



VIÈME Journée de la Recherche TOURS-POITIERS

Madame, Monsieur,

Cher(e)s Collègues,

Cher(e)s Ami(e)s,

Vous tenez entre vos mains le livre des résumés de la VIème journée de recherche Tours-Poitiers. Entrés dans la phase de maturité, nous sommes heureux de la qualité et la diversité des communications proposées. Comme vous le verrez, au fil des communications orales et en lisant les posters, les sujets sont variés et la qualité scientifique remarquable.

Ces journées témoignent du dynamisme de nos chercheurs, et de l'engagement de nos étudiants. Elles permettent les échanges entre nos structures, échanges qui permettront de renforcer les liens qui nous unissent et d'en créer de nouveau.

Elles s'inscrivent dans notre logique de territoire et traduisent l'union de nos structures universitaires et hospitalières, dans et entre nos régions.

Nous espérons que cette journée sera étendue l'année prochaine au CHU de Limoges puisque 3 projets de DHU communs "Tours Poitiers Limoges" ont été déposés.

Nous sommes donc particulièrement heureux de vous accueillir aujourd'hui et vous souhaitons donc une excellente et studieuse journée.

Le Directeur Général du CHU,

Jean-Pierre DEWITTE

Le Vice-Doyen,

Pr François SEGUIN

Le Doyen,

Pr Pascal ROBLOT

PROGRAMME DE LA JOURNEE RECHERCHE TOURS-POITIERS
Vendredi 29 novembre 2013

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Poitiers – Amphithéâtre Côme et Damien

8h30	ACCUEIL - Mise en place des posters – Hall de la Faculté
9h00	Ouverture de la journée
9h30	COMMUNICATIONS ORALES (10 mn d'exposé, 5 min de discussion)
	Session Recherche Fondamentale
9h30 à 9h45	Thibaut Legigan (P+T): De la programmation moléculaire au ciblage thérapeutique d'agents anticancéreux
9h45 à 10h	Patrick Bois (P): ANO1 contributes to angiotensin-II-activated-Ca ²⁺ -dependent Cl ⁻ current in human atrial fibroblast
10h à 10h15	Clément Thomas (T): Etude de la corrélation entre neuroinflammation et quantification de l'activation microgliale en TEP-TDM par marquage au [18F]-DPA-714 dans un modèle d'hémorragie sous-arachnoïdienne chez le rat
10h15 à 10h30	Souleymane Maïga (P): Effet de l'ischémie-reperfusion sur le réseau vasculaire cortical rénal dans un modèle porcin d'autotransplantation rénale.
10h30 à 10h45	Charlotte Veyrat-Durebex (T): metabolomic approach on an in vitro model of amyotrophic lateral sclerosis: a co-culture of astrocytes and motoneurons exposed to oxidative stress.
10h45 à 11h15	PAUSE CAFE
	Session Recherche Clinique
11h15 à 11h30	Marie Thuilliez (T): Cardiovascular events associated with intravitreal anti-VEGF monoclonal antibodies: systematic review and meta-analysis.
11h30 à 11h45	Marion Albouy-Llaty (P): Estimating water intake in French pregnant women for bisphenol A risk assessment: the EDDS cohort study
11h45 à 12h	Mélanie Bouvin-Pley (T): Analyse populationnelle de l'adaptation du vih-1 à la pression immunitaire humorale au cours de l'épidémie
12h à 12h15	Laetitia Contentin (T+P): Enquête observationnelle transversale prospective multicentrique de la pratique de l'aérosolthérapie en réanimation
12h15 à 12h30	Bénédicte Sautenet (T): RITUX-ERAH: essai multicentrique, de l'impact du Rituximab dans le traitement du rejet humoral aigu en transplantation rénale
12h30 à 13h30	BUFFET
13h30 à 15h30	SESSIONS POSTERS
15h30 à 16h30	CONFERENCE PLENIERE Pr Christophe VANDIER (Tours) Le canal SK3 sensible aux lipides : rôle dans le développement de métastases et émergence du réseau canaux ioniques du Cancéropôle du Grand Ouest
15 h30 à 16h30	Visite des posters et délibération du Jury
16h30	REMISE DES PRIX des Facultés et CHU de Poitiers et de Tours 2 prix des meilleures communications affichées (1 clinique + 1 fondamental) 2 prix des meilleures communications orales (1 clinique + 1 fondamental) 2 prix des meilleures publications 2012 2 prix de la Ligue contre le Cancer (Comités de la Vienne et d'Indre et Loire)
16h45	CONCLUSION

POSTERS

N° et Page	Nom du 1 ^{er} auteur	Ville	Thème
P 001-21	Desvignes D	Tours	Biothérapie
P 002-22	Kornfeld S	Tours	Biothérapie
P 003-23	Marchand DM	Tours	Biothérapie
P 004-25	Charles T	Poitiers-Tours	Cancer
P 005-26	Troussier I	Poitiers-Tours	Cancer
P 006-27	Troussier I	Poitiers-Tours	Cancer
P 007-27	Balbous A	Poitiers	Cancer
P 008-29	Chépiéd A	Poitiers	Cancer
P 009-30	Gatibelza	Poitiers	Cancer
P 010-31	Kostine M	Poitiers	Cancer
P 011-22	Peraudeau E	Poitiers	Cancer
P 012-33	Puyade M	Poitiers	Cancer
P 013-34	Benoist L	Tours	Cancer
P 014-35	Bougnoux P	Tours	Cancer
P 015-36	Chadet S	Tours	Cancer
P 016-37	Dezetre C	Tours	Cancer
P 017-38	Fouquet M	Tours	Cancer
P 018-39	Guéguinou M	Tours	Cancer
P 019-40	Janoray G	Tours	Cancer
P 020-41	Janoray G	Tours	Cancer
P 021-42	Janoray G	Tours	Cancer
P 022-43	Kryza T	Tours	Cancer
P 023-44	Munier O	Tours	Cancer
P 024-45	Peyta L	Tours	Cancer
P 025-46	Ruffier-loubiere A	Tours	Cancer

N° et Page	Nom du 1 ^{er} auteur	Ville	Thème
P 026-48	Dalloneau E	Tours	Cancer-Immuno
P 027-50	Findlay	Poitiers-Tours	Cardio-thoacique
P 028-51	Carre G	Poitiers	CardioThoracique
P 029-52	Pambrun T	Poitiers	CardioThoracique
P 030-53	Ivanes F	Tours	CardioThoracique
P 031-55	Tomasi J	Poitiers	CardioThoraciquePneumo
P 032-56	Barascu A	Tours	CardioThoraciquePneumo
P 033-57	Boukhattala N	Tours	CardioThoraciquePneumo
P 034-58	Boukhattala N	Tours	CardioThoraciquePneumo
P 035-59	Cabrera M	Tours	CardioThoraciquePneumo
P 036-60	Gravier R	Tours	CardioThoraciquePneumo
P 037-61	Guillon A	Tours	CardioThoraciquePneumo
P 038-63	Cottureau E	Tours	En-Génétique
P 039-64	De Lucas A	Poitiers	Endocrinologie
P 040-66	de Hauteclocque A	Poitiers	Endocrinologie
P 041-68	Albouy-Llaty M	Poitiers	Epidémiologie
P 042-69	Albouy-Llaty M	Poitiers	Epidémiologie
P 043-70	Bacle A	Poitiers	Epidémiologie
P 044-71	Saulnier PJ	Poitiers	Epidémiologie
P 045-73	Grammatico-Guillon L	Tours	Epidémiologie
P 046-74	Laurent E	Tours	Epidémiologie
P 047-76	Serres L	Poitiers	Gastro-entéro
P 048-77	Vasseur Ph	Poitiers	Gastro-entéro
P 049-79	Huguier V	Poitiers	Inflamm-dermato
P 050-80	Rabeony H	Poitiers	Inflamm-dermato
P 051-81	Chasseuil E	Tours	Inflamm-dermato
P 052-82	Henry C	Tours	Inflamm-dermato
P 053-84	Girardot M	Poitiers-Tours	Maladies infectieuses
P 054-85	Béraud G	Poitiers	Maladies infectieuses
P 055-86	Frasca D	Poitiers	Maladies infectieuses
P 056-87	Bouvet D.	Tours	Maladies infectieuses
P 057-88	Boyer A	Tours	Maladies infectieuses

N° et Page	Nom du 1 ^{er} auteur	Ville	Thème
P 058-89	Brachet G	Tours	Maladies infectieuses
P 059-90	Chaillon A	Tours	Maladies infectieuses
P 060-91	Desoubeaux G.	Tours	Maladies infectieuses
P 061-92	Grammatico-Guillon L	Tours	Maladies infectieuses
P 062-93	Morgand M	Tours	Maladies infectieuses
P 063-94	Patron K	Tours	Maladies infectieuses
P 064-96	Ballout N	Poitiers	Neurologie
P 065-97	Droguerre M	Poitiers	Neurologie
P 066-98	Julian A	Poitiers	Neurologie
P 067-99	Kalaani J	Poitiers	Neurologie
P 068-100	Larrieu D	Poitiers	Neurologie
P 069-101	Rochelle T	Poitiers	Neurologie
P 070-102	Vitrac L	Poitiers	Neurologie
P 071-103	Arlicot N	Tours	Neurologie
P 072-104	Blasco H	Tours	Neurologie
P 073-105	Dangoumau A	Tours	Neurologie
P 074-106	Filipiak I	Tours	Neurologie
P 075-107	Imbert M	Tours	Neurologie
P 076-108	Naudin M	Tours	Neurologie
P 077-110	Barucq E	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 078-111	Berthomé A.L	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 079-112	Djellab M	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 080-113	du Boisguéheneuc F	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 081-114	Harika-Germaneau G.	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 082-115	Hatchondo L.	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 083-116	HEIT D	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 084-117	Hoefsloot S	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 085-118	Nicolas C	Poitiers	Neuro-Psychiatrie
P 086-119	Cléry H	Tours	Neuro-Psychiatrie
P 087-120	Khemissi W	Tours	Neuro-Psychiatrie
P 088-121	Roché L	Tours	Neuro-Psychiatrie
P 089-122	Thillay A	Tours	Neuro-Psychiatrie
P 090-124	LEBEAU M	Poitiers	NeuroPsyToxicologie

N° et Page	Nom du 1 ^{er} auteur	Ville	Thème
P 091-126	Francis M	Tours	ORL
P 092-127	Kim S	Tours	ORL
P 093-129	Benkaddouss S	Poitiers-Tours	Pédiatrie
P 094-130	Frasquet-Darrieux M	Poitiers	Pédiatrie
P 095-131	Dubois C	Poitiers	Pédiatrie
P 096-132	Dubois C	Poitiers	Pédiatrie
P 097-133	Gatibelza M.E	Poitiers	Pédiatrie
P 098-134	Bourgoin-Heck M	Poitiers	Pédiatrie
P 099-135	Siao V	Poitiers	Pédiatrie
P 100-136	Nouar D	Tours	Pédiatrie
P 101-137	Nouar D	Tours	Pédiatrie
P 102-139	Gasgnier I	Poitiers	Autres
P 103-140	Pohin M	Poitiers	Autres
P 104-142	Carise E	Poitiers	RéaAnesthésie
P 105-143	Chaillan M	Poitiers	RéaAnesthésie
P 106-144	Chaillan M	Poitiers	RéaAnesthésie
P 107-145	Giraud B	Poitiers	RéaAnesthésie
P 108-146	Pain F	Poitiers	RéaAnesthésie
P 109-147	Si ahmed L	Poitiers	RéaAnesthésie
P 110-148	Auuet A	Tours	RéaAnesthésie
P 111-149	Contentin L	Tours	RéaAnesthésie
P 112-150	Ehrmann S	Tours	RéaAnesthésie
P 113-151	Ehrmann S	Tours	RéaAnesthésie
P 114-152	Jouan Y	Tours	RéaAnesthésie
P 115-153	Mercier E	Tours	RéaAnesthésie
P 116-154	Mercier E	Tours	RéaAnesthésie
P 117-156	Aubert V	Poitiers	Transplantation
P 118-157	Baulier E	Poitiers	Transplantation
P 119-158	Danion J	Poitiers	Transplantation
P 120-159	Le Pape S	Poitiers	Transplantation
P 121-161	Chadet S	Tours	Transplantation
P 122-162	Muhrez K	Tous	Transplantation

COMMUNICATIONS ORALES

N° + page	Nom 1 ^{er} auteur	Ville	Thèmes
O 01-9	Legigan Thibaut	P+T	Cancer
O 02-10	El Chemaly A.	Poitiers	CardioThoracique
O 03-11	Thomas	Tours	Neurologie
O 04-12	MAiGA Souleymane	Poitiers	Transplantation
O 05-13	Veyrat-Durebex Charlotte	Tours	Neurologie
O 06-14	Thulliez M.	Tours	OPH
O 07-15	Albouy-Llaty M	Poitiers	Epidemiologie
O 08-16	Bouvin-Pley Mélanie	Tours	Mal Infectieuses
O 09-17	Contentin L	P+T	Rea / anesth
O 10-18	Sautenet	Tours	Transplantation

De la programmation moléculaire au ciblage thérapeutique d'agents anticancéreux

Legigan T.^{1*}, Raes F.², Clarhaut J.³, Renoux B.¹, Tranoy-Opalinski I.¹, Lerondel S.², Le Pape A.^{2,4}, Papot S¹

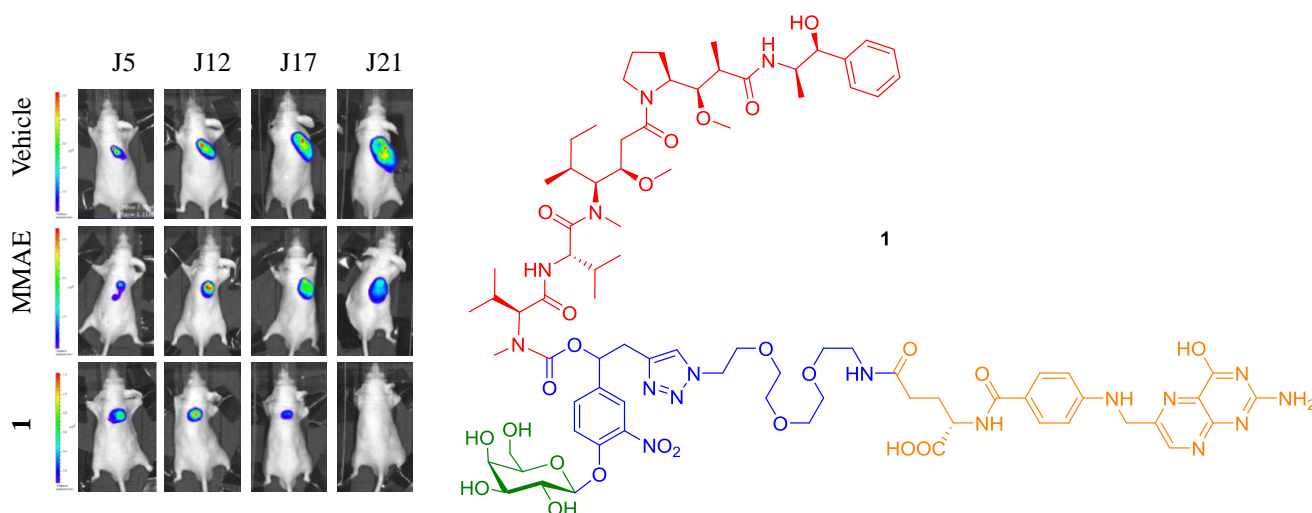
1- Groupe « Systèmes Moléculaires Programmés », Institut de Chimie des Milieux et des Matériaux de Poitiers (IC2MP), Université de Poitiers, 4 rue Michel Brunet, 86022 Poitiers. 2- UPS n°44 TAAM-CIPA, CNRS, 3 b rue de la Férollerie, 45071 Orléans. 3- INSERM CIC 0802, CHU de Poitiers, 2 rue de la Milétrie, 86021 Poitiers. 4- CEPR, INSERM U-1100, Faculté de Médecine, 2 bis Bd Tonnelé, 37000, Tours.

RESUME : La chimiothérapie conventionnelle ne permet pas de guérir la majorité des cancers courants. La plupart des médicaments utilisés cliniquement présentent peu de sélectivité vis-à-vis des cellules tumorales et s'attaquent également aux tissus sains. Cette destruction non-sélective entraîne de sévères effets secondaires et conduit souvent à l'arrêt prématuré du traitement. Ainsi, le développement de nouveaux agents anticancéreux conçus pour détruire sélectivement les tumeurs sans affecter les organes sains est devenu l'un des défis majeurs de la recherche contre le cancer.

ur détruire sélectivement les tumeurs sans affecter les organes sains est devenu l'un des défis majeurs de la recherche contre le cancer.

Des études récentes ont mis en évidence quelques spécificités malignes qui permettent de différencier les tumeurs des tissus sains. La découverte de ces cibles potentielles a conduit au développement de plusieurs systèmes de ciblage thérapeutique. L'objectif de ces nouvelles stratégies est de véhiculer un médicament vers son site d'action à l'aide d'un vecteur non-toxique, puis de régénérer son activité anticancéreuse exclusivement au niveau de la tumeur. Cette approche thérapeutique a récemment été validée chez l'homme grâce au Brentuximab vedotin, un vecteur macromoléculaire constitué d'un anticorps monoclonal associé à un puissant agent cytotoxique, la MMAE. Commercialisé en août 2011, le Brentuximab vedotin est un composé très efficace pour le traitement des lymphomes.

Dans ce cadre, nous avons récemment étudié différents types de vecteurs glycosylés programmés pour cibler soit les spécificités membranaires des cellules cancéreuses soit certaines particularités du microenvironnement tumoral. L'efficacité thérapeutique de ces vecteurs a été testée chez la souris dans le cadre du traitement de différents types de tumeurs humaines sous-cutanées ou greffées en orthotopique, et évaluée par imagerie. Les principaux résultats de ces études *in vivo* seront présentés.



ANO1 CONTRIBUTES TO ANGIOTENSIN-II-ACTIVATED Ca^{2+} -DEPENDENT Cl^- CURRENT IN HUMAN ATRIAL FIBROBLASTS

Antoun El Chemaly ^{a,1}, Caroline Norez ^{a,1}, Christophe Magaud ^{a,1}, Jocelyn Bescond ^a, Aurelien Chatelier ^a, Nassim Fares ^c, Ian Findlay ^a, Christophe Jayle ^b, Frederic Becq ^a, Jean-François Faivre ^a and Patrick Bois ^a

^a FRE CNRS 3511, Université de Poitiers, 1 rue Georges Bonnet, 86022 Poitiers Cedex, France.

^b Service de chirurgie cardio-thoracique, CHU Poitiers, France

^c Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine-PTS, USJ, Beyrouth, Liban

¹ Denotes equal contribution

Abstract

Cardiac fibroblasts are an integral part of the myocardial tissue and contribute to its remodeling. This study characterizes for the first time the calcium-dependent chloride channels (CaCC) in the plasma membrane of primary human atrial cardiac fibroblasts by means of the iodide efflux and the patch clamp methods. The calcium ionophore A23187 and Angiotensin II (Ang II) activate a chloride conductance in cardiac fibroblasts that shares pharmacological similarities with calcium-dependent chloride channels. This chloride conductance is depressed by RNAi-mediated selective Anoctamine 1 (ANO1) but not by Anoctamine 2 (ANO2) which have been revealed as CaCC and is inhibited by the selective ANO1 inhibitor, T16inh-A01. The effect of Ang II on anion efflux is mediated through AT1 receptors (with an $EC_{50} = 13.8 \pm 1.3$ nM). Blockade of anion efflux by calphostin C and bisindolylmaleimide I (BIM I) suggests that chloride conductance activation is dependent on PKC. We conclude that ANO1 carries CaCC current in human cardiac fibroblasts and that this is regulated by Ang II acting *via* the AT1 receptor pathway.

Key words: human cardiac fibroblasts, calcium-dependant chloride channels, Angiotensin II, ANO1, TMEM16A.

ETUDE DE LA CORRELATION ENTRE NEUROINFLAMMATION ET QUANTIFICATION DE L'ACTIVATION MICROGLIALE EN TEP-TDM PAR MARQUAGE AU [¹⁸F]-DPA-714 DANS UN MODÈLE D'HEMORRAGIE SOUS-ARACHNOÏDIENNE CHEZ LE RAT.

Clément THOMAS (CT), Sophie SERRIERE (SSe), Christophe Destrieux (CD), Sylvie Chalon (SC)

Service de neurochirurgie, chru TOURS (CT/CD), Unité INSERM U930 equipe 3 (CT/SSe/SC), Unité INSERM U930 equipe 5 (CD)

Introduction : Les recherches actuelles sur les complications des hémorragies sous-arachnoïdiennes (HSA) se concentrent sur des hypothèses multifactorielles et notamment neuroinflammatoires. Notre étude cherche à quantifier cette neuro-inflammation in-vivo à l'aide de radiotraceurs récemment développés, tel que le [¹⁸F]DPA -714, dans un modèle d'HSA chez le rat.

Méthodes : Nous avons aléatoirement répartis 12 rats adultes en 2 groupes : 5 SHAM et 7 rats HSA. L'HSA est réalisée par la méthode du filament. À 48h post-opératoire, les rats bénéficient d'un TEP-TDM avec le [¹⁸F]DPA -714 puis sont sacrifiés. Les cerveaux sont analysés afin de grader l'intensité de l'HSA puis les cerveaux sont congelés et analysés en autoradiographie à J5 après marquage au [³H]-PK11195.

Résultats : Nous avons pu mettre en évidence une forte corrélation entre le grade de l'HSA, l'intensité de fixation du traceur en TEP-TDM et la fixation radioactive en autoradiographie à la fois au niveau cortical et au niveau des noyaux gris centraux du côté homolatéral à la lésion réalisée. Les hypothèses physiopathologiques de cascade inflammatoires dans les suites d'une HSA sont donc observables in-vivo par TEP-TDM.

Conclusions : La neuroinflammation semble jouer un rôle primordial dans la pathogénèse des complications ischémiques de l'HSA. Cette neuroinflammation est visualisable in-vivo par TEP-TDM et proportionnel à la gravité de l'HSA. Une majoration des effectifs expérimentaux pourra permettre d'appuyer cette hypothèse physiopathologique et d'envisager une étude chez l'Homme afin de proposer une classification pronostique d'aggravation secondaire et de pouvoir adapter les thérapeutiques.

