmann R, Molnar B, Pilarsky C, Habermann JK, Schlag PM, Saeger HD, Miehle S, Stolz T, Model F, Roblick UJ, Bruch HP, Koch R, Liebenberg V, Devos T, Song X,

- Day RH, Sledziewski AZ, Lofton-Day C. Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by septin 9 DNA methylation assay. *PLoS One* 2008;3:e3759.
97. Connolly D, Yang Z, Castaldi M, Simmons N, Oktay MH, Coniglio S, Fazzari MJ, Verdier-Pinard P, Montagna C. Septin 9 isoform expression, localization and epigenetic changes during human and mouse breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2011;13:R76.
98. Warren JD, Xiong W, Bunker AM, Vaughn CP, Furtado LV, Roberts WL, Fang JC, Samowitz WS, Heichman KA. Septin 9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer. *BMC Med* 2011;9:133.
99. Ahlquist DA, Taylor WR, Mahoney DW, Zou H, Domanico M, Thibodeau SN, Boardman LA, Berger BM, Lidgard GP. The stool DNA test is more accurate than the plasma septin 9 test in detecting colorectal neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:272-7 e1.
100. deVos T, Tetzner R, Model F, Weiss G, Schuster M, Distler J, Steiger KV, Grutzmann R, Pilarsky C, Habermann JK, Fleshner PR, Oubre BM, Day R, Sledziewski AZ, Lofton-Day C. Circulating methylated SEPT9 DNA in plasma is a biomarker for colorectal cancer. *Clin Chem* 2009;55:1337-46.
101. Church TR, Wandell M, Lofton-Day C, Mongin S, Blumenstein BA, Allen JI, Roesch T, Snover D, Day R, Ransohoff DF. Prospective Clinical Validation of an Assay for Methylated SEPT9 DNA in Human Plasma as a Colorectal Cancer Screening Tool in Average Risk Men and Women  $\geq 50$  Years. *Gastroenterology* 2010;139:e18.
102. Scott M, Hyland PL, McGregor G, Hillan KJ, Russell SE, Hall PA. Multimodality expression profiling shows SEPT9 to be overexpressed in a wide range of human tumours. *Oncogene* 2005;24:4688-700.
103. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011;53:1020-2.
104. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56:908-43.
105. Kakehashi A, Ishii N, Shibata T, Wei M, Okazaki E, Tachibana T, Fukushima S, Wanibuchi H. Mitochondrial prohibitins and septin 9 are implicated in the onset of rat hepatocarcinogenesis. *Toxicol Sci* 2011;119:61-72.
106. Moran S, Martinez-Cardus A, Boussios S, Esteller M. Precision medicine based on epigenomics: the paradigm of carcinoma of unknown primary. *Nat Rev Clin Oncol* 2017.
107. Hao X, Luo H, Krawczyk M, Wei W, Wang W, Wang J, Flagg K, Hou J, Zhang H, Yi S, Jafari M, Lin D, Chung C, Caughey BA, Li G, Dhar D, Shi W, Zheng L, Hou R, Zhu J, Zhao L, Fu X, Zhang E, Zhang C, Zhu JK, Karin M, Xu RH, Zhang K. DNA

- methylation markers for diagnosis and prognosis of common cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017;114:7414-7419.
108. Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, Sirlin CB, Abecassis MM, Roberts LR, Zhu AX, Murad MH, Marrero JA. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2018;67:358-380.
  109. European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee, European Association for the Study of the L. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2018;69:182-236.
  110. Moon AM, Weiss NS, Beste LA, Su F, Ho SB, Jin GY, Lowy E, Berry K, Ioannou GN. No Association Between Screening for Hepatocellular Carcinoma and Reduced Cancer-related Mortality in Patients with Cirrhosis. *Gastroenterology* 2018.
  111. Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2018;391:1301-1314.