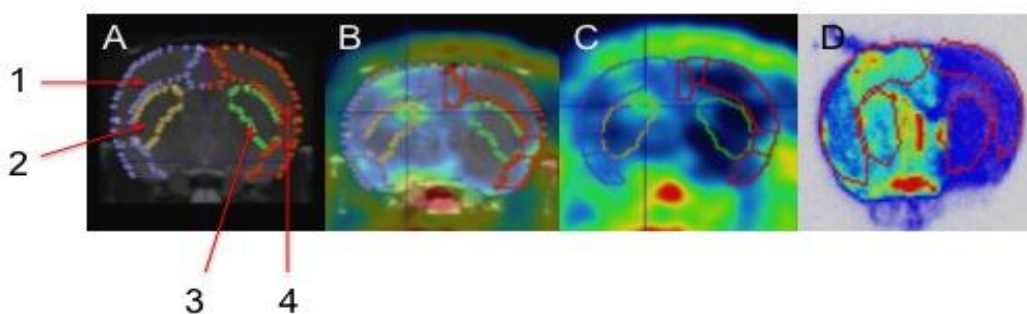


Figure 1 : coupes coronales de cerveaux de rats pour mise en relation des différentes localisations d'études de la neuroinflammation en TEP et en autoradiographie. La zone 1 correspond au cortex droit, la zone 2 aux noyaux gris centraux droit, la zone 3 aux noyaux gris centraux gauche et la zone 4 au cortex gauche. La figure A correspond au template IRM avec délimitation des zones prédéfinies. La figure B correspond à la superposition template IRM et acquisition TEP en arrière plan. La figure C correspond au recalage TEP/IRM. La figure D correspond à une image en autoradiographie d'une coupe cérébrale d'un rat HSA. On observe la bonne corrélation anatomique des zones du parenchyme cérébral dans l'étude in-vivo et in-vitro de la neuroinflammation.

CORTICAL RÉNAL DANS UN MODÈLE PORCIN D'AUTOTRANSPLANTATION RÉNALE.

Souleymane Maïga^{1,2,3} (SM), Frederic Favreau^{1,2,4} (FF), Franck Guy⁵ (FG), Jean-Pierre Tasu^{2,3} (JPT), Jerome Roumy¹ (JR), Edouard Baulier^{1,2,4} (EB), Manuel Dierick⁶ (MD), Luc Van Hoorebeke⁶ (LVH), and Thierry Hauet^{1,2,4,7} (TH).

1 INSERM, U1082, Poitiers, France;

2 Université de Poitiers, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Poitiers, France;

3 CHU de Poitiers, Service de Radiologie, Poitiers, France;

4 CHU de Poitiers, Laboratoire de Biochimie, Poitiers, France;

5 CNRS INEE UMR 7262, IPHEP Institut de Paléoprimatologie et Paléontologie Humaine, Évolution et Paléoenvironnements, Poitiers, France ; Université de Poitiers, Faculté des Sciences, Poitiers, France ;

6 UGCT-Department of Physics and Astronomy, Ghent University, Faculty of Sciences, Proeftuinstraat 86, 9000 Ghent, Belgium

7 INRA, UE1372 GenESI, Plateforme Ibis, Surgères, France;

OBJECTIF: L'intégrité vasculaire est une pierre angulaire de la viabilité des organes solides, notamment en cas de transplantation. L'objectif de ce travail est de décrire les modifications du réseau vasculaire du cortex rénal liées à une séquence d'ischémie-reperfusion (IR) induite dans un modèle préclinique porcin d'autotransplantation rénale.

MATERIEL ET METHODES: Trois mois après autotransplantation (greffons, n = 5) ou une simple néphrectomie controlatérale (reins natifs, n=5), les reins ont été perfusés avec un polymère de silicone radio-opaque et la corticale a été étudiée par microscanner. La morphologie vasculaire, la densité et la complexité du réseau évaluée par le nombre de bifurcations et le facteur d'arborescence ont été analysées par analyse tridimensionnelle des images issues du cortex ou de parties du cortex rénal délimitée par zone : externe, moyenne et interne.

RESULTATS: L'ischémie-reperfusion rénale induit une diminution corticale du volume du segment vasculaire associée à une raréfaction des microvaisseaux inférieurs à 30 µm en particulier dans la corticale interne (Densité: $7,06 \pm 1,44\%$ vs $0,79 \pm 0,54\%$, p = 0,0079). Dans le cortex, une augmentation de la connectivité caractérisée par une augmentation des bifurcations (139 ± 26 vs $296 \pm 42,7$, p <0,05) et une diminution du facteur d'arborescence ($1,07 \pm 0,05$ vs $0,90 \pm 0,04$, p <0,05) a été observée.

CONCLUSION: Trois mois après autotransplantation rénale, l'ischémie-reperfusion induit une raréfaction des microvaisseaux de la corticale interne pour une taille inférieure à 30 µm. L'augmentation de la complexité du réseau vasculaire n'a jamais été signalée, mais pourrait être associée à un processus de régénération adaptatif. Il s'agit là d'un travail suggérant des aspects particuliers de la réparation vasculaire dans l'IR.

SCLEROSIS: A CO-CULTURE OF ASTROCYTES AND MOTONEURONS EXPOSED TO OXIDATIVE STRESS

Veyrat-Durebex C^{1,2}, Blasco H^{1,2}, Dangoumau A¹, Vourc'h P^{1,2}, Piver E⁴, Laumonnier F¹, Jonneaux A⁵, Devos D⁵, Marchetti P⁶, Garçon G⁷, Andres CR^{1,2}, Corcia P^{1,3}

1. UMR INSERM U930, Equipe 2 Neurogénétique et Neurométabolomique, Tours
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours
3. Service de Neurologie, CHRU de Tours
4. INSERM U966, Tours
5. EA 1046, Faculté de Médecine Université de Lille 2, Lille
6. INSERM U837 équipe 4, Faculté de Médecine Université de Lille 2, Lille
7. EA 4483, Faculté de Médecine Université Lille 2, Lille

Background

Although genetic and environmental factors have been associated with Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) and despite evidences for implication of oxidative stress and excitotoxicity, pathophysiology of ALS remains unknown in the majority of cases. Preliminary results from our laboratory on CSF components of ALS patients indicate a potential modification of energetic substrates consumed by the central nervous system.

Objectives

In order to improve the knowledge of the pathophysiology of this disease and associated metabolic alterations, we developed a metabolomic approach on a cellular model reproducing genetic (in particular mutation in *SOD1* gene) and “environmental” (oxidative stress) conditions of ALS.

Methods

A co-culture model of mouse astrocytes (C8-D1A cell line) and motoneurons (NSC-34 cell line) expressing or not human SOD1 protein wild-type or G93C mutant, were exposed to oxidative stress (menadione). Oxidative stress status was characterized by ROS measurement, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and malondialdehyde measurement, oxidant and antioxidant status evaluation and measurement of enzymes activities such as glutathione peroxidase, glutathione reductase and superoxide dismutase and evaluation of the ratio of reduced glutathione on oxidized glutathione (GSSG/GSH).

The intra- and extracellular media were collected at 3 times post-stress (for 48h) and analyzed by a multimodal analytical approach (liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry, proton nuclear magnetic resonance, gas chromatography coupled to mass spectrometry). The evolution of metabolites concentrations during oxidative stress was studied in parallel to assessment of viability.

Results

Once the optimal conditions for the co-culture and the sample pretreatment procedure were established, we identified various metabolites such as amino acids, organic acids and sugars. Preliminary analysis of results has showed about ten metabolites whose concentrations varied significantly during exposure to oxidative stress. In particular, we noted a decrease in their global metabolism, including reduced consumption of glucose and many amino acids.

Discussion and conclusion

Preliminary results from this study revealed the feasibility of a metabolomic multimodal approach on a cellular model of ALS. These data could highlight metabolic pathways altered in ALS and could open perspective of functional, genomic and transcriptomic approaches.

Cardiovascular events associated with intravitreal anti-VEGF monoclonal antibodies: systematic review and meta-analysis.

Marie Thulliez¹, Denis Angoulvant^{2,3}, Marie Laure Lelez¹, Annie-Pierre Jonville-Bera⁴, Pierre-Jean Pisella¹, François Gueyffier^{5,6,7}, Theodora Bejan-Angoulvant^{4,8,9}

¹ CHRU Tours, Ophthalmology Department, Bretonneau Hospital, Tours, France. ² CHRU Tours, Cardiology Department, Trousseau Hospital, Tours, France. ³ EA4245 University Francois Rabelais, Tours, France. ⁴ CHRU Tours, Department of Pharmacology, Bretonneau Hospital, Tours, France. ⁵ Department of clinical Pharmacology, Hospices civils Lyon, Lyon, France. ⁶ UMR 5558, CNRS, Villeurbanne, France. ⁷ Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France. ⁸ CNRS UMR 7292, Tours, France. ⁹ University François-Rabelais, GICC, Tours, France.

Introduction

Anti-VEGF monoclonal antibodies (MAb) administered by intraocular injections are efficient in preserving visual acuity in neovascular age-related macular degeneration (AMD), diabetic macular oedema (DMO) and retinal vein occlusions (RVO), and are therefore increasingly used. Their systemic safety is currently unknown in this setting whereas intravenous administration of these MAb have been shown to induce adverse cardiovascular events in cancer patients. The aim of our study was to address the cardiovascular safety of intravitreal anti-VEGF MAb in people with AMD, DMO or RVO.

Method

We performed a systematic review and meta-analysis of published randomized controlled trials from Medline and the Cochrane database of systematic reviews. Parallel randomized controlled trials (RCT), comparing i) ranibizumab or bevacizumab versus no treatment (sham) or a non-antiangiogenic treatment, ii) ranibizumab versus bevacizumab, in patients with wet AMD, DMO or RVO. The primary endpoint was major cardiovascular events including nonfatal myocardial infarction, nonfatal ischemic or hemorrhagic stroke, and death due to vascular or unknown cause. We extracted aggregate data from published reports. Results were reported as odds-ratios (OR) with 95% confidence intervals (95%CI). We used fixed effect meta-analysis using the Peto method. Statistical heterogeneity between trials was assessed with χ^2 and I^2 statistics.

Results

22 RCT were retrieved (9672 patients): 12 included AMD patients, 8 included DMO patients and 2 included RVO patients. Twelve studies compared ranibizumab to control (n=4346), 3 studies compared bevacizumab to control (n=332) and 4 studies compared bevacizumab to ranibizumab (n=2175). Anti-VEGF MAb did not significantly increase the risk of major cardiovascular events when compared to control (OR 1.19; 95% CI [0.82, 1.72]). The risk of major cardiovascular events was not different when bevacizumab was compared to ranibizumab (OR 0.94; 95% CI [0.59, 1.52]). It was not different either when low dose ranibizumab studies were compared to high dose (OR 0.88; 95%CI [0.63, 1.23]). There was no significant dose-response relationship in ranibizumab studies when low dose studies were compared to high dose (OR 0.92 [0.67, 1.26]). Anti- VEGF treatment was not associated with significant increases in the risk of overall mortality (OR 1.55 [0.93, 2.58]), cardiovascular mortality (OR 1.35, [0.71, 2.60]), stroke (OR 1.57, [0.82, 3.00]) or myocardial infarction (OR 0.94, [0.55, 1.61]).

Conclusion

Our meta-analysis showed that intravitreal anti-VEGF MAb were not associated with significant increases in risks of systemic cardiovascular events. Further randomized controlled trials sufficiently powered are necessary to establish the relative safety and efficacy of off-label bevacizumab compared to ranibizumab, and of both drugs compared to placebo.

Estimating water intake in French pregnant women for bisphenol A risk assessment: the EDDS cohort study

Albouy-Llaty M^{1,2}, Dupuis A^{1,2}, Grignon C^{1,2}, Pierre F³, Rabouan S¹, Migeot V^{1,2}.

¹ University of Poitiers, UMR-CNRS 7285 (IC2MP), Medicine and Pharmacy Faculty (Departments of Analytical Chemistry, Pharmaceutics and Epidemiology), 6 rue de la Milétrie, 86034 Poitiers Cedex, France

² Poitiers University Hospital, Biology-Pharmacy-Public Health Pole, 2 rue de la Milétrie, BP 577, 86021 Poitiers Cedex, France

³ Poitiers University Hospital, Mother and child Pole, 2 rue de la Milétrie, BP 577, 86021 Poitiers Cedex, France.

Marion.llaty@univ-poitiers.fr

05 49 45 43 26

Context

The Endocrine Disruptors Deux-Sèvres (EDDS) cohort study assessed the relationship between exposure to endocrine disruptors in water and adverse pregnancy outcomes. Its aim was to estimate drinking-water intake and dermal contact with water of pregnant French women.

Methods

Study population was 80 pregnant women living in Deux-Sèvres county (France) in 2012-2013, in areas where drinking-water is exclusively produced by surface water. Drinking-water intake data included ingested water (tap, bottled, filtered) and consumption place (home, work, elsewhere). Dermal contact with water included showering, bathing, swimming, spa use, hand-washing and other water activities. Data were collected through face-to-face interviews at second and third trimesters of pregnancy with a one-day-recall questionnaire. Inter-trimestrial differences in water use were assessed. Socio-economic deprivation data (Townsend index and EPICES score) were recorded as predictors of water use.

Results

At second trimester of pregnancy, mean total drinking-water intake was 1.4±0.8 liter per day (L/day); 77% was tap water, 89% of which came from home. At third trimester, mean total drinking-water intake was 1.5±1.0 L/day; 75% was tap water; 99% of tap water came from home. Dermal contact with water averaged 185±93 and 173±97 min/week at second and third trimesters, between which, total tap water intake and hand-washing duration differed. Younger women reported higher water intake. Socio-economic deprivation was a predictor of filtered water intake and related water activities.

Comments

This study connects water exposure during pregnancy with risk assessment for water pollutants, including bisphenol A.

Key words: water contaminants, drinking-water intake intake, dermal contact with water, pregnancy, France, Townsend index, EPICES score

ANALYSE POPULATIONNELLE DE L'ADAPTATION DU VIH-1 À LA PRESSION IMMUNITAIRE HUMORALE AU COURS DE L'ÉPIDÉMIE

Bouvin-Pley M.¹, Morgand M.¹, Moreau A.¹, Jestin P.^{2,3}, Simonnet C.¹, Tran L.^{2,3}, Goujard C.^{2,3}, Meyer L.^{2,3}, Barin F.^{1,4}, Braibant M.¹

¹ Université François Rabelais, Inserm U966, Tours, France; ² Université Paris Sud, CESP Inserm U1018, Paris, France; ³ AP-HP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France; ⁴ Laboratoire de Bactériologie-Virologie, CHU Bretonneau, Tours, France

INTRODUCTION : Lors de la primo-infection, la plupart des patients infectés par le VIH-1 développent des anticorps neutralisants (AcN) autologues, dirigés contre les sous-unités gp120 et gp41 de la glycoprotéine d'enveloppe virale. Ces anticorps vont exercer une pression de sélection dirigeant l'évolution du virus et conduisant à la sélection rapide de variants d'échappement. Dans ce contexte, nous avons voulu vérifier si cette pression de sélection se répercutait à l'échelle populationnelle avec pour conséquence une évolution de l'espèce virale vers une plus grande résistance à la neutralisation associée à une diminution de ses propriétés immunogènes.

MATERIELS ET METHODES : Nous avons sélectionné des patients HSH (Hommes ayant des relations Sexuelles avec des Hommes) en phase précoce d'infection, infectés par des virus de sous-type B à 3 périodes de l'épidémie (1987-1991 / 1996-2000 / 2006-2010) inclus dans les cohortes françaises PRIMO et SEROCO de l'ANRS. Des virus pseudotypés, exprimant à leur surface les glycoprotéines d'enveloppe représentatives de la quasi-espèce virale infectant chaque patient, ont été générés à partir du gène *env* amplifié par RT-PCR à partir d'ARN viral. La sensibilité à la neutralisation de 40 virus pseudotypés infectieux obtenus a été testée en présence de mélanges de sérums de patients infectés au début de l'épidémie (1987-1991) et plus récemment (2003-2007) ainsi qu'en présence d'un panel d'anticorps monoclonaux humains largement neutralisants (AcN huMo). Ces AcN huMo ciblent le site de liaison au CD4 de la gp120 (VRC01, VRC03, NIH45-46^{G54W}, b12), un épitope quaternaire glycane-dépendant dans les boucles variables V1 et V2 de la gp120 (PG9, PG16, PGT145), un épitope glycanique dans ou proche de la boucle variable V3 de la gp120 (PGT121, PGT128, PGT135, 2G12), ou la région externe proximale à la membrane virale (région MPER) de la gp41 (2F5, 4E10). En parallèle, pour vérifier si l'évolution virale s'accompagnait d'une diminution de la capacité des virus à induire des AcN, nous avons comparé l'activité neutralisante de sérums collectés plus de 3 ans après la primo-infection chez 60 (30x2) sujets infectés par des virus de sous-type B à 2 périodes extrêmes de l'épidémie (1987-1991 / 2003-2007), vis-à-vis de souches de référence de niveau de sensibilité modéré à la neutralisation (« tier 2 »).

RESULTATS : Nous avons observé une diminution progressive significative de la sensibilité à la neutralisation des virus pseudotypés au cours de l'épidémie, en présence des mélanges de sérums humains et de la plupart des AcN huMo testés ciblant la gp120 (VRC01, VRC03, NIH45-46^{G54W}, b12, PG9, PG16, PGT121, PGT128, PGT145). Néanmoins, la combinaison de deux AcN huMo (NIH45-46^{G54W} et PGT128) a permis de neutraliser tous les virus isolés récemment (2006-2010) à une concentration relativement faible ($\leq 1\mu\text{g/ml}$). Parallèlement, nous avons observé une diminution de l'immunogénicité du VIH-1, l'activité neutralisante des sérums de patients infectés récemment (2003-2007) étant significativement réduite par rapport à celle des sérums de patients infectés au début de l'épidémie (1987-1991).

CONCLUSION : L'ensemble de ces résultats démontre l'existence d'une adaptation continue du VIH-1 à la pression immunitaire humorale de l'hôte au cours de l'épidémie. Ces travaux ont été récemment publiés dans la revue PloS Pathogens.

ENQUETE OBSERVATIONNELLE TRANSVERSALE PROSPECTIVE MULTICENTRIQUE DE LA PRATIQUE DE L'AEROSOL THERAPIE EN REANIMATION

Contentin L¹, Frat JP², Thille AW², Roche-Campo F³, Razazi K⁴, Brochard L⁵, Ehrmann S¹, AT@ICUstudy group

(1) Réanimation polyvalente, Centre hospitalier régional universitaire de Tours, Tours (2) Service de Réanimation Médicale, Centre hospitalier universitaire de Poitiers, Poitiers (3) Medicina intensiva, Hospital de Sant Pau, Barcelone, Espagne (4) Réanimation médicale, Groupe hospitalier Henri Mondor, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Créteil (5) Soins intensifs, Hôpitaux universitaires de Genève, Genève, Suisse.

Introduction : L'aérosolthérapie permet théoriquement d'obtenir de fortes concentrations de médicaments au niveau pulmonaire tout en limitant les effets secondaires systémiques. Malgré un intérêt potentiellement croissant en réanimation, notamment pour le traitement d'infections pulmonaires à germes résistants, peu de données sont disponibles concernant sa mise en oeuvre pratique (type de nébuliseur, molécules, circuit de ventilation, ...). L'objectif de cette étude était de déterminer la fréquence d'utilisation réelle et les modalités de mise en oeuvre de l'aérosolthérapie en réanimation. Elle fait suite à une enquête déclarative.

Type de l'étude : Étude prospective, multicentrique internationale.

Matériels et Méthodes : Durant 14 jours consécutifs (Avril-Mai 2013), inclusion de tous les patients hospitalisés dans les services de réanimation ou de surveillance continue adultes et/ou pédiatriques participant. Relevé des données démographiques et de ventilation des patients, relevé détaillé de l'ensemble des aérosols réalisés sur la période.

Résultats : Dans 81 centres (80% en Europe), 2 808 patients ont été inclus (âge 59±21 ans ; sexe féminin 61%) dont 1 215 ventilés invasivement au moins un jour (43%) et 13 203 jours. patients ont été observés pendant l'étude ; 9714 aérosols ont été administrés chez 678 patients : 24% des patients ont reçu au moins un aérosol (21% chez les patients ventilés invasivement). Les bronchodilatateurs étaient la classe thérapeutique la plus utilisée (7103 aérosols [73%]) suivis des corticoïdes (1212 aérosols [12%]). Les antibiotiques représentaient une minorité (505 aérosols [5%]). Ils n'ont jamais été associés entre eux ou avec une autre molécule, contrairement aux autres classes thérapeutiques comme les bronchodilatateurs (47% d'associations). Le générateur d'aérosol le plus utilisé était le nébuliseur pneumatique (55%) suivi des aérosol-doseurs (23%) ; les nébuliseurs ultra-soniques (10%) et à grille perforée (10%) étaient d'usage plus rare. En cas d'aérosolthérapie au cours de la ventilation artificielle invasive, la répartition des types de générateurs d'aérosols était similaire ; l'humidificateur chauffant, lorsqu'il était utilisé, était laissé en marche dans 82% des cas. Dans 33% des cas aucun filtre protecteur n'était placé sur la branche expiratoire du ventilateur. Pour l'ensemble des aérosols, la raison d'administration était une exacerbation de bronchopneumopathie obstructive pour 34% des bronchodilatateurs et 38% des corticoïdes ; pour 47% des mucomodulateurs une difficulté de drainage bronchique et pour 67% des antibiotiques une pneumonie nosocomiale. Seuls 106 effets indésirables ont été observés à très court terme (<1% des aérosols).

Conclusion : L'aérosolthérapie est une pratique très fréquente en réanimation. Les mises en oeuvre peuvent être considérées suboptimales avec certaines pratiques qui ont déjà été associées à des accidents graves. La nébulisation d'antibiotiques reste une pratique minoritaire. Des études complémentaires ainsi que des formations et recommandations spécifiques sont souhaitables compte tenu de la fréquence de cette modalité thérapeutique en réanimation.

RITUX-ERAH: ESSAI MULTICENTRIQUE, RANDOMISÉ, CONTRÔLÉ, DE L'IMPACT DU RITUXIMAB DANS LE TRAITEMENT DU REJET HUMORAL AIGU EN TRANSPLANTATION RÉNALE.

Sautenet B^{1,2}, Blancho G³, Buchler M¹, Morelon E⁴, Toupance O⁵, Barrou B⁶, Ducloux D⁷, Hurault de Ligny B⁸, Bruno Moulin⁹, Le Gouge A², Lebranchu Y¹.

¹ Néphrologie, CHRU Bretonneau, Tours, France; ²CIC INSERM 202, CHRU Bretonneau, Tours, France; ³ Néphrologie, CHRU, Nantes, France; ⁴ Néphrologie, CHRU Edouard Herriot, Lyon, France; ⁵ Néphrologie, CHRU Maison Blanche, Reims, France; ⁶ Néphrologie, CHRU Pitie Salpetriere, Paris, France; ⁷ Néphrologie, CHRU Saint Jacques, Besançon, France; ⁸ Néphrologie, CHRU, Caen, France and ⁹ Néphrologie, CHRU Civil, Strasbourg, France.

Introduction

Le traitement du rejet aigu humoral (RAH) est basé sur l'association d'échanges plasmatiques (EP), d'immunoglobulines intraveineuses (IVIG) et de corticostéroïdes (CS). L'efficacité du Rituximab dans le traitement du RAH a été décrit dans des séries de cas.

Type d'étude

Essai de phase 3, multicentrique, randomisé, contrôlé, en double aveugle.

Méthodes

Les patients présentant un RAH confirmé par ponction biopsie rénale ont été randomisés pour recevoir une injection de Rituximab (R) (375 mg/m²) ou de placebo (P). Tous les patients recevaient le traitement standard du RAH associant PE, IVIG et CS. Le critère de jugement principal était un critère composite d'échec du traitement à 12 jours (perte du greffon ou absence d'amélioration de la fonction rénale).

Résultats

Parmi les 38 patients inclus, le critère de jugement principal était de 52.6% dans le groupe R et de 57.9% dans le groupe P (p=0.744). A un an, aucun décès et une perte de greffon ont été observé dans chaque groupe. Les injections supplémentaires de Rituximab et d'IVIG ainsi que le nombre d'EP n'étaient pas différents dans les 2 groupes. La créatinine sérique diminuait significativement au cours de l'étude mais sans différence entre les 2 groupes. L'évolution de la protéinurie entre les 2 groupes était similaire. Il n'y avait pas de différence d'évolution des lésions histologiques aiguës et chroniques entre les 2 groupes. Le taux de DSA diminuait significativement au cours de l'étude sans différence entre les 2 groupes. Une diminution des DSA \geq 50% était observée chez 53.3% des patients du groupe P et 82.4% du groupe R (p=0.080).

Conclusion

L'adjonction de Rituximab au traitement standard n'apportait pas d'amélioration de la fonction rénale ni des lésions histologiques. Une tendance à une diminution plus importante des DSA dans le groupe R a été observée.

POSTERS

Biothérapie

CENTRE PILOTE DE SUIVI BIOLOGIQUE DES TRAITEMENTS PAR ANTICORPS (CEPiBAC)

Desvignes C^{1,3,4}, Degenne D^{2,3,4}, Ternant D^{1,3,4}, Gouilleux-Gruart V^{2,3,4}, Darrouzain F^{1,3,4}, Thibault G^{2,3,4}, Watier H^{2,3,4}, Paintaud G^{1,3,4}

1 CHRU de Tours, Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie.

2 CHRU de Tours, Laboratoire d'Immunologie.

3 UMR 7292, CNRS Tours.

4 Université François Rabelais, GICC, Tours.

Qu'est-ce que le CePiBac ?

Unique en France, cette plateforme regroupe des activités spécifiques réalisées par les laboratoires de Pharmacologie-Toxicologie et d'Immunologie du CHRU de Tours. Ainsi, le CePiBac exerce à la fois une activité d'aide au suivi des patients traités dans le cadre du soin, et une activité de recherche clinique.

L'efficacité clinique des anticorps thérapeutiques varie selon les patients, ce qui peut être expliqué par les concentrations individuelles et la génétique. Des analyses ont été mises au point afin d'évaluer ces paramètres et de réaliser des adaptations thérapeutiques chez les patients traités par des anticorps thérapeutiques.

Ces tests sont à disposition de tous les hôpitaux français et étrangers. Actuellement, une dizaine de spécialités médicales font appel aux compétences du CePiBac.

Analyses

- **Mesure des concentrations sériques** des anticorps thérapeutiques
- **Recherche d'anticorps induits**
- **Génotypage des facteurs individuels** influençant l'efficacité des anticorps thérapeutiques
- **Evaluation fonctionnelle** des réponses lymphocytaires
- **Analyses pharmacocinétiques (PK) et pharmacocinétiques-pharmacodynamiques (PK-PD)** des anticorps thérapeutiques

Activité et financement

- **38 protocoles de recherche clinique** en octobre 2013 (33 académiques et 5 industriels)
- Le CePiBac est cofinancé par :
 - L'Union Européenne : *L'Europe s'engage en région Centre avec le Fonds européen de développement régional (FEDER)*
 - Le LabEx MAbImprove
- **Examens biologiques** dans le cadre du **soin** (300 analyses par mois) : interactions avec environ **50 Centres Hospitaliers**

Structures Support

- Centre d'Investigation Clinique INSERM 202 (**CIC Tours**)
- Centre de Ressources Biologiques de Touraine (**CRB-T**)
- UMR CNRS 7292 (**GICC**)

MONITORING DES ANTICORPS THERAPEUTIQUES PRESCRITS DANS L'INTERREGION GRAND-OUEST (MIAMIGO)

Kornfeld S^{1,5,6}, Bejan-Angoulvant T^{2,5,6}, Goupille P^{3,5,6,7}, Desvignes C^{1,5,6}, Lecomte T^{4,5,6}, Mulleman D^{3,5,6} et Paintaud G^{1,5,6}

1 CHRU de Tours, Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie.

2 CHRU de Tours, Service de Pharmacologie.

3 CHRU de Tours, Service de Rhumatologie.

4 CHRU de Tours, Service d'Hépatogastro-entérologie et de Cancérologie Digestive.

5 UMR 7292, CNRS, Tours.

6 Université François Rabelais, GICC, Tours.

7 INSERM, CIC 202, Tours.

Le projet MIAMIGO

Le projet MIAMIGO, avec l'appui de la plateforme CePiBac et du LabEx MAbImprove, a pour but d'aider au développement de la recherche clinique sur les anticorps thérapeutiques au sein de l'interrégion du Grand-Ouest (GO). MIAMIGO a obtenu le financement d'un poste de chef de projet (Appel d'offre du GIRCI GO de 2011). La mise en place du projet a débuté en avril 2012.

Les objectifs du projet

1. Etudier les sources de variabilités pharmacocinétique (PK) et pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) ainsi que leurs conséquences en termes de réponse thérapeutique et d'effets indésirables.
2. Apporter une aide logistique aux investigateurs du GO impliqués dans la recherche clinique sur les anticorps thérapeutiques : aide à la structuration de réseaux de cliniciens ; aide à la rédaction de protocoles d'essais cliniques prospectifs multicentriques et interrégionaux ; aide à la conception et à la rédaction d'études biologiques ancillaires (plateforme CePiBac).

Les actions menées depuis 2012

1. Communication et information sur le projet : diffusion d'une plaquette de présentation du projet à différents congrès ; mise en ligne sur les sites internet du GIRCI GO, de l'UMR CNRS 7292 (GICC) et du LabEx MAbImprove d'une information sur le projet à disposition des investigateurs ; présentation du projet MIAMIGO aux « Lundis du GIRCI GO », réunions d'information sur les outils à disposition des investigateurs.
2. Aide à la rédaction de projets de recherche clinique : MIAMIGO est engagé dans 4 projets de recherche clinique dont deux ont été soumis par Tours au PHRC-IR 2013 : « LYRITUX » en rhumatologie par le Dr. Melet et « RESINFLICROMET » en gastro-entérologie par le Pr. Lecomte.
3. Aide à la structuration de réseaux d'investigateurs : le réseau d'investigateurs en rhumatologie VICTOR (éValuation des Innovations pour le diagnostiC, la Thérapeutique et le prOnostic en Rhumatologie). D'autres réseaux pourront être créés (gastro-entérologie).

Les actions futures

1. Mise en place d'un comité scientifique élargi au GO avec participation d'investigateurs de tous les CHU et CH de l'interrégion dont l'objectif sera de définir les actions prioritaires à mener et de susciter l'émergence de projets de recherche communs.
2. Finalisation de la mise en place du réseau VICTOR aboutissant à l'obtention de financements spécifiques « réseaux ».

Administration d'anticorps anti-ricine par voie aérosol : développement d'un générateur d'aérosol et d'une formulation pour le dépôt alvéolaire de l'anticorps

D MARCHAND^{1,2}, C PARENT², R RESPAUD², J GUILLEMAIN³, T PELAT⁴, P THULLIER⁴, L VECCELLIO^{1,2}, N HEUZE-VOURC'H²

¹DTF-AERODrug, Faculté de Médecine, TOURS

²CEPR INSERM U1100-EA6305, Faculté de Médecine, TOURS

³SESAME, Expertise en toxicologie, CHAMBRAY LES TOURS

⁴Unité de biotechnologie des anticorps et des toxines, Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA-CRSSA), LA TRONCHE

denis.marchand@univ-tours.fr

Introduction

La ricine est une toxine d'origine végétale, classée parmi les agents biologiques prioritaires par le Ministère français de la Défense. L'intoxication par voie pulmonaire à la ricine est la plus probable et la plus dangereuse. Récemment, l'IRBA a développé un anticorps anti-ricine neutralisant. Son administration loco-régionale dans le poumon par voie aérosol apparaît comme la solution la plus efficace et rapide pour neutraliser la toxine inhalée. L'objectif de ce projet était de développer, d'une part, une formulation médicamenteuse respectant l'intégrité et l'affinité de l'anticorps anti-ricine permettant son administration par voie aérosol et d'autre part, la mise au point un générateur d'aérosol permettant l'administration de cet anticorps dans le territoire pulmonaire cible, l'alvéole.

Méthodes

L'intégrité physique de l'anticorps formulé a été évaluée en termes d'agrégats avant et après nébulisation par DLS, HPLC-SEC-MALLS et microscopie de fluorescence. L'affinité de l'anticorps pour sa cible a été mesurée par Biacore. Les performances du dispositif de nébulisation ont été testées pour la masse inhalable et la granulométrie selon la pharmacopée européenne, complétée par des images scintigraphiques de dépôt pulmonaire chez le macaque.

Résultats

La formulation de l'anticorps anti-ricine développée a permis le stockage sous forme lyophilisée à +4°C, une reconstitution extemporanée et l'aérosolisation tout en respectant l'intégrité physique et l'affinité de l'anticorps. Le nébuliseur à tamis vibrant mis au point a permis d'obtenir un aérosol dont la taille est comprise entre 1 µm et 2 µm pour atteindre les alvéoles pulmonaires. Couplé à une chambre d'inhalation spécifique, ce prototype a permis d'obtenir une fraction inhalable supérieure à 80 % associé à un MMAD d'aérosols inférieur à 2 µm avec un débit de 0,2 ml/min. Les performances du dispositif sont confirmées par le dépôt pulmonaire chez le macaque évalué en moyenne à 18 %.

Conclusions

Ce projet a abouti pour la première fois, au développement d'un dispositif prototype nébuliseur-anticorps anti-ricine permettant, d'assurer le traitement immédiat et automatique d'un Homme suite à une exposition pulmonaire à la ricine.

CANCER

URINARY PCA3 URINE IN PATIENTS WITH A FIRST NEGATIVE PROSTATE BIOPSY: 5-YEAR FOLLOW-UP

Charles T.¹, Fromont-Hankard G.², Irani J.¹

1 Centre Hospitalo-Universitaire De Poitiers, Service d'urologie, Poitiers, France

2 Centre Hospitalo-Universitaire Bretonneau, Service d'anatomopathologie, Tours, France

Introduction & Objectives: PCA3 urine test was developed to improve the diagnostic performance of markers of prostate cancer (PCa). This study reports our evaluation in a cohort of consecutive patients with a 5-year follow-up (FU).

Material & Methods: This retrospective single-center study included patients who had a urinary PCA3 assay (Gen-Probe ®) testing before a first prostate biopsy (PB) for a PSA > 3 and <20ng/ml and/or suspicious DRE between February and December 2008. This first PCA3 result was the only one to be considered in this study. All patients' status were reviewed at 5 years (2013). Quantitative results were expressed as median and range and compared using the non-parametric Mann-Whitney test. Qualitative data were compared using the chi-square test.

Results:

-At initial biopsy in 2008: The average age of the 125 patients was 65.7 years (58.0-73.5), median PSA 5.6 ng/mL (3.0-8.2), median PCA3 28 (9-334), median prostate volume 38.0 ml (18.0-58.0) and median number of extracted cores 12 (10-32). PCa was diagnosed in 47 patients (37.6%). Among the evaluated criteria, abnormal digital rectal examination (DRE), PSA density, prostate volume and PCA3 score were significantly associated with PCa diagnosis ($p=0.007$, $p=0.049$, $p=0.003$ and $p=0.003$ respectively). Conversely, total PSA (tPSA), free/total PSA (f/t PSA), number of cores and age were not ($p>0.05$ in all cases). PCA3 area under the curve (AUC) of the receiver operating curve (ROC) was 0.67 (95% CI 0.57-0.76) with an optimal threshold in this sample of 24 units corresponding to a sensitivity (Se) and a specificity (Sp) of 73 % and 56% respectively. With a 37.6% prevalence of PCa in this sample, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were 50.1 % and 77.4% respectively. With a PCA3 threshold of 32 used in former publications, Se and Sp were 52.5 % and 63.6% respectively. The ROC AUC for tPSA, f/tPSA and PSA density were respectively 0.60 [0.50-0.70], 0.51 [0.4-0.63] and 0.64 [0.52-0.76], lower than that of PCA3 but the differences were not significant ($p=0.4$, 0.06 and 0.06 respectively).

-After 5 years of FU: Among the 78 patients with a negative initial PB in 2008, 15 (19.2%) were diagnosed later with PCa following repeat PB. PCA3 scores (performed in 2008) in the latter subgroup of 15 patients were significantly higher than those of patients without PCa detected at FU (median PCA3=38 and 20.5 respectively; $p<0.004$). Variables associated with PCa detection were PCA3 score ($p=0.002$) and PSA log slope ($p=0.04$) conversely to tPSA, f/t PSA, prostate volume, PSA density, number of extracted cores and age ($p>0.05$ in all cases). When considering all the cases (125 patients), with a FU of 5 years and whatever the number of PB performed, PCa diagnosis was significantly associated with PSA volume ($p=0.02$), PSA density ($p=0.04$) and PCA3 score ($p<0.0001$) while tPSA, f/t PSA, PSA kinetics, number of cores and age were not. Among the 47 patients who had a positive PB from 2008, PCA3 score was not related to Gleason score ($p=0.4$).

VARIABILITE INTER-OBSERVATEUR DE LA DEFINITION DES VOLUMES CIBLES MUQUEUX EN SITUATION D'ADENOPATHIE CERVICALE SANS PORTE D'ENTRÉE RETROUVEE (CUP)

I. TROUSSIER IT^a, Y. POINTREAU YP^b, V. CALUGARU VC^c, X.S. SUN XSS^d, N. MEERT NM^e, A. COUTTE AC^f, B. BAUJAT BB^g, O. VERESEZAN OV^h, R.J. BENSADOUN RJB^a, J. THARIAT JTⁱ

a pôle régional cancérologie, CHU de la Milétrie, 2, rue de la Milétrie, BP 557, 86021 Poitiers cedex

b université François Rabelais 10, Boulevard Tonnellé 37032 TOURS CEDEX

c institut Curie, 26, Rue d'Ulm, 75005 Paris,

d centre hospitalier Émile-Muller, 20, avenue du Dr-René-Laennec, 68100 Mulhouse

e Grand Hôpital de Charleroi Grand'Rue, 3 6000 Charleroi, Belgique

f CHU Amiens, Place Victor Pauchet, 80054 Amiens Cedex,

g CHU Tenon, AP-HP, 4, rue de la Chine, 75020 Paris,

h Centre Henri Becquerel, Rue d'Amiens, 76000 Rouen,

i centre Antoine-Lacassagne, 33, avenue Valombrose, 06189 Nice

Introduction : une radiothérapie panmuqueuse et ganglionnaire cervicale bilatérale, standard basée sur des études retrospectives pour prévenir l'émergence d'un primitif muqueux infra clinique et une récurrence ganglionnaire, est grevée d'une importante morbidité. Sur ce constat, de nombreuses institutions adaptent leurs volumes. L'objectif était d'évaluer les volumes muqueux irradiés en présence d'adénopathie cervicale sans primitif retrouvé (CUP) selon : le niveau ganglionnaire, le statut human papilloma virus (HPV) et le sous-type histopathologique.

Matériels et méthodes : une enquête des pratiques a été réalisée sur cas cliniques anonymes soumis à des experts en ORL. La variabilité était mesurée par le pourcentage de médecins prescrivant cette irradiation par site muqueux et par cas.

Résultats : il existait une grande variabilité des volumes irradiés, notamment muqueux, suggérant que pour la majorité des experts, l'irradiation panmuqueuse n'est plus indiquée dans un grand nombre de cas. Certains critères comme le statut HPV (primitif muqueux) étaient intégrés dans le choix des volumes alors que les sous types histopathologiques étaient pas ou peu pris en compte.

Trois exemples de stratégie sont rapportés :

- femme de 55 ans, non fumeuse, ganglion de type carcinome épidermoïde, statut HPV +, ganglion kystique de niveau IIb, TxpN2a, primitif probable oropharyngé : accord en majorité pour irradier l'oropharynx (82%) et épargner le larynx (29%) et la cavité buccale (21%).
- homme 70 ans, algérien, niveau IV droit, 100 PA, ganglion de type carcinome indifférencié, TxpN3M0, avec extension extra-capsulaire, primitifs probables : nasopharynx, hypopharynx ou sous-claviculaire (pulmonaire) : accord en majorité pour irradier de manière étendue les muqueuses (médiane 71-85%) excepté la cavité buccale (36%).
- homme 60 ans, tabac 40 PA, ganglion de type carcinome épidermoïde et neuroendocrine, de niveau II droit, TxpN2a, avec extension extra-capsulaire, primitif probable oropharynges : accord en majorité des radiothérapeutes pour irradier l'oropharynx (86%) et avis divergents pour épargner ou non les autres muqueuses.

Conclusion : des disparités étaient constatées dans la définition des volumes cibles muqueux. Les points de vue diffèrent selon la balance bénéfique-risque de la morbidité d'une irradiation panmuqueuse. Il est important d'intégrer en routine l'ensemble des critères suivants : le niveau cervical, le stade N (TNM), le sous-type histopathologique et le statut HPV/EBV afin de définir au mieux les volumes cibles muqueux et ganglionnaires et de recourir au Réseau d'Expertise Français des Cancers ORL Rares (REFCOR).

ETUDE RANDOMISEE SUR TOURS ET POITIERS EVALUANT L'APPORT DE L'ART-THERAPIE SUR LA QUALITE DE VIE, L'ANXIETE ET LA DEPRESSION DES PATIENTS ATTEINTS D'UN CANCER DES VOIES AERO-DIGESTIVES SUPERIEURES TRAITES PAR RADIOTHERAPIE

Idriss Troussier IT, Paul Brown PB, Philippe Sardo PS, Jean-Jacques Giraud JJG, Benoît Pain BP, Sylvie Chapet SC, Pierre Ingrand PI, René-Jean Bensadoun RJB

- *Idriss Troussier : interne, Oncologie Radiothérapie, PRC, CHU Poitiers*
- *Philippe Sardo art-thérapeute, Tours*
- *Paul Brown, art-thérapeute, Poitiers*
- *Jean-Jacques Giraud, Professeur, art-thérapie, Faculté médecine Poitiers*
- *Benoît Pain : Maitre de conférence, sciences humaines, Faculté médecine Poitiers*
- *Sylvie Chapet : PH, Oncologie Radiothérapie CHU Tours*
- *Pierre Ingrand : Professeur statistique, Faculté médecine Poitiers*
- *René-Jean Bensadoun : PUPH, chef de service, Oncologie Radiothérapie, PRC, CHU Poitiers*

Introduction: L'art-thérapie est un soin de support fondée sur l'utilisation thérapeutique du processus de création artistique. Une étude de soins courant, validée par le cpp OUEST III, le 14/01/2013, dont le promoteur est le CHU de Poitiers, randomisée, bicentrique (Poitiers et Tours) a pour objectif principal d'évaluer la qualité de vie globale et spécifique des patients atteints d'un cancer des voies aéro-digestives supérieures traités par radiothérapie associée à l'art-thérapie à l'aide de deux questionnaires: EORTC QLQ-C30 et Head and Neck 35 (HN35).

Matériels et méthodes: Les patients sont traités par radiothérapie à visée curative. Ils sont OMS 0 ou 1, TNM: T1 à T4, N1 à N3 et M0. Le critère d'évaluation principal est le score de qualité de vie QLQ C30 et HN 35 à la fin du traitement de la radiothérapie et à 3 mois. L'art-thérapeute consulte individuellement les patients pendant une heure hebdomadairement sur 5 semaines. L'art musical et l'art plastique sont principalement utilisés. Le patient crée soit un morceau de musique soit un tableau avec l'aide de l'art-thérapeute.

Résultats: Le calcul du nombre de sujets nécessaires est déterminé par les hypothèses suivantes: risque α 5% bilatéral, puissance 80%, une amélioration de la qualité de vie de 20 points sur 100, un écart type de 25 et un taux de 5% de patients perdus de vue à la date d'analyse. Il faut donc un effectif de 60 patients: 30 par bras. L'allocation du traitement au patient est effectuée selon une liste de randomisation générée par blocs de taille 6 et stratifiée sur le centre (département de statistique de Poitiers). Le principe d'analyse en intention de traiter sera respecté. L'analyse principale est basée sur le test statistique non paramétrique Mann et Whitney. Une variation absolue du score global de qualité de vie de 20 points sur 100 sera considérée comme cliniquement pertinente.

Conclusion: L'art thérapie a déjà montré un bénéfice en cancérologie sur la qualité de vie des patients en soins palliatif, des enfants et des femmes. L'étude est en cours, 6 patients ont déjà été randomisés sur Poitiers.

ETUDE DE L'EFFET DU PREMIER VECTEUR GLUCURONYLE DE LA CYCLOPAMINE SUR LES CELLULES INITIATRICES DE GLIOBLASTOMES

A. BALBOUS¹, B. RENOUX², U. CORTES¹, S. MILIN³, K. GUILLOTEAU¹, T. LEGIGAN², P. RIVET¹, O. BOISSONNADE⁴, M. SEBASTIEN¹, C. TRIPIANA⁴, M. WAGER⁵, J.M. TOURANI⁶, R.J. BENSADOUN⁴, S.PAPOT², L. KARAYAN-TAPON¹

¹INSERM U935 Laboratoire de cancérologie biologique, CHU Poitiers, ²Université de Poitiers IC2MP-UMR7285-Equipe Synthèse, ³Service d'anatomo-cytopathologie, CHU Poitiers, ⁴Service d'oncologie radiothérapique, CHU Poitiers ⁵Service de neurochirurgie, CHU Poitiers, ⁶Service d'oncologie médicale, CHU Poitiers,

Les glioblastomes sont les tumeurs cérébrales primaires les plus fréquentes du système nerveux central. Malgré le traitement actuel combinant chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie (Témozolomide), le pronostic reste défavorable. Les cellules initiatrices de glioblastomes (CIGs), mises en évidence dans ces tumeurs, sont responsables de la résistance aux traitements et de la rechute. Il apparaît important de cibler ces CIGs à l'aide de nouveaux traitements. La voie Sonic-Hedgehog semble être une cible potentielle car elle est impliquée dans l'auto-renouvellement et la prolifération des cellules souches. Un inhibiteur de cette voie, la cyclopamine, est connue pour inhiber les CIGs mais est toxique pour les cellules souches non tumorales.

L'équipe du Dr Papot a contourné cette toxicité en synthétisant un vecteur glucuronylé de la cyclopamine. Ce vecteur n'est actif qu'en présence de la β -glucuronidase, une enzyme présente dans les zones de nécrose permettant ainsi une libération de la cyclopamine préférentiellement au sein des tumeurs. Cette étude a été réalisée sur quatre lignées de CIGs isolées à partir de prélèvements tumoraux issus de patients atteints de glioblastomes.

In vitro ce vecteur, en absence de β -glucuronidase, n'est pas toxique pour les cellules. Ce système permet une réduction de la cytotoxicité de la cyclopamine sur les cellules environnantes. Lorsque la β -glucuronidase est ajoutée, le vecteur glucuronylé activé diminue très fortement la survie, la capacité de ces cellules à former des clones et la formation de neurosphères. En association avec la radiothérapie, cette nouvelle chimiothérapie présente un potentiel thérapeutique supérieur au traitement standard (Témozolomide plus radiothérapie). Dans un modèle *in vivo* de xénogreffe sous cutanée, l'injection intraveineuse du vecteur glucuronylé via le sinus rétro-orbital permet une inhibition significative de la croissance tumorale par rapport au groupe contrôle (75% à 8 semaines, 70% à 11 semaines et 50% à 14 semaines). La réponse tumorale observée en présence du vecteur glucuronylé est proche de celle obtenue pour la cyclopamine mais sans les effets délétères associés à la cyclopamine au niveau des cryptes intestinales.

Ce vecteur glucuronylé permet un ciblage spécifique des CIGs présentes au niveau des zones de nécrose et un ralentissement de la croissance tumorale.

CONNEXIN43 MEDIATES THE INVASIVE PROPERTIES OF HUMAN GLIOBLASTOMA CELLS

Chépiéd A., Balandre A.C., Monvoisin A., Cronier L., Mesnil M., Defamie N.

CNRS FRE 3511, Institut de Physiologie et Biologie Cellulaires, Equipe PCDC, Université de Poitiers; France.

The resistance of glioblastomas to the treatments is mainly the consequence of their invasive capacities. Their ability to invade the surrounding parenchyma prevents their surgical resection and favors tumor recurrence. Therefore in order to treat better these tumors, it is important to understand the underlying molecular mechanisms which are responsible for their invasive capacities.

Since our preliminary data suggested that the gap junction protein, connexin43 (Cx43), is involved in such invasive properties, we used clones of human glioblastoma U251 cells exhibiting different levels of Cx43 expression by sh-RNA strategy. By using such a model, we confirmed that Cx43 expression governs the invasion capacity of such cells. Indeed, clones exhibiting a decreased expression of Cx43 showed less ability for invasion than the parental cells as tested *in vitro* and *ex vivo* by using Boyden chambers or mouse brain slices.

Interestingly, confocal immunofluorescence approaches permitted to localize Cx43 mostly in invadopodias, such as ventral protrusions, exhibiting an important proteolytic activity. In such structures which are similar to lipid rafts, Cx43 was shown to be colocalized with caveolin-1, invadopodia specific proteins (cortactin, src, ...) and the cytoskeleton of actin. Such a particular localization seems to show that Cx43 controls the invasion capacity of glioblastoma cells through a mechanism which is independent from its ability to perform gap-junctional intercellular communication but dependent on src kinase activation.

It seems to be important to better understand those different mechanisms of glioblastoma invasion in order to find new therapeutics strategy to treat this type of cancer.

SYNDROME DICER 1 SANS BLASTOME PLEURO-PULMONAIRE : A PROPOS D'UN CAS FAMILIAL

Gatibelza M-E., Gaudin J., Mcheik J., Levard G.

Service medico-chirurgical de pédiatrie

Chu de Poitiers, 3 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers.

But de l'étude : Le syndrome de susceptibilité familial au blastome pleuropulmonaire (PPB) est lié à des mutations du gène DICER1. A partir d'une observation d'un enfant porteur d'une mutation du gène sans PPB, sont discutées les difficultés de surveillance de ces patients.

Observation : Nous rapportons le cas d'une fille de 6 ans prise en charge pour un tableau de torsion ovarienne gauche. Une échographie puis un scanner confirment l'existence d'une masse ovarienne gauche, mixte kystique et tissulaire de 11cm sur 7cm, et mettent en évidence une lésion kystique rénale droite de 1cm. L'alfa-fœtoprotéine prélevée en urgence est augmentée à 207ng/ml, les béta-HCG normaux, conduisant à une annexectomie gauche pour tumeur de Sertoli-Leydig. Sur les échographies post-opératoires, la lésion rénale augmentée de taille. Sur cette association lésionnelle, la mutation du gène DICER1 est confirmée, suggérant un néphrome kystique. Une chirurgie conservatrice type néphrectomie polaire supérieure est réalisée, l'histologie confirme le néphrome kystique. L'enquête familiale retrouve la mutation chez la mère et la sœur, qui sont asymptomatiques par ailleurs. Nous avons instauré un suivi échographique des annexes pour les enfants mais pas de radiographie pulmonaire systématique.

Conclusion : Le syndrome DICER1 prédispose à des néoplasies et dysplasies tissulaires dont les plus fréquentes sont le PPB, la tumeur ovarienne chez l'enfant, le néphrome kystique, et le goitre multinodulaire. Depuis leur découverte en 2009, les mutations du gène DICER1 ont été impliquées dans la genèse de nombreuses autres tumeurs (médulloblastome, blastome hypophysaire, rhabdomyosarcome utérin...). Pour ce syndrome dont le phénotype est hétérogène, il n'existe pas de consensus de surveillance. Les recommandations d'auteurs vont d'un scanner thoracique et d'une échographie abdominale à un simple suivi clinique. Une meilleure connaissance de ce syndrome permettra de déterminer la meilleure conduite à tenir.

RÔLE DE LA CONNEXINE 43 DANS L'EFFET DES OSTEOBLASTES SUR LE PHENOTYPE DE CELLULES TUMORALES PROSTATIQUES

Kostine Marie¹, Faugeroux Vincent¹, Clarhaut Jonathan², Monvoisin Arnaud¹, Defamie Norah¹, Mesnil Marc¹, Cronier Laurent¹, Debiais Françoise^{1,3}

¹CNRS FRE 3511, Institut de Physiologie et Biologie Cellulaires, Poitiers; ²INSERM CIC 802, CHU Milétrie, Poitiers;

³Service de Rhumatologie, CHU Milétrie, Poitiers.

Rationnel : L'os est le site métastatique privilégié du cancer de la prostate. La complexité de l'interaction entre la cellule cancéreuse métastatique et le microenvironnement osseux fait l'objet de nombreuses recherches actuelles, sa compréhension représentant un enjeu majeur en vue de nouvelles options thérapeutiques. Parmi les facteurs impliqués, la connexine 43 (Cx43), une des protéines de structure des jonctions gap, a un rôle clairement établi dans la différenciation et la fonction ostéoblastique, et son niveau d'expression dans les cellules cancéreuses métastatiques serait corrélé au potentiel invasif. Des travaux antérieurs sur la surexpression de Cx43 dans deux lignées cellulaires tumorales prostatiques humaines (LNCaP et PC-3) avaient confirmé l'acquisition d'un phénotype plus agressif (incidence métastatique, ostéolyse) lorsque cette connexine était exportée à la membrane.

Objectif : L'étude de l'effet des ostéoblastes (OB) sur deux lignées tumorales prostatiques de caractéristiques métastatiques différentes, et l'impact d'une surexpression de Cx43 sur le devenir osseux de ces cellules.

Matériels et méthodes : Les lignées LNCaP (peu invasive et responsable de métastases osseuses mixtes) et PC-3 (très invasive avec des métastases ostéolytiques) ont été cultivées en présence ou non d'OB issus de calvaria murines. La viabilité, l'invasion et l'expression de certains gènes d'intérêt de ces cellules tumorales surexprimant ou non la Cx43 ont été étudiées lors de ces cocultures par respectivement des tests XTT, des chambres de Boyden et RT-qPCR.

Résultats : Si peu d'effet est observé sur la viabilité, la présence d'OB majore clairement les capacités invasives de ces cellules tumorales. Cet effet est fortement lié à la surexpression de Cx43 et plus marqué pour la lignée PC-3. Par ailleurs, l'adjonction d'un inhibiteur fonctionnel de certaines métalloprotéases (GM6001, 10 μ M) ne bloque que partiellement cette augmentation d'invasion mais confirme l'implication des MMPs dans ce phénomène invasif. Enfin, selon les données de biologie moléculaire, si les cellules tumorales semblent s'adapter au microenvironnement osseux, notamment via une augmentation de CXCR4, le rôle de la Cx43 dans l'expression de ce profil pro-invasif ne semble ressortir que pour la lignée LNCaP.

Discussion : La multiplicité des travaux permet aujourd'hui d'identifier l'OB, cellule clé du remodelage osseux, comme un acteur principal du processus métastatique. Avec les limites d'un modèle *in vitro*, ce travail tend à établir un lien entre certains récepteurs aux chemokines (tel CXCR4) et la Cx43 dans un microenvironnement osseux.

CHIMIOSENSIBILISATION DES CELLULES TUMORALES AUX « CHEVAUX DE TROIE » ANTICANCEREUX

Peraudeau E^{1,2}, Champion M^{3,4}, Giraud C^{3,4}, Tranoy-Opalinski I⁵, Guilhot F^{1,3}, Cronier L², Papot S⁵ et Clarhaut J¹.

¹INSERM CIC0802, Poitiers ; ²Laboratoire STIM, CNRS FRE 3511, Poitiers, ³CHU de Poitiers ; ⁴EFS CA, site de Poitiers ; ⁵Laboratoire IC2MP, CNRS UMR7285, Poitiers

Introduction : Les chimiothérapies conventionnelles reposent sur l'administration d'agents anticancéreux non sélectifs qui provoquent souvent de sévères effets secondaires. La vectorisation consiste à modifier chimiquement un agent anticancéreux afin de permettre son transport sous une forme inactive jusqu'aux cellules cibles, où son activité cytotoxique est alors réactivée.

L'une des stratégies de chimiothérapie sélective que nous avons choisie d'étudier consiste à cibler les récepteurs à l'acide folique (FR) qui sont surexprimés à la surface des cellules de cancers ovariens et pulmonaires, ainsi que dans les Leucémies Aigues Myéloblastiques (LAM).

Dans un travail de recherche translationnelle, mis place en collaboration avec l'équipe du Dr Papot de l'Institut de Chimie des Matériaux et des Milieux de Poitiers (UMR CNRS 7285), nous avons développé un nouveau « Cheval de Troie » anticancéreux. Notre vecteur conjugue un agent antitumoral, un ligand de ciblage (l'acide folique) et un galactoside servant de gâchette enzymatique de réactivation. L'efficacité de notre vecteur a été validée *in vivo*, ainsi que sur des blastes de patients atteints de LAM (Legigan *et al.*, *Angewandte Chemie* 2012; Clarhaut *et al.*, *Leukemia Research* 2013).

Après avoir montré l'efficacité du ciblage des récepteurs à l'acide folique, nous cherchons à présent à sensibiliser les cellules tumorales à ces vecteurs anticancéreux en augmentant l'expression des récepteurs ciblés exclusivement dans les cellules cancéreuses.

Matériels et Méthodes : Nous travaillons sur trois lignées cellulaires tumorales dont les profils d'expression des récepteurs FR sont différents (KB, A2780 et A549). Ces cellules ont été traitées avec trois activateurs transcriptionnels, seuls ou en combinaison, et les variations d'expression des récepteurs FR ont été suivies par RT-qPCR, Western Blot et immunofluorescence. Nous avons également testé la capacité de ces activateurs à chimiosensibiliser les cellules cancéreuses en cotraitant ces cellules avec un agent anticancéreux vectorisé (test de viabilité XTT, BrdU). Nous nous sommes également assurés de l'innocuité de notre traitement en mesurant, par cytométrie en flux, la toxicité induite par les activateurs et notre vecteur sur des cellules souches hématopoïétiques CD34⁺, issues de sang de cordon.

Résultats : Alors que le traitement par l'un ou l'autre des activateurs transcriptionnels n'a pas d'effet, le traitement simultané des cellules par les trois activateurs permet d'augmenter l'expression des récepteurs FR de 2 à 4 fois selon la lignée. Cet effet est maintenu tant que les cellules sont en présence des activateurs. En revanche, lorsque le traitement est stoppé, l'expression des récepteurs FR retourne à son niveau basal, témoignant du caractère réversible de notre stratégie. Nous avons également montré que le cotraitement des cellules par les activateurs transcriptionnels permet d'augmenter l'efficacité de notre vecteur anticancéreux de 40% sur les cellules tumorales ciblées, mais n'entraîne pas de toxicité vis-à-vis des cellules souches hématopoïétiques CD34⁺ issues de sang de cordon.

Conclusion et Perspectives : A ce stade, nos résultats suggèrent que les activateurs transcriptionnels sont capables de chimiosensibiliser les cellules cancéreuses aux vecteurs dérivés de l'acide folique, mais pas les cellules saines. Nous nous proposons à présent d'étudier l'activité de ces activateurs sur d'autres cellules saines et sur des blastes issus de patients atteints de LAM, avant d'entamer les tests *in vivo*.

Inégalités d'accès aux soins des patients atteints de myélome multiple : étude du registre Poitou-Charentes.

Mathieu Puyade*^{1,2,3} Defossez Gautier³, Guillhot François^{1,2,3}, Pierre Ingrand^{2,3}

1 Service d'Oncohématologie et Thérapie Cellulaire, CHU de Poitiers 2 rue de la Milétrie 86021 Poitiers Cédex

2 CIC-802P CHU de Poitiers 2 rue de la Milétrie 86021 Poitiers Cédex

3 Registre des Cancers Poitou-Charentes, Faculté de Médecine et Pharmacie de Poitiers

INTRODUCTION

En France, le plan cancer 2003-2007 a été mis en place devant un constat d'inégalité d'accès aux soins en cancérologie. Le myélome multiple est un cancer hématologique avec une présentation protéiforme dont le pronostic a été révolutionné par les dernières évolutions thérapeutiques. Sa prise en charge est éclatée entre différentes spécialités, dans des centres de tailles diverses. Cette tumeur est potentiellement une maladie modèle pour tenter de dégager des déterminants d'inégalités d'accès aux soins. L'objectif de cette étude était de déterminer les facteurs associés à une prise en charge non conforme en terme de bilan initial et de première ligne de chimiothérapie, et d'évaluer si la diffusion des recommandations dans le temps permettait une meilleure prise en charge.

PATIENTS ET METHODES

Les cas de myélome incidents en 2008, 2009 et 2010 ont été identifiés par le registre des cancers de la région Poitou-Charentes, permettant ainsi l'investigation des dossiers, ainsi que l'accès à de nombreuses données collectées par le registre. Pour vérifier la qualité de la prise en charge l'adéquation, nous avons comparé d'une part le bilan préthérapeutique (diagnostic et extension) et d'autre part le traitement aux recommandations de la Société Française d'Hématologie 2009.

RESULTATS

Trois cents soixante sept patients ont été inclus. Le bilan diagnostique était conforme à 98 % et le bilan d'extension à 58% et le traitement à 90 %. Pour le bilan thérapeutique, étaient associés à une prise en charge non conforme l'absence de présentation en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP) (OR = 2,15 [1,13-4,05]), une prise en charge par certaines spécialités dans des centres secondaires (interniste OR = 3.73 [1,09- 12.74], rhumatologue OR = 4.74 [1,15-19,48]) et une distance domicile centre d'extension comprise entre 5 et 25 kilomètres (OR = 2,14 [1,05-4,39]) entre 25 et 50 kilomètres (OR = 2,98 [1,41-6,31]), mais pas pour une distance supérieure à 50 km (OR = 2,10 [0,79-5,59]). Pour le traitement, étaient associés à une prise en charge non conforme le fait d'être pris en charge dans un centre secondaire (OR = 5,29 [2,03 – 13,75]). Enfin, la conformité pour le traitement s'améliore avec le temps. L'odds ratio de 2009 par rapport à 2010 est de 2,64 [1,19 - 5,87]). Il en est de même pour le bilan préthérapeutique, avec un OR de 2009 par rapport à 2010 à 2,01[1,08-3,74]

CONCLUSION

L'amélioration de la qualité des soins dans le myélome multiple en Poitou-charentes passe par la diffusion des recommandations, la présentation des cas en RCP, et le transfert des patients vers un centre expérimenté

Le canal sodique $\text{Na}_v1.5$ stimule l'activité invadopodiale des cellules cancéreuses mammaires MDA-MB-231 en modulant l'activité de l'échangeur NHE-1

BENOIST L.¹, BRISSON L.¹, DRIFFORT V.¹, COUNILLON L.², RESHKIN S. J.³, BESSON P.¹, GORE J.¹, ROGER S.¹

¹Université François-Rabelais de Tours, INSERM 1069

²Université de Nice-Sophia Antipolis, CNRS FRE3472

³Department of General and Environmental Physiology, University of Bari, Italy

Introduction : Les canaux sodiques dépendants du voltage membranaire (Na_v) sont exprimés dans différents cancers épithéliaux (prostate, sein, poumon, col de l'utérus,...) en comparaison avec des tissus sains qui ne les expriment pas, et l'activité de ces canaux potentialise l'invasivité des cellules cancéreuses. Dans des biopsies de tissu cancéreux mammaire, c'est l'isoforme $\text{Na}_v1.5$ qui est spécifiquement surexprimée et son niveau d'expression dans la tumeur primaire est corrélé à l'invasion des ganglions lymphatiques, au développement des métastases et à une plus grande mortalité des patientes. Cette isoforme $\text{Na}_v1.5$ code pour la sous-unité principale (pore) d'un canal sodique qui est exprimé et fonctionnel dans les cellules cancéreuses mammaires humaines de la lignée MDA-MB-231.

Méthode et résultats : Le canal $\text{Na}_v1.5$ potentialise l'invasivité des cellules cancéreuses mammaires humaines via une acidification périmembranaire qui stimule l'activité des cathepsines B et S et la dégradation de la matrice extracellulaire. Dans cette étude, nous montrons que le canal $\text{Na}_v1.5$ est situé préférentiellement dans la membrane plasmique des invadopodes des cellules cancéreuses mammaires humaines MDA-MB-231, et est co-localisé avec l'échangeur $\text{Na}^+\text{-H}^+$ de type 1 (NHE-1). $\text{Na}_v1.5$ et NHE-1 peuvent être co-immunoprécipités, indiquant une forte association entre ces deux protéines membranaires. L'expression de $\text{Na}_v1.5$ dans les cellules cancéreuses mammaires est responsable de la modulation allostérique de NHE-1, augmentant son activité d'efflux de protons pour des valeurs de pH intracellulaire comprises entre 6,4 et 7. Enfin, la présence et l'activité de $\text{Na}_v1.5$ dans les cellules cancéreuses mammaires semblent contrôler la morphologie cellulaire, le niveau d'activation de la cortactine en lien avec la polymérisation de l'actine et la formation des invadopodes.

Conclusion : Cette étude suggère que le canal $\text{Na}_v1.5$ est un régulateur central de l'invasion des cellules cancéreuses mammaires humaines MDA-MB-231 puisqu'il contrôle la formation des invadopodes et leur activité de dégradation de la matrice extracellulaire, et module de façon allostérique l'activité de NHE-1.

ETUDE DE PHASE III RANDOMISÉE, MULTICENTRIQUE, EN DOUBLE AVEUGLE, ÉVALUANT L'INTÉRÊT D'UNE SUPPLÉMENTATION EN ACIDE DOCOSAHEXAENOÏQUE AU COURS DE LA CHIMIOTHÉRAPIE DU CANCER DU SEIN MÉTASTASÉ (ESSAI DHALYA)

Bougnoux P¹, Mercier-Blas A², Bonnetterre J³, Soulié P⁴, Simon H⁵, Priou F⁶, Levy C⁷, Berger V⁸

¹ CHU Bretonneau, Tours; ² CHP Saint Grégoire, Rennes ; ³ Centre Oscar Lambret, Lille; ⁴ ICO Paul Papin, Angers; ⁵ CHU Morvan, Brest ; ⁶ CHD Les Oudairies, La Roche sur Yon ; ⁷ Centre François Baclesse, CAEN; ⁸ ICO Paul Papin, Angers

Contexte - L'apparition de métastases viscérales après un cancer du sein correspond au passage à une étape palliative. La durée ainsi que la qualité de la survie dépendent de la sensibilité de la maladie aux traitements anticancéreux. L'acide docosahéxaénoïque (DHA), un acide gras polyinsaturé d'origine marine, a démontré in vitro et dans des modèles pré-cliniques sa capacité à augmenter la sensibilité des tissus tumoraux aux chimiothérapies (anthracyclines, taxanes), lorsqu'il est apporté de façon continue et prolongée (approche nutritionnelle). L'augmentation de sa teneur tissulaire après supplémentation orale au cours d'une 1^{ère} ligne de chimiothérapie chez des patientes ayant une forme agressive de cancer du sein métastasé a augmenté la survie globale à 34 mois, avec 44 % de taux de réponse et une bonne tolérance. Ces résultats nécessitent une confirmation dans un essai randomisé.

Objectif - Augmenter l'activité de la chimiothérapie anticancéreuse chez des patientes ayant une forme avancée de cancer du sein métastasé par une approche nutritionnelle en apportant des acides gras polyinsaturés à longue chaîne, d'origine marine, dans un but de chimiosensibilisation.

Méthodologie - Mise en oeuvre d'un essai randomisé à deux bras, évaluant l'allongement de la survie sans progression de 20% à 4 mois lors d'une supplémentation nutritionnelle par DHA associée à une chimiothérapie par rapport au bras témoin. Le DHA est apporté par un ADDFMS, le CASTASE®, un supplément nutritionnel qui comporte un niveau élevé d'huiles marines riches en DHA. Cette huile est remplacée par une huile végétale sans DHA (triglycéride à chaînes moyennes) dans le bras témoin, permettant ainsi de planifier cet essai en double aveugle. Il est prévu d'inclure 212 patients dans les services cliniques des cancéropôles Grand Ouest et Nord Ouest.

Perspectives - La validation de l'utilité du DHA par cet essai de phase III contrôlé ouvre la perspective d'augmenter spécifiquement l'activité des chimiothérapies par une intervention nutritionnelle ciblée dans le cancer du sein. L'essai DHALYA (NCT01548534) est financé par l'INCa (PHRC 2011). Les résultats définitifs seront connus en 2015.

L'ACTIVATION DU RECEPTEUR P2Y2 AUGMENTE LA MIGRATION DES CELLULES CANCEREUSES MAMMAIRES MCF7 VIA LA VOIE DE SIGNALISATION MEK-ERK_{1/2}

Chadet S^{1,2}, Jelassi B¹, Wannous R¹, Angoulvant D², Chevalier S¹, Besson P¹ et Roger S^{1,3}

1, UMR Inserm 1069 Nutrition, Croissance et Cancer ; Université François-Rabelais de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France

2, EA 4245 Cellules Dendritiques, Immunodulation et Greffes ; Université François-Rabelais de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France

3, Département de Physiologie Animale, UFR Sciences et Techniques ; Université François-Rabelais de Tours, Avenue Monge, 37200 Tours, France

Introduction : L'adénosine 5' tri-phosphate (ATP) constitue une source d'énergie intracellulaire. Cependant, elle peut aussi être relarguée dans le milieu extracellulaire en condition physiopathologique. En particulier, l'ATP extracellulaire est retrouvée à forte concentration dans le microenvironnement tumoral. Comme ce nucléotide peut activer les récepteurs purinergiques des cellules cancéreuses, endothéliales et immunitaires, il a été postulé que l'ATP extracellulaire pouvait jouer un rôle majeur dans la progression du cancer.

Matériel et Méthodes : Nous avons utilisé un modèle expérimental *in vitro* et réalisé toutes nos expérimentations sur des cellules cancéreuses mammaires de la lignée MCF7. L'identification des récepteurs purinergiques fonctionnels à la surface des cellules MCF7 a été réalisée grâce à des expériences de patch clamp et de spectrofluorimétrie calcique. Les expériences de migration cellulaire au travers d'inserts poreux ont permis d'analyser la migration des cellules cancéreuses mammaires MCF7 sous l'action de différents nucléotides (ATP, UTP, ADP, UDP). La voie de signalisation mise en jeu a été étudiée grâce à des expériences de western blot.

Résultats : Dans cette étude, nous avons montré que la stimulation des cellules cancéreuses mammaires MCF7 avec l'ATP (30 μ M) augmente la migration de ces cellules de $140 \pm 31\%$. Cet effet est bloqué lorsque les cellules sont cultivées en présence de l'antagoniste des récepteurs P2, la suramine. Ces résultats montrent la participation d'un récepteur purinergique dans la migration cellulaire observée. Alors que l'ADP et l'UDP n'exercent aucun effet sur la concentration calcique intracellulaire, l'ATP et l'UTP augmentent la concentration de calcium intracellulaire ainsi que la migration cellulaire. Nous avons montré que la migration en présence d'UTP est inhibée dans les cellules cultivées avec un siP2Y2 ou avec l'inhibiteur de MEK, PD98059. De plus, la stimulation des cellules MCF7 avec l'UTP induit une phosphorylation des kinases ERK_{1/2}, de façon temps-dépendante ($22,6 \pm 6,9$ fois à $t = 10$ min). Cette phosphorylation est inhibée en présence de la molécule PD98059.

Conclusion : L'ensemble de ces résultats montre l'importance de la signalisation purinergique dans la biologie du cancer et met en évidence que l'activation du récepteur P2Y2 augmente les capacités migratoires des cellules cancéreuses MCF7, via la voie de signalisation MEK-ERK_{1/2}.

**EVALUATION EXECUTIVE DES PATIENTS PORTEURS DE GLIOME DE BAS GRADE
APRES CHIRURGIE : NOUVELLES EPREUVES.**

Caroline DEZETREE (C.D)

Orthophoniste

Service de Neurochirurgie – Hôpital Bretonneau - Tours

RESUME :

Le gliome de grade II est une tumeur « pré-cancéreuse » infiltrant lentement le système nerveux central principalement chez des sujets jeunes. Cette lésion se localise préférentiellement au sein des zones frontales. C'est pourquoi la chirurgie éveillée s'est imposée pour permettre une exérèse maximale tout en préservant les aires du langage et donc la qualité de vie. Or, le lobe frontal est également responsable du fonctionnement exécutif.

Le but de notre étude est alors de rechercher si à distance de cette chirurgie fonctionnelle, les patients sont concernés par des troubles exécutifs qui pourraient impacter leur qualité de vie.

Pour cela, nous avons, tout d'abord, comparé les résultats de dix patients obtenus aux épreuves neuropsychologiques dites « classiques » en pré- et post- opératoire (vitesse de traitement, flexibilité, manipulation mentale) afin d'apprécier si un changement pouvait être objectivé. Puis, nous leur avons proposé deux épreuves dites plus « écologiques » jamais réalisées par ces patients (le zoo et les 6 éléments de la BADS) pour être au plus près des réalités quotidiennes de planification de l'action et respecter le principe de nouveauté. En l'absence de normalisation française, leurs performances ont été comparées à celles obtenues par des sujets témoins qui leur ont été appariés.

L'analyse de l'ensemble des résultats met en évidence l'existence de désordres des systèmes exécutifs cognitifs, motivationnels et comportementaux durables malgré les processus de réorganisation cérébrale.

Une distinction des perturbations a également été mise en évidence selon si les patients avaient été opérés au sein de leur hémisphère « dominant » ou « non dominant ».

Ces données nous amènent donc à réfléchir sur l'évaluation orthophonique proposée en pré-, en per- et en post- opératoire ainsi que sur la prise en charge thérapeutique.

PREVALENCE UROGENITALE DES DIFFERENTS GENOTYPES DE PAPILLOMAVIRUS HUMAINS DANS LE CANCER DE LA PROSTATE, L'HYPERPLASIE BENIGNE DE LA PROSTATE ET L'INFLAMMATION CHRONIQUE PROSTATIQUE

Fouquet M(1), Gaudy-Graffin C(2;3), Goudeau A(2;3), Bruyère F(1).

1 Service d'Urologie Hôpital Bretonneau 2 boulevard Tonnellé 37044 Tours cedex

2 Service de Bactériologie et de Virologie Hôpital Bretonneau 2 boulevard Tonnellé 37044 Tours cedex

3 Unité INSERM U966, Morphogénèse et Antigénicité des virus des hépatites et du VIH, Faculté de Médecine, 10 boulevard Tonnellé BP 3223, 37032Tours Cedex 1

Introduction : Le cancer de la prostate et l'hypertrophie bénigne de la prostate n'ont pas de prévention primaire actuellement possible. Une inflammation chronique prostatique est fréquemment rapportée à l'analyse anatomopathologique des pièces opératoires. Cette inflammation n'est pas liée aux infections bactériennes. L'intérêt pour les infections virales grandit, notamment pour les papillomavirus humains, HPV, fréquents, sexuellement transmissibles ayant un pouvoir prolifératif et oncogène. Plusieurs techniques existent pour détecter l'ADN d'HPV. Actuellement, une technique de PCR en temps réel utilisant les amorces SPF 10[®] est en cours de développement, Innogenetics, validée seulement sur 2 thermocycleurs le ABI 7500[®], Applied Biosystem et le LC 480[®], Roche.

Objectifs : Cette étude avait deux objectifs : valider initialement l'utilisation de la PCR en temps réel sur l'instrument MyiQ[®] (Bio-Rad) ; puis, déterminer la prévalence urogénitale des HPV des hommes ayant une pathologie prostatique : un cancer de la prostate, une hyperplasie bénigne de la prostate ou une inflammation chronique prostatique.

Matériel et Méthodes : La PCR en temps réel utilisant les amorces SPF 10[®] pour l'amplification de l'ADN d'HPV a été réalisée sur le MyiQ[®], Bio-Rad en suivant initialement le même protocole que décrits sur l'ABI 7500[®]. Le contrôle cellulaire était l'amorce HLA DPB1. Puis, des tentatives de modification du mélange réactionnel, du protocole d'amplification ont permis d'optimiser les résultats. Six prélèvements étaient réalisés aux patients opérés d'une prostatectomie totale ou d'une résection trans-urétrale de la prostate, ayant donné leur consentement : un écouvillon urétral, un prélèvement d'urines et 4 biopsies prostatiques. Une extraction d'acides nucléiques était réalisée. La PCR en temps réel était réalisée sur tous les extraits. Tous les prélèvements pour lesquels le résultat de la PCR était positif ou dit « ambigu » étaient ensuite génotypés par hybridation inverse selon la technique INNO-LiPA Genotyping Extra[®].

Résultats : La phase de validation de la PCR en temps réel a retenu le protocole d'amplification initial. Par contre les amorces ont été diluées au tiers dans le mélange réactionnel.

La prévalence urétrale, urinaire et prostatique des HPV était respectivement de 10,2%, 4% et nulle. Cinq patients étaient infectés : 4 par un HPV à haut risque oncogène et le dernier par un HPV de type indéterminé. Deux patients avaient le même génotype au niveau urétral et urinaire : HPV 66 pour l'un et HPV 16 pour l'autre. Deux autres patients étaient infectés au niveau urétral par un HPV 35 ou par HPV non typable. Le dernier patient était polyinfecté au niveau urétral par HPV 52, 56 et 74. Aucun lien n'a été retrouvé avec une pathologie prostatique.

Conclusion : Ces données suggèrent l'absence de lien entre une infection à HPV et les pathologies prostatiques. L'étude d'un groupe contrôle reste à faire, ainsi que poursuivre les inclusions pour étoffer l'épidémiologie urogénitale des HPV.

Ce projet bénéficie d'un financement de l'Association Française d'Urologie.

PIVOTAL ROLE OF THE LIPID RAFT SK3–ORAI1 COMPLEX IN HUMAN CANCER CELL MIGRATION AND BONE METASTASES

M. GUEGUINOU¹, L. CLARYSSE¹, A. CHANTOME¹, JEAN-PIERRE HAELTERS², PAUL-ALAIN JAFFRES², G. FROMONT^{1,3}, F. ARBION³, P. BOUGNOUX^{1,3}, C. VANDIER¹, M. POTIER-CARTEREAU¹

¹ *Inserm U1069 « Nutrition, Croissance et Cancer », University of Tours.*

² *CNRS UMR 6521-University of Brest*

³ *CHRU de Tours*

Abstract :

The SK3 channel, a potassium channel, was recently shown to control cancer cell migration, a critical step in metastasis outgrowth.

Here, we report that expression of the SK3 channel was markedly associated with bone metastasis. The SK3 channel was shown to control constitutive Ca²⁺ entry and cancer cell migration through an interaction with the Ca²⁺ channel Orai1. We found that the SK3 channel triggers an association with the Orai1 channel within lipid rafts. This localization of an SK3–Orai1 complex seemed essential to control cancer cell migration. This suggests that the formation of this complex in lipid rafts is a gain-of-function, because we showed that none of the individual proteins were able to promote the complete phenotype.

We identified the alkyl-lipid Ohmlin as a disrupting agent for SK3–Orai1 lipid raft localization. Upon Ohmlin treatment, the SK3–Orai1 complex moved away from lipid rafts, and SK3- dependent Ca²⁺ entry, migration, and bone metastases were subsequently impaired.

The colocalization of SK3 and Orai1 in primary human tumors and bone metastases further emphasized the clinical relevance of our observations. Targeting SK3–Orai1 in lipid rafts may inaugurate innovative approaches to inhibit bone metastases.

RADIOTHERAPIE STÉRÉOTAXIQUE DES MÉTASTASES HÉPATIQUES ET DES HÉPATOCARCINOMES. HÉPATOPATHIE RADIO-INDUITE, INCIDENCE, FACTEURS PRÉDICTIONNELS ET RÉSULTATS CARCINOLOGIQUES.

G. JANORAY, S. CHAPET, A. RUFFIER-LOUBIERE, G BERNADOU et G. CALAIS.

*Département d'Oncologie-Radiothérapie, Centre Henry-Kaplan, CHRU de Tours, 2, boulevard Tonnellé, 37044 Tours, France.
guillaume.janoray@yahoo.fr*

Objectifs

La radiothérapie stéréotaxique robotisée est une alternative et une option complémentaire à la chirurgie, à la radiofréquence et à la chimio-embolisation dans la prise en charge des carcinomes hépatocellulaires (CHC) et des métastases hépatiques (MH). Plusieurs travaux ont suggéré la faisabilité de cette technique et des résultats encourageants obtenus. L'objectif principal de cette étude rétrospective était d'évaluer la survenue d'hépatopathie radio-induite et ses éventuels facteurs prédictifs. L'objectif secondaire était d'évaluer l'efficacité de ce traitement.

Matériels et méthodes

Entre Juin 2010 et Novembre 2012, une radiothérapie stéréotaxique robotisée, délivrée par le Cyberknife® a été proposée à 56 patients, dans le service de radiothérapie du centre régional de cancérologie Henri S. Kaplan, CHRU TOURS.

21 patients ont été traités pour 23 lésions de CHC et 35 patients ont été traités pour 41 lésions de MH. Il s'agissait de patients inaccessibles à d'autres traitements validés. Les critères d'inclusion étaient un score OMS < 3, un score de Child-Pugh < C, une maladie extra-hépatique contrôlée, 1 ou 2 lésions, un diamètre des lésions < 75mm. Après implantation de 2 à 6 fiduciels, un TDM triphasique de centrage en coupe millimétrique, a été fusionné à une IRM hépatique. Le GTV a été délimité sur la meilleure séquence disponible, le CTV correspondait à une expansion automatique dans le foie de 5mm. PTV = CTV + 3mm. La dose prescrite sur l'isodose 80% était 45Gy/3f (49 pts) ou 60Gy/3f (7pts).

Le suivi était composé d'un examen clinique à 6 semaines puis tous les 3mois, d'un bilan hépatique tous les 15j pendant 3 mois puis tous les mois jusqu'à normalisation, d'une imagerie d'évaluation tous les 3 mois. La réponse au traitement était évaluée selon les critères RECIST 1.1. La toxicité était évaluée selon les critères CTCAE v4.0. L'hépatopathie radio-induite était définie par la présence d'une ascite, d'une hépatomégalie ou d'une cytolyse et/ou cholestase > grade 2.

Résultats

Le suivi médian était de 12.5 mois (entre 1 et 30 mois). La seule toxicité de grade 3 était une élévation isolée des GGT, chez 5 patients. Le taux d'hépatopathie radio-induite était de 9%, spontanément régressif. 2 pts ont majoré leur score de Child-Pugh (B7 vs A6, C10 vs B9). Un diamètre tumoral \geq 35mm est prédictif de toxicité hépatique aiguë ($p = .01$). Les autres toxicités étaient 3 cas de pneumothorax à l'implantation des fiduciels, 1 gastrite, 2 ulcères gastriques, 1 fracture de côte et 1 décès 1 mois après l'irradiation.

Un contrôle local a été obtenu dans 66% des cas (37/56pts), 35.7% de RC (20pts), 10.7% de RP (6pts) et 19.6% de maladie stable (11pts).

Le contrôle local et la survie globale à 1 an étaient de 64% et de 89%, respectivement. Chez les patients ayant reçu 60 Gy, le contrôle local était de 100% (7/7pts, 5 RC, 2 RP).

Conclusion

La radiothérapie stéréotaxique robotisée par la méthode du cyberknife® des métastases hépatiques et des carcinomes hépatocellulaire est bien tolérée, notamment chez les patients cirrhotiques. Son efficacité est prometteuse et des doses plus élevées méritent d'être évaluées.

OLIGOMÉTASTASES VISCÉRALES DES CANCERS COLO-RECTAUX : LA RADIOTHÉRAPIE STÉRÉOTAXIQUE ROBOTISÉE COMME UNE NOUVELLE OPTION ?

G. JANORAY ; S. CHAPET ; A. RUFFIER-LOUBIERE ; G. BERNADOU ; I. BARILLOT ; G. CALAIS

Département d'Oncologie-Radiothérapie, Centre Henry-Kaplan, CHRU de Tours, 2, boulevard Tonnellé, 37044 Tours, France.

guillaume.janoray@yahoo.fr

Introduction

Les oligométastases viscérales des cancers colo-rectaux posent une nouvelle problématique dans la prise en charge de patients fragiles ne pouvant bénéficier d'une thérapeutique validée tel que la chimiothérapie ou la chirurgie. L'objectif de cette étude rétrospective est de montrer l'efficacité et la tolérance de la radiothérapie stéréotaxique robotisée (RSR) pour le traitement des métastases hépatiques ou pulmonaires.

Matériels et Méthodes

De juin 2010 à juin 2013, 55 patients atteints de cancer colo-rectal ont été traités pour 27 métastases hépatiques et 41 métastases pulmonaires. Après acquisition des images de référence, la radiothérapie stéréotaxique robotisée a été réalisée avec suivi en temps réel des mouvements de la tumeur et synchronisation respiratoire. La prescription était de 36Gy (2/55), 45Gy (27/55) ou de 60Gy (26/55), en trois fractions.

La réponse était évaluée selon les critères RECIST v1.1, le contrôle local défini comme l'absence de progression tumorale. La toxicité était évaluée selon la CTCAE v4.0.

Résultats

Le suivi médian était de 11.3m (mini : 1.3m, maxi : 31.7m). Un contrôle local a été obtenu dans 67.3% des cas (37/55 patients), 62.2% de RC, 24.3% de RP et 13.5% de SD. Le contrôle local à 1 an était de 55% (I.C. 95% = 0.38 ; 0.71). La survie sans récurrence et la survie globale à 1 an étaient de 16% et 90%, respectivement.

Il n'a pas été observé de toxicité aiguë grade 3 ou 4. Une hépatopathie radio-induite biologique, asymptomatique et spontanément résolutive a été observé chez 2 patients.

Conclusion

La radiothérapie stéréotaxique robotisée est bien tolérée, permettant un taux de contrôle local élevé des sites traités. Des études prospectives sont nécessaires afin de déterminer la place de cette technique innovante dans la prise en charge des cancers colo-rectaux pauci-métastatiques.

OLIGOMÉTASTASES PULMONAIRES : LA RADIOTHÉRAPIE STÉRÉOTAXIQUE ROBOTISÉE COMME UNE NOUVELLE OPTION ?

G. JANORAY ; S. CHAPET ; A. RUFFIER-LOUBIERE ; G. BERNADOU ; I. BARILLOT ; G. CALAIS

*Département d'Oncologie-Radiothérapie, Centre Henry S. Kaplan, CHRU de Tours, 2, boulevard Tonnellé, 37044 Tours, France.
guillaume.janoray@yahoo.fr*

Introduction

Les oligométastases pulmonaires posent une nouvelle problématique dans la prise en charge de patients fragiles ne pouvant bénéficier d'une thérapeutique validée tel que la chimiothérapie, la chirurgie ou la radiofréquence. L'objectif de cette étude rétrospective est de montrer l'efficacité et la tolérance de la radiothérapie stéréotaxique robotisée (RSR) pour le traitement des métastases pulmonaires (MP).

Méthodes

De juillet 2010 à juin 2013, 75 patients ont été traités pour 105 MP. Les primitifs les plus fréquents étaient colorectaux (27 patients) et ORL (18 patients). Après acquisition des images de référence par 2 scanners, la RSR a été réalisée avec tracking en temps réel de la tumeur et synchronisation respiratoire. La prescription était de 36Gy (5/105), 45Gy (15/105) ou de 60Gy (85/105) en 3 fractions. La réponse était évaluée selon les critères RECIST v1.1, le contrôle local défini comme l'absence de progression tumorale. La toxicité était évaluée selon la CTCAE v4.0.

Résultats

Le suivi médian était de 10.6m (mini : 1.3m, maxi : 36.1m). Un contrôle local a été obtenu dans 93.3% des cas (98/105 lésions), 72.4% de RC, 19.4% de RP et 8.2% de SD. Le contrôle local à 1 an était de 90%. La survie globale et la survie sans récurrence à 1 an étaient de 86% et 48%, respectivement.

Il n'a pas été observé de toxicité aiguë grade 3 ou 4. Une pneumopathie radique grade 2 a été observé chez 2 patients, nécessitant une corticothérapie courte.

Conclusion

La RSR est bien tolérée, permettant un taux de contrôle local élevé. Des études prospectives sont nécessaires afin de déterminer la place de la RSR dans la prise en charge des patients oligométastatiques pulmonaires.

L'effet pro-angiogénique de KLK12 est dépendant de la biodisponibilité du Platelet-derived growth factor-B (PDGF-B)

T. KRYZA¹, C. ACHARD³, C. PARENT¹, S. MARCHAND-ADAM^{1,2}, A. GUILLON-MUNOS^{1,*}, S. IOCHMANN¹, B. KORKMAZ¹, R. RESPAUD², Y. COURTY¹ AND N. HEUZE-VOURC'H¹

¹CEPR, UMR 1100/EA6305, Tours, France ; ²CHRU de Tours, Tours, France ; ³UMR892, Nantes, France
thomas.kryza@etu.univ-tours.fr

Introduction : KLK12, une protéase à sérine de la famille des kallicréines tissulaires, est surexprimée lors de la cancérogenèse pulmonaire. Actuellement son rôle physiopathologique dans le microenvironnement tumoral reste inconnu. Néanmoins, plusieurs études suggèrent son implication dans l'angiogénèse. Dans cette étude, nous avons analysé l'impact de KLK12 sur la biodisponibilité de facteurs solubles associés à l'angiogénèse.

Méthodes : L'impact de KLK12 sur la biodisponibilité de facteurs angiogéniques a été évalué *in vitro* par traitement de cellules endothéliales et analyse de leur sécrétome par puce à protéines. La modification principale identifiée a été validée par dosage ELISA. L'implication de ce facteur dans l'effet pro-angiogénique de KLK12 a été validée dans un modèle d'angiogénèse en 3D. Nous avons également analysé l'expression de *KLK12* dans des lignées de cellules épithéliales pulmonaires cancéreuses lors de stress hypoxiques. Pour finir, l'impact de KLK12 sur la biodisponibilité de facteurs pro-angiogéniques a été confirmé sur des cellules cancéreuses pulmonaires.

Résultats : KLK12 libère le PDGF-B à partir de la matrice extracellulaire des cellules endothéliales et des cellules cancéreuses pulmonaires. Cette libération est associée au clivage de son domaine de rétention impliqué dans sa séquestration dans la MEC. L'utilisation d'un modèle d'angiogénèse en 3D ainsi que des anticorps neutralisant, nous a permis de montrer que le PDGF-B ainsi que le VEGF sont essentiels à l'effet pro-angiogénique de KLK12. Le PDGF-B libéré à partir de la MEC stimule la production de VEGF par les fibroblastes ce qui favorise les capacités angiogéniques des cellules endothéliales. Pour finir, nous avons montré que l'expression de *KLK12* est régulée par l'hypoxie dans les cellules épithéliales pulmonaires normales ou tumorales tout comme le *PDGFB* et le *VEGFA*.

Conclusions : Nos résultats confirment l'implication de KLK12 dans l'angiogénèse. En modifiant la biodisponibilité du PDGF-B, un facteur proangiogénique, elle favorise la production de VEGF par les fibroblastes et ainsi la mise en place d'un microenvironnement pro-angiogénique. Le fait que les gènes *KLK12*, *PDGFB* et *VEGFA* soient co-régulés par l'hypoxie dans les cellules cancéreuses pulmonaires renforce la possible implication de KLK12 dans la néo-angiogénèse tumorale.

Mot-clé : Cancer

IRRADIATION STEREOTAXIQUE ROBOTISEE AU CYBERKNIFE DES TUMEURS PRIMITIVES PULMONAIRES T1 T2 N0 INOPERABLES. EXPERIENCE PRELIMINAIRE DU CHU DE TOURS.

O.Munier (OM), I.Barrillot (IB), G.Bera (GB), Y.Pointreau (YP), G.Calais (GC)

Service de Radiothérapie (CORAD), CHU Tours, 2 boulevard Tonnelles, 37000 Tours

Depuis l'installation du Cyberknife® au CHU de Tours, la radiothérapie stéréotaxique robotisée est devenue une alternative thérapeutique chez les patients inopérables ou porteurs de lourdes comorbidités. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'efficacité du traitement en termes de contrôle local et d'en mesurer sa toxicité après la première année de suivi.

Matériels et méthodes :

De juillet 2010 à mars 2012, 58 patients ont été traités au CHU de Tours par Cyberknife® pour une tumeur pulmonaire primitive classée T1 ou T2, N0. 11 lésions centrales ont reçu 45 Gy en 3 fractions et 47 lésions périphériques 60 Gy en 3 fractions. La réponse au traitement a été évaluée à l'aide d'imagerie scanner en utilisant les critères RECIST et la pneumopathie radique en utilisant les critères de Ikezoe et Koenig. Les toxicités ont été enregistrées selon la classification CTCAE v4.0. Nous avons décidé de considérer comme non contrôlés les patients avec une progression locale mais également ceux décédés précocement au cours du suivi quelle que soit la cause. L'évolution de la fonction respiratoire a été mesurée en comparant les valeurs du VEMS pré traitement et à 1 an.

Résultats :

L'âge médian était de 67 ans. 52 hommes et 6 femmes ont été traités (sex ratio 9 :1). 42 lésions T1 ont été irradiées et 16 lésions T2 avec un suivi médian de 16 mois (4-31). 12 patients ont présenté une récurrence locale dont 4 porteurs d'une tumeur classée T2. Le contrôle local à un an était de 79%. En excluant les patients décédés de leurs comorbidités, le taux de contrôle local à 1 an atteignait 89.8%. 6 patients ont présentés une récurrence régionale ou à distance. 16 patients sont décédés dont 14 (87%) des suites de leurs comorbidités avec un délai médian de 12.6mois. Aucun facteur prédictif de contrôle local n'a été retrouvé dans notre série.

Aucune toxicité supérieure au grade 2 n'a été observée. Une V20Gy supérieure à 4% et un volume de PTV>35cc semble être prédictif de l'apparition d'une pneumopathie radique (respectivement 41% versus 11%, p=0.03 et 34.5% versus 11.1%, p=0.02).

Au niveau scannographique, l'aspect radiologique précoce était majoritairement une absence de changement radiologique et de la condensation en plages associée à du verre dépoli dans 25% des cas chacun. La condensation diffuse était visualisée dans 19% des cas, du verre dépoli en plages dans 16% et du verre dépoli diffus dans 12% des cas seulement. L'aspect radiologique tardif a été qualifié majoritairement en fibrose modifiant la forme classique dans 23 cas (47%), en fibrose en forme de masse dans 9 cas (18%), en forme de cicatrice dans 10 cas (20%) et enfin aucun changement de l'aspect scannographique a été observé dans 7 cas (15%). La fonction respiratoire est restée stable après le traitement : VEMS moyen pré traitement à 49% et 48% à 1 an.

Conclusion :

La radiothérapie stéréotaxique robotisée au Cyberknife® confirme donc dans cette série son efficacité dans les tumeurs broncho-pulmonaires de stade précoce avec des taux de contrôle semblables aux autres études. Les comorbidités multiples de patients traités restent la principale source de décès au cours du suivi. Aucune toxicité supérieure au grade 2 n'a été notée confirmant le caractère non toxique de cette irradiation. Ces résultats seront à confirmer avec l'actualisation de notre série dans les années qui viennent, ce qui permettra également d'affiner d'éventuels critères dosimétriques de toxicité pulmonaire.

Liver cardiolipin in cancer cachexia

L Peyta¹, J.-F. Dumas¹, G. M. Hatch², F. Maillot¹, P. Loyer³ and S. Servais¹

¹ INSERM UMR1069, "Nutrition, Growth and Cancer", F-37032 Tours, France

² Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Manitoba, Winnipeg, Canada R3E 0T6

³ INSERM UMR 911, "Liver, Metabolism and Cancer", 35033 Rennes

Cancer cachexia has been recognized for a long time as adverse effects of cancer, affecting 80% of patients with advanced cancer and accounting for 25% of deaths. Cancer cachexia is a multifactorial syndrome characterized by a whole body negative energy balance driven by a variable combination of reduced food intake (anorexia) and abnormal metabolism (hypermetabolism) and a systemic inflammation.

In recent published work, we have demonstrated that the efficiency ATP synthesis was decreased related to an increase in energy wasting in the liver mitochondria of a rat model of peritoneal carcinosis induced-cachexia. Moreover cardiolipin (CL) content was significantly increased (+55%). CL is a major and specific phospholipid of the mitochondrial inner membrane required for the activity of a number of key mitochondrial enzymes involved in cellular energy metabolism. Importantly this increase in CL content was positively correlated to the increase of energy wasting observed in liver mitochondria of rats with cancer cachexia ($R^2=0.64$, $p < 0.05$). Moreover, we also found change in FA composition of CL between liver mitochondria from control (PF) and cachectic cancer rats (PC).

In order to elucidate the changes in CL content and composition we focused on gene and protein expression and activities of enzymes involved in CL biosynthesis and remodeling pathway in liver mitochondria from cachectic and control rats.

Our data show a decrease of CLS activity (-44% $p < 0.05$) in PC, key enzyme of CL metabolism which catalyse final step of CL biosynthesis, without any change of its expression. A two folds increase of PGS-1 gene expression, enzyme involved into CLS precursor synthesis, despite unchanged activity, could balance CLS activity decrease by increasing its substrate availability and could eventually explain CL total content increase.

Also, an increase of MLCLAT activity and tafazzin gene expression, CL specific's remodeling enzymes, are observed which could explain changes in CL fatty acyl chain composition.

To conclude remodeling expression or activity could explain the modification of CL composition but, CL total content increasing remain unclear. Further examination of lipid transport system, cardiolipin precursor synthesis and influence of systemic inflammation is investigated.

IRRADIATION DES GERMINOMES INTRACRANIENS LOCALISES : INTERET DE LA PROTONTHERAPIE

A.Ruffier-Loubiere^{1&2}, L. De Marzi¹, A.Leroy¹, M. Robilliard², C. Dauphinot², M.Amessis², H.Brisse³, S.Bolle⁴, JL.Habrand⁵, V.Calugaru^{1&2}, N.Fournier Bidoz¹ et C.Alapetite^{1&2}

1-Institut Curie- Centre de Protontherapie d'Orsay,

2-Institut Curie- Departement de Radiotherapie Oncologique, Paris

3-Institut Curie, Departement d'imagerie

4-Institut Gustave Roussy, Departement de Radiotherapie Oncologique, Villejuif

5-Centre Francois Baclesse, Caen (F)

6 – Centre hospitalier Régional Universitaire de Tours

Objectif : Les protocoles SFOP-TGM90 et SIOP/ CNS-GCT-96, combinant chimiothérapie et radiothérapie focale pour les germinomes localisés (G) ont mis en évidence un mode de rechute periventriculaire. Depuis 2003, un amendement recommande l'inclusion du système ventriculaire à 24 Gy Gy, suivi d'un complément au lit tumoral de 40 Gy. L'installation d'un bras isocentrique à l'Institut Curie-Centre de Protontherapie d'Orsay a permis de proposer une irradiation par faisceaux de protons.

Méthode: Entre 2003-2012, 25 patients, d'âge médian 16 ans [6-29], ont été adressés à l'Institut Curie pour un germinome intracrânien (G) : pinéale(13), supra-sellaire(7), bifocal(5). La radiothérapie a été délivrée selon des modalités conformationnelles 3D (3) ; IMRT (10) ; ou par protonthérapie conformationnelle en diffusion passive (12).

Résultats: Le système ventriculaire représente un volume complexe, large (médiane 266cc), qui a nécessité l'utilisation de collimateurs de 140-180mm. L'étude dosimétrique comparative montre un index de conformité médian identique (1.5) en IMRT et en Protontherapie, mais de moindre variabilité en protonthérapie. Les Histogrammes Dose-Volume objectivent une réduction de l'exposition des tissus sains aux plus faibles domaines de dose en protontherapie (parenchyme cérébral, lobes temporaux, cochlées), montrée également par la diminution du volume des isodoses 15 Gy et 10 Gy. Compliance au traitement et tolérance immédiate sont excellentes. Au suivi médian de 8 mois [2-16], la survie globale et la survie sans rechute sont de 100%.

Conclusions: Dans le cadre des Germinomes intracrânien, pathologie rare des enfants, adolescents et jeunes adultes d'excellent pronostic, la protontherapie permet d'optimiser l'index radio-thérapeutique. Une évaluation à long terme du contrôle tumoral et de l'effet sur les tissus sains est nécessaire. Les développements techniques du centre d'Orsay, devraient permettre d'évoluer vers la protontherapie par modulation d'intensité (IMPT) améliorant encore le gradient de dose pour un volume aussi complexe que le système ventriculaire.

CancerImmunologie

IMPLICATION D'UN NOUVEAU CO-FACTEUR DE TRANSCRIPTION DANS LE DEVELOPPEMENT ET LA MATURATION DES CELLULES NATURAL-KILLER

DALLONEAU E.¹, BREA D.¹, WEI Y.², BARANEK T.¹ et SI-TAHAR M.¹

¹Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Inserm U1100/EA6305, Université François Rabelais, Tours, France.

²Institut Pasteur, Unité d'Oncogénèse et Virologie Moléculaire, Paris, France

Introduction : Les cellules Natural Killer (NK) sont des lymphocytes du système immunitaire inné produits dans la moelle osseuse. Les cellules NK protègent l'organisme en détruisant les cellules tumorales ou infectées par des virus et en régulant les réponses immunitaires innées et adaptatives. Au cours de leur développement, les cellules NK subissent un processus d'éducation caractérisé par l'acquisition de récepteurs spécifiques (activateurs ou inhibiteurs) qui leur permettra de distinguer les cellules saines des cellules à éliminer. Il est établi que l'ontogénèse et les fonctions des cellules NK sont régulées par des facteurs de transcription. Cependant, les mécanismes moléculaires précis contrôlant le développement et les fonctions des NK ne sont pas encore entièrement déchiffrés.

Une étude récente, basée sur des analyses *in silico*, montre qu'un co-facteur de transcription (identifié ci-après « TF-X » pour des aspects de confidentialité) pourrait moduler plus de 50 % de la signature génique spécifique des cellules NK (Bezman et al. 2012). **De plus, nous avons observé que des souris déficientes en TF-X développent une déficience en cellules NK.**

Objectif : Le but de notre projet est de démontrer que TF-X est un co-facteur de transcription impliqué dans le développement et les fonctions des cellules NK.

Matériel et méthodes : Les cellules humaines NK-92 ont été stimulées par de l'IL-15 afin d'étudier par immunofluorescence et immunoprécipitation, d'une part la localisation intracellulaire de TF-X et d'autre part l'interaction éventuelle de TF-X avec T-bet, un facteur de transcription majeur dans le contrôle du développement des cellules NK. Le nombre de cellules NK ainsi que l'expression des récepteurs de surface spécifiques ont été mesurés par cytométrie en flux à partir de cellules issues de foies, poumons, rates et moelles osseuses de souris TFX^{-/-} et normales.

Résultats : A l'état basal, TF-X est localisé dans le cytoplasme des cellules NK-92 et migre dans le noyau après exposition des cellules à l'IL-15. De plus, nos expériences de co-immunoprécipitation montrent que TF-X interagit avec T-bet dans le noyau des cellules NK activées.

Les souris TF-X^{-/-} présentent une diminution significative des cellules NK dans les différents organes étudiés par rapport aux souris normales. De plus, les récepteurs NK1.1, NKG2A, NKG2D et Ly49a sont sous-exprimés sur les cellules NK restantes dans les souris TF-X^{-/-} comparés aux cellules NK des souris normales.

Conclusion : Nos résultats montrent pour la première fois que le co-facteur de transcription TF-X est exprimé et fonctionnel dans les cellules NK et qu'il interagit avec le facteur de transcription T-bet. De plus, la déficience en TF-X *in vivo* entraîne un défaut du nombre de cellules NK et des récepteurs exprimés à leur surface. Ces résultats suggèrent un rôle clé de TF-X dans le développement et les fonctions des cellules NK.

CardioThoracique

CONDUCTION OF ELECTRICAL ACTIVITY BETWEEN THE ATRIA AND THE PULMONARY VEINS OF THE RAT.

Findlay I, Bredeloux P, Hocini M*, Bernus O*, Maupoil V.

Groupe Physiologie de Cellules Cardiaque et Vasculaire, CNRS FRE3511, Institut de Physiologie et Biologie Cellulaire, Universités de Tours et Poitiers.

** LYRIC, Inserm U1045, Université Bordeaux Segalen.*

Introduction. The role of adrenergic stimulation on pulmonary veins (PVs) ectopy and atrial fibrillation initiation remain unclear. In the rat, left atrium (LA) and PVs cardiomyocytes have different reactions to adrenergic stimulation with a particular role for α -adrenergic receptor activation. We examine the effect of noradrenalin and the selective α -adrenergic agonist, cirazoline, on the conduction of electrical activity between the LA and the PVs of the rat.

Methods. An isolated right and left atria-PVs preparation from adult male Wistar rats was superfused with a Krebs-Henseleit solution at 37°C. Cartography of conduction within the LA and along the PVs was recorded with a linear array of extracellular electrodes and the MC-Rack system. Dual intracellular microelectrode recording used a WPI Duo 773 electrometer amplifier.

Results. Under basal conditions with a sinus rate of ~ 180 beats/min, the conduction of electrical activity was faster along the PVs (0.35 m/sec) than in LA (0.28 m/sec). Noradrenalin (10^{-8} M- 10^{-6} M) increased conduction velocity only in the PVs (0.48 m/sec).

Cirazoline (10^{-7} M) provoked a progressive loss of conduction in the PVs from the periphery (5min) to the base of the vein (10min) whereas conduction was maintained in LA. The α -adrenergic antagonist prazosin ($5 \cdot 10^{-6}$ M) led to the recovery of conduction along the PVs. This loss of electrical activity resulted from the depolarization of the diastolic membrane potential in the PV whereas full overshooting action potentials were still recorded in LA.

Conclusion. Selective activation of α -adrenergic receptors results in the functional isolation of the PVs in the rat.

THE NATURAL HYPOTENSIVE AGENT DODONEINE AND ITS ANALOGUES INHIBIT L-TYPE Ca^{2+} CURRENT IN THE CARDIOVASCULAR SYSTEM

Carre G.¹, Carreyre H.², Thibaudeau S.², Ouedraogo M.³, Becq F.¹, Bois P.¹, Vandebrouck C.¹, Bescond J.¹

¹IPBC, Université de Poitiers, FRE 3511 ; ²IC2MP, Université de Poitiers, CNRS/UMR 6514 and ³IRSS, Université de Ouagadougou, Burkina Faso.

Background and objectives: *Agelanthus dodoneifolius* is one of the medicinal plants used in African pharmacopeia and traditional medicine for the treatment of cardiovascular diseases. A chemical analysis has identified one of the active principles: Dodoneine (Ddn). It is a new dihydropyranone which exerts hypotensive and vasorelaxant effects on rat. The aims of this study were (i) to investigate the impact of Ddn on isolated perfused rat heart, then (ii) to determine the cellular target on isolated cardiac ventricular myocytes, and finally (iii) to investigate the effect of Ddn and its new synthesized derivatives on rat aorta and isolated cells.

Experimental approach: *Ex-vivo*, isolated rat hearts were perfused in the Langendorff non-recirculating mode *via* retrograde perfusion of the aorta; the effect of Ddn was tested on intraventricular pressure of contraction and heart rate and vascular response to the dodoneine and its derivatives were measured on aortic rings in an organ bath apparatus. *In-vitro*, the effects of Ddn were characterized in freshly dissociated cardiac ventricular myocytes and in aortic smooth muscle cell line (A7r5) using the whole-cell patch-clamp configuration.

Key results: *Ex-vivo*, Ddn produce a dose-dependent negative inotropic effect with an IC_{50} value of 10 μM without changed heart rate. For exemple, 100 μM Ddn decreased left ventricular developed pressure of about 40%. Also, Ddn and its derivatives induce the vasorelaxation of precontracted aortic rings with an IC_{50} comprised between 15 ± 1 and 68 ± 6 μM . In isolated cardiomyocytes and in A7r5, Ddn reduced $I_{Ca,L}$ density with an IC_{50} value estimated at 1 μM . Ddn did not change current voltage relation but it shifted the inactivation curve toward negative potentials and modified the half inactivation potentials.

Conclusions: Our study demonstrates that the hypotensive property of Ddn could also be associated with a negative inotropic effect. We show for the first time that Ddn inhibits L-type calcium channels, a potent cellular target involved in its cardiac and vascular effects. Our results also suggest that analogue 4 is the most selective and effective derivatives on $I_{Ca,L}$. Further studies are needed in order to realize structure-function relationship.

MYOTONIC DYSTROPHY TYPE 1 MIMICS AND EXACERBATES BRUGADA PHENOTYPE INDUCED BY NAV1.5 SODIUM CHANNEL LOSS OF FUNCTION MUTATION

Thomas Pambrun, MD,* Aurelie Mercier, PhD, ‡ Aurelien Chatelier, PhD, ‡ Sylvie Patri, PhD, ‡ Mohamed Chahine, PhD,§ Bruno Degand, MD,* Patrick Bois, PhD, ‡

Département de Cardiologie, CHU de Poitiers, France. ‡ Institut de Physiologie et de Biologie Cellulaire, CNRS/Université de Poitiers, France. § Centre de Recherche Université Laval Robert-Giffard, Quebec

Background

Myotonic dystrophy type 1 (DM1) is the most common muscular dystrophy. This spliceopathy, due to CTG expansion on the DMPK gene, can cause sick sinus syndrome, progressive cardiac conduction disorder and an increased incidence of sudden death. These cardiac manifestations are similar to those observed in loss-of-function SCN5A mutations, which are also responsible for the Brugada syndrome (BrS). We investigated the link between DM1 and BrS, by reporting DM1 effects on the clinical expression of a loss-of-function SCN5A mutation causing BrS.

Methods and Results

A proband was referred for sudden cardiac death. Genetic analysis detected a combining of CTG expansion of the DMPK gene from the father's side and a SCN5A mutation (S910L) from the mother's side. Whole-cell patch clamp experiments associated to cell surface biotinylation revealed that S910L is a trafficking defective mutant inducing a dominant negative effect when transfected with wild-type Na_v1.5. This loss-of-function SCN5A mutation caused a Brugada phenotype during the mother's ajmaline test. Surprisingly in the father, a DM1 patient without SCN5A mutation, this test also unmasked Brugada phenotype. Furthermore, association of both genetic anomalies in the proband exacerbates the response to ajmaline test with a massive conduction defect.

Conclusions

Our study is the first to describe the deleterious effect of DM1 on the clinical expression of a loss-of-function SCN5A mutation and to show a provoked BrS phenotype in a DM1 patient. The modification of the electrocardiographic pattern by ajmaline supports the hypothesis of a direct link between DM1 and Na_v1.5 loss-of-function.

THE CHEMICAL AGENT BTB06584 TARGETS THE REVERSION OF THE MITOCHONDRIAL F₁F₀-ATP SYNTHASE MIMICKING IF1

Ivanes F.^{a,1,2}, Allan E.^{a,c}, Faccenda D.^c, Ahmed A.A.^{a,c}, Russell C.^c, Duchen M.R.^a and Campanella M.^{b,c,d}

^a Department of Cell and Developmental Biology

^b Consortium for Mitochondrial Research, University College London, Gower street WC1 BT, London UK

^c Department of Comparative Biomedical Sciences, The Royal Veterinary College, Royal College Street, NW1 0TU, London, UK

^d European Brain research Institute-Rita Levi-Montalcini Foundation, 00143, Rome, Italy

Background and Purpose. Ischemia compromises mitochondrial respiration. Consequently, the mitochondrial F₁F₀-ATP synthase reverses and acts as F₁F₀-ATPase, hydrolysing ATP, so maintaining the mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$), but accelerates ATP depletion and cell death. The compound BMS199264 inhibits this activity without affecting ATP synthesis and is cardioprotective. We sought to identify similar small molecule to selectively inhibit the ATP hydrolase activity, preserve ATP, and delay ischemic type of cell death.

Experimental approach. Adopting a protocol of chemoinformatic screening, we found the molecule BTB06584. Using fluorescence microscopy, we studied its effects on $\Delta\Psi_m$ and ATP reserves in HL-1 and HeLa cells following inhibition of respiration. We determined the BTB06584 effect on oxygen (O₂) consumption, performed ischemia/reperfusion assays to establish a protective effect, and investigated its interactivity with the endogenous inhibitor of the F₁F₀-ATP synthase, IF1.

Key results. BTB06584 inhibited the reversal of the F₁F₀-ATP synthase with no effect on $\Delta\Psi_m$ or O₂ consumption. It showed significant ATP preservation following inhibition of respiration and protection from ischemic cell death. IF1 overexpression increased BTB06584 efficiency, whilst silencing of the protein reduced it. In addition, BTB06584 rescued the defective haemoglobin synthase in *pinotage* (*pnt*) model of zebrafish caused by the endogenous deletion of the *Atpif1a* gene.

Conclusions and implications. Based on both in vitro and in vivo experimental evidence, BTB06584 may represent a potentially valuable mitochondrial drug to: i) limit ischemia-induced injury caused by reversion of the mitochondrial F₁F₀-ATP synthase and ii) restore haemoglobin production in *pnt* compensating for the IF1 deletion.

CardioThoraciquePneumo

Modélisation préclinique de lésions d'ischémie-reperfusion pulmonaires par circulation extra-corporelle chez le porc

Tomasi J^{1,2}, Giraud S², Danion J^{2,3}, Hauet T², Corbi P¹, Jayle C^{1,2}.

¹*Service de chirurgie cardio-thoracique, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers*

²*Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1082, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers*

³*Service de chirurgie viscérale et digestive, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers.*

Introduction : La circulation extra corporelle (CEC) est responsable de lésions pulmonaires pouvant à l'extrême être responsables de détresse respiratoire aiguë. Il existe deux hypothèses principales interdépendantes qui sont : l'inflammation et l'ischémie-reperfusion. La CEC permet d'appréhender la problématique de l'ischémie chaude pulmonaire, véritable enjeu en transplantation pulmonaire, en particulier dans le cadre de programme de donneurs à cœur arrêté. Le poumon est vascularisé par 2 réseaux artériels : le réseau artériel pulmonaire qui assure 95 % des besoins et le réseau artériel bronchique qui assume les 5 % restants. Nous avons cherché à vérifier si la circulation extra corporelle peut être un modèle d'ischémie-reperfusion pulmonaire chez le porc en étudiant l'inflammation et les lésions d'ischémie-reperfusion aux temps précoces.

Matériel et Méthodes : Nous avons comparé 3 groupes de porcs Large White (n=6 par groupe) comprenant un groupe d'animaux subissant une CEC établie entre l'oreillette droite et l'aorte ascendante (groupe CEC), un groupe contrôle Sham ne subissant pas de CEC (groupe témoin) et un groupe en ischémie totale après arrêt circulatoire (groupe ICP). Nous avons évalué une ischémie de 120 minutes et une reperfusion de 120 minutes. Nous avons étudié des critères hémodynamiques per-opératoires toutes les 30 minutes. Des échantillons sanguins et tissulaires par biopsie pulmonaire chirurgicale ont été réalisés toutes les 30 minutes permettant une analyse sérique, protéomique et transcriptomique.

Résultats : Nous avons observé que la pression artérielle pulmonaire était effondrée durant la circulation extra-corporelle et provoque une ischémie pulmonaire. Dans notre étude nous retrouvons une augmentation plus importante de l'IL-10 au cours du temps dans le groupe témoin par rapport au groupe CEC, par ailleurs les autres marqueurs de l'inflammation (TNF α , IL-6) sont similaires entre les 2 groupes. Dans notre évaluation de l'ischémie-reperfusion, nous avons cherché à évaluer la voie d'HIF-1 α . En western blot sur le tissu pulmonaire on retrouve une augmentation significative de VEGF dans le groupe CEC à 120 minutes de reperfusion (R120) et dans le groupe ICP à 120 minutes d'ischémie (T120). Par ailleurs les autres gènes cibles (EPO, HO-1 et GLUT-1) sont similaires entre les 3 groupes. Dans notre étude nous retrouvons en ELISA une expression sérique à la limite de la significativité (p=0,06) pour le NO issu de la voie de NO Synthase (NOS) sans que l'on puisse déterminer lequel d'iNOS ou d'eNOS est prépondérant.

Conclusion : Notre modèle permet d'obtenir une ischémie chaude pulmonaire. Les résultats obtenus au temps T120 et R120 doivent être complétés par des travaux aux temps intermédiaires afin d'analyser la dynamique d'expression transcriptomique de la voie d'HIF-1 α . L'IL-10 pourrait jouer un rôle protecteur dans la genèse de lésions pulmonaires au cours de circulation extra-corporelle en contre balançant l'effet des cytokines proinflammatoires également exprimées. Le modèle a été mis en place récemment dans notre structure et permettra de répondre à des problématiques cliniques d'ischémie chaude pulmonaire.

IMPACT DE LA BRONCHO-PNEUMOPATHIE CHRONIQUE OBSTRUCTIVE ET DU TABAGISME SUR LE *TISSUE FACTOR PATHWAY INHIBITOR-2*, INHIBITEUR DE PROTEASES EXPRIME PAR LES CELLULES EPITHELIALES ET TUMORALES

Barascu A.¹, Geugnon F.¹, Guyétant S.^{1,2}, Petit A.¹, Guillon A.^{1,2}, Jouan J.¹, Thibault V.¹, Courty Y.¹, Iochmann S.^{1,3}, Reverdiau P.^{1,3}

1. Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Inserm UMR1100/EA6305, Université François Rabelais, Tours. 2. CHRU, Tours. 3. IUT, Université François Rabelais, Tours.

Le tabagisme est à l'origine de nombreuses pathologies pulmonaires comme le cancer et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO). Cette dernière touche actuellement 3,5 millions de personnes en France et est en constante progression. La BPCO se caractérise par une obstruction des voies respiratoires et une inflammation chronique qui se traduisent par une toux accompagnée d'expectoration. Au niveau tissulaire, le remodelage bronchique observé dans la BPCO est dû à un déséquilibre de la balance protéases/inhibiteurs de protéases en faveur des protéases. Certaines d'entre elles comme la plasmine sont inhibées par le TFPI-2 (*Tissue Factor Pathway Inhibitor -2*) lequel peut ainsi réguler la dégradation de la matrice extracellulaire. Son rôle est maintenant bien connu dans le cancer puisqu'il est considéré comme un gène suppresseur de tumeur. En revanche son rôle dans la BPCO n'est pas encore connu.

L'expression du TFPI-2, recherchée à l'échelon transcriptionnelle (RT-PCR) et protéique (Immunoempreinte), a été étudiée à partir de différents modèles de BPCO :

- Des tissus pulmonaires prélevés de patients atteints de cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules et présentant ou non une BPCO.
- Des modèles 3D d'épithélium respiratoire humain reconstitué *in vitro* à partir de cellules épithéliales isolées de bronches normales, de fumeur ou de patient atteint de BPCO.
- Des prélèvements pulmonaires de souris exposées à la fumée de cigarettes

Nous avons observé une augmentation de l'expression du TFPI-2 dans les prélèvements pulmonaires de la zone non tumorale des patients atteints de BPCO de niveau GOLD I, II et III par rapport à celle observée chez des patients sans BPCO. Dans la zone tumorale, l'expression du TFPI-2 est diminuée chez les patients atteints de carcinomes épidermoïdes par rapport à la zone non-tumorale adjacente. L'expression des transcrits du TFPI-2 est également diminuée dans les cellules épithéliales isolées de bronches de fumeurs comparé à celles des bronches normales. En revanche l'expression est augmentée dans les cellules épithéliales issues de bronches de patients atteints de BPCO. Nous avons également observé une diminution de l'expression des transcrits du TFPI-2 des les prélèvements pulmonaires de souris exposées à la fumée de cigarettes pendant 8 et 16 semaines par rapport aux souris contrôles.

En conclusion, l'expression diminuée du TFPI-2 dans le cancer broncho-pulmonaire, particulièrement dans les carcinomes épidermoïdes, est en accord avec nos travaux précédents. En effet, ce gène suppresseur de tumeur est fréquemment inactivé dans les cellules tumorales. A l'opposé, les processus d'inflammation et de remodelage observés lors de BPCO s'accompagnent d'une augmentation de l'expression du TFPI-2. Les mécanismes modulant l'expression de cet inhibiteur devront être étudiés dans cette pathologie.

ETUDE IN VITRO ET IN VIVO DES PERFORMANCES DE LA CHAMBRE D'INHALATION TIPSHALER

Nabile Boukhattala ^{1,2}, Thierry Porée ², Patrice Diot ¹, Laurent Vecellio ^{1,3}

¹*Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires INSERM U1100/EA6305, Université François Rabelais de Tours, Faculté de Médecine, F-37032 TOURS, France.*

²*Laboratoire Protec'Som, F-50700 VALOGNES, France.*

³*DTF-Aerodrug, Faculté de Médecine, F-37032 TOURS, France*

L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances de la chambre d'inhalation Tipshaler in vitro et in vivo.

Dans cette étude, la chambre d'inhalation Tipshaler (Protec'som, France) a été évaluée. Le salbutamol (100 µg/dose) et la fluticasone (50 µg/dose) étaient délivrés avec un aérosol-doseur (GlaxoSmithKline, France) et Tipshaler. La méthode validée par la pharmacopée européenne a été utilisée à un débit constant (30 L/min). La masse de médicament déposée a été mesurée en utilisant un impacteur en cascade NGI (Copley Scientific, Nottingham, UK). Les concentrations de salbutamol et de fluticasone étaient évaluées par un spectrophotomètre à 240 nm et 236 nm respectivement. Enfin, l'imagerie par scintigraphie a permis d'évaluer les performances de Tipshaler avec de la fluticasone marquée au technétium chez 3 babouins à l'aide d'une gamma-caméra (E-cam, Siemens).

Dans le modèle de trachée in vitro, la masse de salbutamol était de $5,5 \pm 2$ µg avec Tipshaler. De plus, la déposition de fines particules (inférieur à 5µm) de salbutamol était de 51 ± 2 µg avec Tipshaler. En ce qui concerne la fluticasone, dans le modèle de trachée invitro, la masse de fluticasone était de $0,9 \pm 0,3$ µg avec Tipshaler. La dose de fines particules était de 25 ± 1 µg. Cependant, l'imagerie par scintigraphie a permis de montrer que la dose délivrée de ^{99m}Tc-fluticasone était de 0.1% par rapport à la charge, soit 0.05µg.

En conclusion, les résultats en termes de performances de la chambre d'inhalation Tipshaler sont différents avec l'utilisation de techniques in vitro et in vivo.

ETUDE DES PERFORMANCES D'UN NOUVEAU SPACER EN VENTILATION MECANIQUE

Nabile Boukhattala ^{1,2}, Thierry Porée ², Patrice Diot ¹, Laurent Vecellio ^{1,3}

¹*Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires INSERM U1100/EA6305, Université François Rabelais de Tours, Faculté de Médecine, F-37032 TOURS, France.*

²*Laboratoire Protec'Som, F-50700 VALOGNES, France.*

³*DTF-Aerodrug, Faculté de Médecine, F-37032 TOURS, France*

L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances d'un nouveau spacer appelé Combihaler (Protec'Som, France) afin d'améliorer la délivrance de médicaments soit par nébuliseur ou par aérosol-doseur.

Pour évaluer la chambre Combihaler dans des conditions cliniques, le circuit comprenait un respirateur (volume contrôlé, $V_c = 450\text{mL}$, $f = 15/\text{min}$, $\text{PEEP} = 6$, $P_{\text{max}} = 19$, $T_i / T_{\text{tot}} = 40/60$) et un modèle de poumon adulte Dual TTL 5600i (Michigan Instruments). Les paramètres de ventilation ont été mesurés avec et sans Combihaler. Un filtre a été placé après la sonde d'intubation pour mesurer l'administration d'aérosols médicamenteux. L'amikacine (1g/8ml) a été nébulisée avec un Aeronéb Solo (Aerogen, Irlande). Le salbutamol a été délivré avec un aérosol-doseur (Ventoline, 100 $\mu\text{g}/\text{dose}$). Les médicaments déposés sur filtre ont été analysés. L'amikacine a été mesurée avec un traceur électrochimique et le salbutamol a été mesuré par spectrophotométrie.

L'utilisation de Combihaler n'a pas modifié les paramètres de ventilation ($p = 0,82$). La masse de l'amikacine déposée sur le filtre était deux fois plus élevée avec la chambre Combihaler ($394,4 \pm 8,9$ mg vs $142,4 \pm 4,9$ mg). La masse de salbutamol déposée sur le filtre a été augmentée avec Combihaler ($62,7 \pm 0,7$ mg vs $18,8 \pm 1,9$ mg).

En conclusion, la chambre Combihaler n'a pas modifié les paramètres de ventilation et a permis d'augmenter la délivrance de médicaments avec un nébuliseur à membrane et un aérosol-doseur.

MISE AU POINT DE L'ADMINISTRATION D'UN AEROSOL POUR LE RAT INTUBE ET VENTILE

Cabrera M¹, Willoquet G², Maître X², Majoral C³, Caillibotte G³, Diot P¹, Vecellio L^{1,4}

¹CEPR, Tours, France. ²IR4M, Orsay, France. ³Air Liquide, Jouy-en-Josas, France. ⁴La Diffusion Technique Française, Saint Etienne, France

Introduction :

Le mélange hélium-oxygène pourrait être utilisé pour traiter les maladies respiratoires obstructives afin de faciliter le travail respiratoire et améliorer l'administration de médicaments par inhalation.

Ce projet, financé par l'ANR et porté par la société Air Liquide s'intéresse à l'impact de l'inhalation de l'hélium-oxygène sur le dépôt d'aérosol dans les voies respiratoires afin de démontrer les bénéfices du mélange comparativement à l'air. L'objectif de cette première étude était la mise au point d'un système d'administration de gaz (air et mélange hélium-oxygène) et d'aérosol en ventilation mécanique invasive chez le rat afin de permettre l'imagerie radio isotopique du dépôt d'aérosol dans les poumons du rat.

Matériels et Méthodes :

Le montage expérimental était composé d'un ventilateur mécanique SAGAS II (Small Animal Gas Administration, IR4M, Orsay) contrôlant les paramètres respiratoires spécifiques (Volume : 3.6 mL ; temps d'inspiration : 300 ms ; temps d'expiration : 500 ms) du rat et fonctionnant avec de l'air ou le mélange hélium-oxygène. Le générateur d'aérosol était placé sur le circuit inspiratoire et une sonde endotrachéale était utilisée pour intuber l'animal d'un poids de 400 g.

La mise au point du système de ventilation et de génération de l'aérosol devait être réalisée en tenant compte de la non génération de grosses gouttes en sortie de sonde d'intubation (réentraînement des gouttes impactées). Par ailleurs, le système devait être suffisamment performant afin de permettre un rendement suffisant pour réaliser l'imagerie de dépôt pulmonaire et assurer l'administration de l'aérosol en moins de 10min.

Le système a été optimisé en fonction des paramètres suivants : le volume à nébuliser, le dispositif de nébulisation, la position de celui-ci sur le circuit inspiratoire, les volumes des connectiques, la production de l'aérosol synchronisé à l'inspiration ou en continu et le type de sonde d'intubation.

Le montage expérimental a été caractérisé *in vitro* en mesurant la quantité d'aérosol et la taille des particules en sortie de sonde d'intubation à l'aide d'un impacteur en cascade à basse pression DLPI (Dekati, Finlande). L'administration de l'aérosol vers l'animal sera effectuée par intubation intratrachéale avec une sonde d'alimentation pour rongeur de 2.33 mm de diamètre et 70 mm de longueur (Ecimed, France).

Résultats :

Le montage expérimental sélectionné comprenait un nébuliseur Aeroneb Pro (Aerogen, Irlande) d'un débit intrinsèque de 0.19 mL/min ; un volume de nébulisation de 0.1 mL. La production d'aérosol était synchronisée à la phase inspiratoire.

L'aérosol en sortie de sonde d'intubation était caractérisé par un MMAD de $1.1 \pm 0.1 \mu\text{m}$, un rendement de $4.5 \pm 0.7 \%$ et une durée de nébulisation de 10.2 ± 0.6 minutes (n=3).

Conclusion :

Les essais *in vitro* nous ont permis de conclure qu'il était possible d'administrer un aérosol d'une taille de $1.1 \mu\text{m}$ chez le rat intubé et ventilé. En tenant compte des doses radioactives à utiliser, des limites de détection de la gamma camera et de la durée d'administration de l'aérosol, les mesures de rendement d'aérosol produit et de débits imposés permettent de conclure sur la capacité de notre système de génération d'aérosol à réaliser une imagerie par gamma caméra.

Caractérisation de la MMP-12 humaine recombinante et comparaison avec l'homologue murin

Gravier R*¹ et Lamort A.S*¹, Laffitte A¹, Juliano L², Zani M.L¹, Moreau T¹

* *Co premiers auteurs*

1 – Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, UMR INSERM U1100/EA 6305.

Equipe 2 UMR U1100 Mécanismes Protéolytiques dans l'Inflammation, Université de TOURS

2- Escola Paulista de Medicina, Université de SAO PAULO (Brésil)

Introduction : La broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une maladie pulmonaire caractérisée par une inflammation chronique des voies aériennes associée à une dyspnée et par un emphysème lié à la destruction progressive des parois alvéolaires. De nombreuses protéases, dont les MMPs (Matrix Metallo Proteases) et plus particulièrement la MMP-12 de macrophage, sont impliquées dans la physiopathologie de la BPCO. En effet, ces protéases dégradent de manière excessive les protéines constitutives du tissu pulmonaire (élastine, collagène,...) et contribuent à perpétuer l'inflammation pulmonaire, favorable à la survenue d'épisodes infectieux bactériens ou viraux.

Beaucoup d'études soulignent l'importance de la MMP-12 dans le développement de la BPCO. Par exemple, les souris KO pour la MMP-12 sont résistantes à l'emphysème induit par la fumée de cigarette.

Dans cadre d'une approche visant à cibler la MMP-12 par des anticorps neutralisants, nous avons exprimé cette protéase en système bactérien et caractérisé ses propriétés enzymatiques.

Méthodes : Le domaine catalytique de la MMP-12 humaine fusionné à une étiquette Histidine a été exprimé en système bactérien (*E. coli*, souche BL21(DE3)). La protéase a été purifiée par chromatographie d'affinité sur une matrice comportant du nickel immobilisé à partir des corps d'inclusion. Un protocole de dénaturation-renaturation basé sur l'utilisation de divers agents dénaturants a permis d'obtenir une protéase fonctionnelle. La MMP-12 de souris a été exprimée dans des conditions similaires. Nous avons par ailleurs développé une série de substrats peptidiques fluorogéniques dans le but d'étudier la spécificité enzymatique de la MMP-12 humaine et de la comparer à celle de l'homologue murin.

Résultats : La MMP-12 humaine comme la MMP-12 de souris sont toutes les deux capables de cliver l'alpha-1-PI, un substrat naturel de cette enzyme. Cependant le profil de clivage est légèrement différent suggérant des différences de spécificité entre les deux protéases. L'analyse d'un modèle de structure 3D de la MMP-12 de souris révèle des différences dans l'environnement du site actif par rapport à la MMP-12 humaine, pouvant être à l'origine de cette différence de spécificité enzymatique. D'autre part la détermination des paramètres cinétiques pour l'hydrolyse des substrats synthétiques développés pour la MMP-12 humaine montre que ceux-ci sont plus ou moins bien clivés par cette protéase.

Conclusion : Les résultats obtenus montrent de possibles différences de spécificité de substrat de la MMP-12 humaine par rapport à son homologue murin. Des tests sont en cours pour déterminer si les substrats synthétiques développés pour la MMP-12 humaine sont clivés par la MMP-12 murine avec la même efficacité. Ces résultats permettront d'évaluer la pertinence du modèle murin d'emphysème pulmonaire pour tester l'activité inhibitrice d'anticorps neutralisants anti-MMP-12 *in vivo*.

Preliminary studies for the establishment of a model of CFTR-deficient piglets

A Guillon^{1,7}, I. Caballero, C Barc², C Chevalyre³, M Riou², J Pezant², M Olivier³, J Coigné⁴, E Venturi⁵, H Lardy⁶, T Villemagne⁶, J Moënné-Loccoz^{7,9}, D Brea¹, N Winter³, S Mélo³, F Gauthier¹, B Schwartz², A Bähr⁸, E Wolf⁸, F Meurens³, S Attucci¹, M Berri³, R Ramphal¹, D Buzoni-Gatel³, M Si-Tahar¹, P Sarradin².

1- INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, UMR 1100/EA6305, Tours, France ; 2- INRA, PFIE, Nouzilly, France ; 3- INRA, ISP, Nouzilly, France ; 4- INRA, CIRE, Nouzilly, France ; 5- INRA, UEPAO, Nouzilly, France ; 6- CHU Clocheville, service de Chirurgie Pédiatrique, Tours, France ; 7- CHU Bretonneau, service de Réanimation Polyvalente, Tours, France ; 8- Gene Center, LMU, Munich, Germany ; 9- CHU Bretonneau, service d'Anesthésie-Réanimation, Tours, France

Introduction: Cystic fibrosis (CF) is a life-shortening disease caused by mutations in the Cystic Fibrosis Trans membrane conductance Regulator (CFTR) gene. The lack of an animal model with lung abnormalities similar to those typically found in human CF has hindered studies of pathogenesis, treatment and prevention of infection in this disease. We aim to establish in Tours a CF pig model with a mutant CFTR that was engineered by our collaborator E. Wolf (Gene Center, LMU, Munich, Germany).

Methods: Pigs with mutant CFTR are bred in Tours, France. One difficulty with this CF pig model is a 100% prevalence of meconium ileus leading to death in the first days of birth. We therefore organized a multidisciplinary team at Tours (Inserm-INRA-CHU of Tours) and produced animals by mating CFTR^{+/-} male and female pigs. Newborn CF piglets were anesthetized for surgical procedure after the diagnosis of CFTR^{-/-} was confirmed by PCR. Prior to surgery, an attempt to diagnose the intestinal obstruction by abdominal ultrasonography and computerized tomography (CT) scan was made.

Results: Eleven CFTR^{-/-} piglets (1.2 ± 0.2 kg) were born from Nov 2012 to Apr 2013. Nine of them were anesthetized for exploratory laparotomy; the two others were stillborn or euthanized (moribund). The mean birth-to-surgery time was 12.9 ± 2.8 h and included the time for PCR analysis. All CFTR^{-/-} piglets developed meconium ileus, with distended intestine proximal to the obstruction and had poorly developed colon (microcolon). Four piglets had non-viable lesions (intestinal perforation). Ileostomies (intestinal by-pass) were performed for the setting-up of the anesthesia and surgical procedures, but the piglets were eventually euthanized. Finally, five piglets were waking up with an ileostomy. In addition to post-operative care, maternal-milk bottle-feeding has been started six hours after the surgery, with feces passing through the ileostomy. They survived one to three days. We failed to identify the meconium ileus by ultrasonography, but succeed by CT scan. A wide variety of tissues/fluids were collected from these animals to begin a tissue/secretion samples bank for future studies.

Conclusions: The cause of death of the CFTR KO piglets is not currently known, and we are still improving the post-operative cares. As the incidence of meconium ileus is of 100% in CFTR^{-/-} animals, the diagnosis could be done faster by CT scan (and confirmed later by the PCR). By reducing the birth-to-surgery time, we hope to improve the survival. The tissues that we have collected provide an original opportunity to investigate initiating mechanisms of disease, with CF and non-CF comparisons, but without confounders.

En-Génétique

ETUDE PHENOTYPIQUE DU SYNDROME DE SIMPSON-GOLABI-BEHMEL LIE A DES MUTATIONS DU GENE *GPC3*, A PARTIR DE 42 CAS.

E. Cottereau¹, I. Mortemousque¹, M-P. Moizard^{1,2}, L. Bürklen³, D. Lacombe⁴, B. Gilbert-Dussardier⁵, S. Sigaudy⁶, O. Boute⁷, A. David⁸, L. Faivre-Olivier⁹, J. Amiel¹⁰, R. Robertson¹¹, F. Viana Ramos¹², E. Bieth¹³, S. Odent¹⁴, B. Demeer¹⁵, M. Mathieu¹⁵, D. Gaillard¹⁶, L. Van Maldergem¹⁷, G. Baujat¹⁰, I. Maystadt¹⁸, D. Héron¹⁹, A. Verloes²⁰, N. Philip⁶, V. Cormier-Daire¹⁰, M-F. Frousté²¹, L. Pinson²², P. Blanchet²², P. Sarda²², M. Willems²², I. Ratbi²³, J. van den Ende²⁴, M. Lackmy-Port Lis²⁵, A. Goldenberg²⁶, D. Bonneau²⁷, S. Rossignol²⁸, A. Toutain^{1,2,*}

1. Service de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire, Tours, France 2. UMR INSERM U930, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France 3. Service de Génétique et Embryologie médicales, CHU Armand Trousseau, Paris, France 4. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Bordeaux, France 5. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Poitiers, France 6. Département de Génétique médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Marseille, France 7. Service de Génétique clinique Guy Fontaine, Centre Hospitalo-Universitaire de Lille, France 8. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Nantes, France 9. Centre de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire de Dijon, France 10. Département de Génétique, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France 11. Ultrasound Department, Sydney, Australia 12. Hospital Pediatrico, Coimbra, Portugal 13. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Toulouse, France 14. Service de Génétique clinique, Centre Hospitalo-Universitaire de Rennes, France 15. Département de Pédiatrie, Unité de Génétique clinique, CHU d'Amiens, France 16. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Reims, France 17. Service de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire de Besançon, France 18. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgium 19. Département de Génétique et Cytogénétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France 20. Département de Génétique, UF de Génétique Clinique, CHU Robert Debré, Paris, France 21. Service Maternité, Hôpital Bagatelle, Talence, France 22. Service de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire de Montpellier, France 23. Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco 24. Centrum Medische Genetica, Universiteit, Antwerpen, Belgium 25. Unité de Génétique clinique, Centre Hospitalo-Universitaire de Pointre à Pitre, France 26. Unité de Génétique clinique, Centre Hospitalo-Universitaire de Rouen, France 27. Service de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, France 28. Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, CHU Armand Trousseau, Paris, France.

Introduction :

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SSGB) est un syndrome lié à l'X, caractérisé par une avance de croissance pré- et postnatale, une dysmorphie faciale, une macrocéphalie, des malformations congénitales, une organomégalie, un risque accru de tumeurs et parfois un déficit intellectuel. En 1996, des mutations causales ont été identifiées dans le gène *GPC3* en Xq26. Depuis les premières descriptions, d'autres cas ont été rapportés avec une grande variété de symptômes et de sévérité, certains significativement différents avec un pronostic plus sévère et/ou plus de malformations congénitales. Toutefois, ces descriptions furent faites avant que les études moléculaires ne soient disponibles. Par ailleurs, le taux de détection de mutation de *GPC3* chez les patients avec un diagnostic de SSGB est seulement de 37% à 70%. Ceci suggère que certains patients pourraient avoir une autre affection. Enfin, il faut signaler que dans la famille décrite par Golabi, une duplication de *GPC4*, a récemment été identifiée, suggérant une hétérogénéité génétique du SSGB.

Matériel et méthodes :

Pour mieux définir le spectre phénotypique du SSGB lié à *GPC3*, nous avons analysé les signes cliniques de tous les patients de sexe masculin chez qui une mutation de *GPC3* a été identifiée par les 2 laboratoires français testant ce gène (42 patients). Un questionnaire, établi à partir des données de la littérature, recueillant les données cliniques prénatales et postnatales, a été envoyé aux cliniciens.

Résultats :

Les données prénatales indiquent une macrosomie dans 95% des cas où des données sont disponibles, un hydramnios dans 73% des cas, et une viscéromégalie dans plus de la moitié des cas. Des malformations sont parfois présentes : hernie diaphragmatique (8/33), malformation cardiaque (3/30) et des reins hyperéchogènes (5/31). En postnatal, 53% des patients ont une taille $\geq +2DS$, 48 % des cas ont un PC $\geq +2DS$ et 17% ont un IMC $\geq 97^{\text{ème}}$ p. L'hypotonie (16/22) et des troubles d'élocution (17/22) sont fréquents alors qu'une déficience intellectuelle n'est présente que dans 47% des cas. Une dysmorphie faciale caractéristique est presque toujours rapportée et 78% des cas ont au moins une anomalie des mains. Les principales malformations consistent en une hernie diaphragmatique (12/36), des malformations cardiaques (13/36), une fente labiale et/ou palatine (10/38), des anomalies génito-urinaires (28/38), des malformations du squelette (18/35) et des mamelons surnuméraires sont retrouvés chez 53% des cas. Une viscéromégalie est souvent rapportée, macroglossie (28/37), néphromégalie (17/30), ou hépatomégalie (15/33).

Conclusion :

Notre étude montre que les mutations de *GPC3* donnent un phénotype reconnaissable. La connaissance de ce phénotype devrait aider le clinicien à mieux cibler les demandes d'analyse moléculaire du gène *GPC3*.

Endocrinologie

NATURAL-ABUNDANCE ^{15}N -ISOTOPE RATIOS IN HAIR AS AN INDICATOR OF PROTEIN SYNTHESIS IN TYPE 2 DIABETIC NEPHROPATHY

De Luca A^{1,2,3}, Laugier S⁴, Tea I⁵, Robins RJ⁵, Saulnier PJ¹, Torremocha F⁴, Piguel X⁴, Maréchaud R^{3,4}, Hankard R^{6,7*}, Hadjadj S^{1,3,4}

1 Inserm CIC 0802, Poitiers, France,

2 Pédiatrie Multidisciplinaire, Nutrition de l'Enfant, CHU Poitiers, France,

3 Université de Poitiers, UFR médecine Pharmacie, Poitiers, France,

4 Service de Médecine Interne, Endocrinologie, Maladies Métaboliques, CHU Poitiers, France,

5 EBSI, CEISAM, LUNAM, University of Nantes–CNRS UMR6230, F-44322 Nantes, France,

6 INSERM, U 1069, Tours, F-37000, France,

7 Université François Rabelais, Tours, F-37000, France

Introduction: Nephropathy is a serious long-term complication in type 2 diabetes patients. Few data are available about protein metabolism in diabetic nephropathy. Natural-abundance ^{15}N -isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) in hair provide a non-radioactive and non-invasive biomarker of protein synthesis. We have compared $\delta^{15}\text{N}$ in hair proteins in type 2 diabetic patients to look for differences in nitrogen metabolism between groups with or without nephropathy.

Methods: Case patients were type 2 diabetic with high urinary albumin concentrations (≥ 20 mg/L or 30 mg/24 h on two of three urine collections) and/or an estimated glomerular filtration rate (eGFR) below 60 mL/min, according to the CKD-EPI formula. Control subjects were type 2 diabetic patients of the same geographical origin. A tuft of hair was cut, washed and weighed before analysis. The $\delta^{15}\text{N}$ values for hair were measured by isotope ratio mass spectrometry coupled with an elemental analyzer.

Results: Thirty-three patients in the nephropathy group and 31 in the control group were included. The mean age of the participants was 69 ± 8 years, and the mean duration of diabetes was 22 ± 8 years. Values of $\delta^{15}\text{N}$ for hair were 8.9 ± 0.7 ‰ in the nephropathy group and 9.0 ± 0.5 ‰ in the control group: there was no significant difference between the groups ($p=0.41$). Positive correlations were found between $\delta^{15}\text{N}$ values of hair with eGFR ($p<0.002$) and with urinary urea concentration ($p<0.001$), and a negative correlation with the albumin-to-creatinine ratio (<0.0001).

Conclusion: Measurement of the $\delta^{15}\text{N}$ values of hair may provide a non-invasive index of protein synthesis and eGFR in type 2 diabetes patients.

BON MARQUEUR PRONOSTIQUE DE LA SURVENUE D'ÉVÈNEMENTS CARDIO-VASCULAIRES

de Hauteclouque Astrid (1), Ragot Stéphanie (1), Slaoui Yousri (2), Sosner Philippe (3), Halimi Jean-Michel (4), Zaoui Philippe (5), Rigalleau Vincent (6), Roussel Ronan (7), Saulnier Pierre-Jean (1), Hadjadj Samy (1,4) for the SURDIAGENE Study group

1- CIC 802, Inserm, Université de Poitiers, CHU Poitiers; 2- Laboratoire de Mathématiques et Applications, Université de Poitiers; 3- CHU Poitiers, Cardiologie; 4- CHU Tours, Néphrologie-Immunologie clinique; 5- CHU Grenoble, Néphrologie; 6- CHU Bordeaux, Nutrition; 7- Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Endocrinologie, Diabétologie, Nutrition, Hôpital Bichat, Paris

Introduction: Le rôle délétère de l'atteinte rénale sur la survenue de maladies cardio-vasculaires (CV) dans le diabète de type 2 (DT2) a été montré. La trajectoire de la fonction rénale antérieure à la survenue d'un événement CV est cependant mal caractérisée. L'objectif principal était d'étudier l'association entre les trajectoires de créatinines sériques (CrS) et la survenue d'évènements CV chez les patients DT2.

Méthodes: Les patients DT2 de la cohorte prospective SURDIAGENE, sans épuration extra-rénale, avec un débit de filtration glomérulaire estimé (DFGe) $> 30 \text{ ml/min/1,73m}^2$ et au moins 3 créatinines sériques (CrS) au cours du suivi ont été inclus. L'évènement CV était le critère composite : décès CV ou survenue non fatale d'un accident vasculaire cérébral ou d'un infarctus du myocarde. Les pentes annuelles de CrS issues d'un modèle linéaire à effets mixtes représentaient les trajectoires globales et les pentes obtenues par régression linéaire simple, les trajectoires individuelles.

Résultats: Au total, 158 évènements CV et 19.808 CrS sur une durée médiane de suivi de 5,6 ans ont été considérés chez 1.070 participants (60% d'hommes) âgés de 65 ± 11 ans. La pente annuelle de CrS était significativement plus élevée chez les patients avec un évènement CV par rapport à ceux sans évènement (9,5 et 3,3 $\mu\text{mol/L}$ respectivement, $p_{\text{interaction}} < 0,0001$). Une augmentation de CrS $> 4,4 \mu\text{mol/L/an}$ était indépendamment associée à la survenue d'évènements CV ($\text{HR}_{\text{ajusté}} = 2,38 [1,67-3,33]$) après ajustement sur l'âge, l'albuminurie et les antécédents CV. Une pente annuelle $> 4,4 \mu\text{mol/L}$ calculée sur les 2 premières années de suivi était un facteur pronostique indépendant d'évènement CV ($\text{HR}_{\text{ajusté}} = 1,80 [1,48 - 2,46]$) après ajustement sur les mêmes covariables.

Conclusion: L'évolution annuelle de la créatinine est associée à un sur-risque d'évènement CV. La détermination de la pente annuelle de CrS calculée sur 2 ans de suivi peut être proposée comme facteur pronostique d'évènement CV.

Epidémiologie

Association between exposure to atrazine in drinking water and preterm birth, taking neighborhood deprivation into account: a historic cohort study.

M Albouy-Llaty^{1,2}, F Limousi¹, C Carles³, A Dupuis^{1,2}, S Rabouan¹, V Migeot^{1,2}.

¹ *Department of Analytical Chemistry, Pharmaceutics and Epidemiology, University of Poitiers, IC2MP, UMR7285-CNRS, Medicine and Pharmacy Faculty, 6 rue de la Miletrie, 86034 Poitiers Cedex, France*

² *Teaching Hospital of Poitiers, Biology-Pharmacy-Public Health Pole, 2 rue de la Miletrie, BP577, 86021 Poitiers Cedex, France*

³ *Occupational and Environmental Health laboratory, ISPED, University of Bordeaux, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux.*

Marion.llaty@univ-poitiers.fr

05 49 45 43 26

Background: The relationship between preterm birth and endocrine disruptor exposure in drinking-water has only occasionally been studied. The objective was to investigate the relation between exposure to atrazine metabolites in drinking-water during the second trimester of pregnancy and prevalence of preterm birth neonates while taking neighborhood deprivation into account.

Methods: We conducted a historic cohort study in Deux-Sèvres, France, between 2005 and 2010, using birth records, population census and regularly performed drinking-water withdrawals at community water systems. Exposure to atrazine metabolites was defined according to the limit of quantification. We used a logistic regression to model the association between exposure at second trimester and preterm birth while taking into account neighborhood deprivation measured by the European deprivation index (EDI) and the individual risk factors of preterm birth.

Results: We included 13,654 mother/neonate couples living in 279 different IRIS (smallest geographic census in France). The prevalence of preterm birth was 4%. Among mothers, 26% were exposed to atrazine metabolites and 39% lived in less deprived areas. The risk of preterm birth in cases of exposure to atrazine metabolites adjusted for neighborhood deprivation and individual risk factors of preterm birth was OR 1.388 95%CI[0.996;1.933]).

Conclusions: Exposure to atrazine metabolites in drinking-water during the second trimester increases the risk of preterm birth, and social neighborhood deprivation is a confounding factor in this relation. The possible effect of socio-economic context must be more widely investigated.

Exposition hydrique aux perturbateurs endocriniens des femmes enceintes en Deux-Sèvres : comparaison de méthodes d'évaluation et relation avec la santé de l'enfant.

Albouy-Llaty M^{1,2}, Dupuis A^{1,2}, Rabouan S¹, Pierre F³, Migeot V^{1,2} et les membres du projet EDDS.

¹ Université de Poitiers, UMR-CNRS 7285 (IC2MP), Faculté de Médecine et Pharmacie, 6 rue de la Milétrie, 86034 Poitiers Cedex, France

² CHU Poitiers, Pôle Biologie-Pharmacie-Santé Publique, 2 rue de la Milétrie, BP 577, 86021 Poitiers Cedex, France

³ CHU Poitiers, Pôle Femme-mère-enfant, 2 rue de la Milétrie, BP 577, 86021 Poitiers Cedex, France.

Marion.llaty@univ-poitiers.fr

05 49 45 43 26

Contexte : L'exposition prénatale aux perturbateurs endocriniens (PE) via l'eau potable peut avoir des effets sur la santé de l'enfant mais cela n'est pas clairement établi car nécessite la mise en place d'études épidémiologiques longitudinales. En 2011, une cohorte prospective de femmes enceintes nommée EDDS (Endocrine Disrupting Deux-Sèvres) a ainsi été mise en place par l'UMR-CNRS-7285.

Objectifs : L'objectif principal était de comparer trois méthodes d'estimation de l'exposition hydrique en différentes familles de PE (dosage dans l'eau consommée un jour donnée, consommation d'eau habituelle déclarée, biomonitoring). Les objectifs secondaires étaient de mesurer la relation entre ces estimations et les issues de grossesse et d'étudier la corrélation entre les concentrations de PE dans deux liquides biologiques (urines et colostrum).

Population : Les critères d'inclusion étaient les femmes enceintes majeures, résidant dans une des 87 communes des Deux-Sèvres alimentées exclusivement par de l'eau superficielle depuis au moins un an avant le début de la grossesse, ayant déclaré leur grossesse, l'intention d'allaiter leur enfant à la naissance et d'accoucher dans les maternités de Poitiers, Niort, Bressuire ou Cholet.

Données : Un questionnaire a été administré et des prélèvements d'eau et d'urines ont été réalisés lors de visites à domicile au deuxième et troisième trimestre de la grossesse par un membre de notre équipe. L'échantillon de colostrum a été prélevé dans les trois jours après l'accouchement dans les 5 maternités participantes. Les dosages des différents échantillons sont en cours d'analyse selon les conditions analytiques mises au point précédemment par l'équipe.

Résultats attendus : Cette étude permettra d'estimer la consommation d'eau des femmes enceintes françaises, d'estimer la concentration de divers PE dans plusieurs matrices biologiques et dans les eaux, de déterminer quelle est la meilleure méthode d'estimation de l'exposition hydrique aux PE afin d'étudier la relation entre cette méthode et les issues de grossesse.

Étude du relargage du Bisphénol A et présence de ses dérivés chlorés dans un circuit d'hémodialyse

Astrid BACLE¹, Sarah THEVENOT², Mohamed BELMOUAZ³, Marc BAUWENS³, Claire GRIGNON^{1,2}, Virginie MIGEOT^{1,2} et Antoine DUPUIS^{1,2}

¹ Université de Poitiers, UMR-CNRS 7285 (IC2MP) Faculté de Médecine et Pharmacie (Departments of Analytical Chemistry, Pharmaceutics and Epidemiology), 6 rue de la Milétrie, 86034 Poitiers Cedex, France

² CHU Poitiers, Pôle Biologie-Pharmacie-Santé Publique, 2 rue de la Milétrie, BP 577, 86021 Poitiers Cedex, France

³ CHU Poitiers, Service d'Hémodialyse, 2 rue de la Milétrie, BP 577, 86021 Poitiers Cedex, France

Contexte : L'exposition humaine au bisphénol A (BPA) constitue un problème majeur de santé publique en raison de cet effet perturbateur endocrinien mais également en raison de son caractère ubiquitaire. Les dérivés chlorés du BPA présentent un effet perturbateur endocrinien 100 fois plus important que les composés parents. Après ingestion, le BPA est conjugué au niveau hépatique puis rapidement éliminé sous forme de conjugué dans les urines. Chez les personnes présentant une insuffisance rénale, l'excrétion urinaire du BPA est diminuée et celui-ci a donc tendance à s'accumuler. Les personnes souffrant d'insuffisance rénale chronique terminale sont traitées par hémodialyse. Il a été démontré que, pour ces patients, les séances de dialyse représentaient une source d'exposition supplémentaire au BPA relargué par dialyseurs composés de polycarbonate et de polysulfone.

Objectifs : Notre étude, réalisée au sein du service d'hémodialyse du CHU de Poitiers, a consisté à étudier le relargage potentielle des patients au BPA mais également à ses dérivés chlorés par l'intermédiaire de l'eau et des dispositifs utilisés en hémodialyse dans l'objectif d'évaluer l'exposition potentielle des patients. Nous avons ainsi mesuré les quantités de BPA et ses dérivés chlorés relargués tout d'abord lors du traitement de l'eau osmosée, puis lors de la préparation du dialysat au niveau du générateur de dialyse et enfin par les dialyseurs eux-mêmes.

Matériels et Méthodes : Les prélèvements ont été réalisés en 8 points de la boucle de production d'eau osmosée, ainsi qu'en entrée et en sortie de générateur d'hémodialyse. Au niveau des dialyseurs, les dosages ont été effectués après 3 heures de circulation d'eau en continu (débit = 250 mL/min). Le BPA et ses dérivés chlorés ont été dosés par une UPLC-MS/MS composée d'une UPLC Acquity® (Waters, Milford, USA), couplée à un spectromètre de masse triple quadripôle Xévo TQ® (Waters, Milford, USA). L'ensemble du matériel et des réactifs était exempt de BPA.

Résultats : La présence de BPA et de ses dérivés chlorés a été détectée en différents points de la boucle de traitement de l'eau osmosée desservant les générateurs du service d'hémodialyse. Ces composés ont également été détectés en sortie de générateur et ce, en quantités nettement supérieures à celles initialement relevées en entrée de machine. Parallèlement la présence de BPA a été détectée au niveau l'un des 5 dialyseurs testés.

Conclusion : Cette étude est la première étude démontrant l'exposition potentielle des patients d'hémodialyse aux dérivés chlorés du BPA et révèle la possibilité de relargage de BPA en amont des dialyseurs, dès la production d'eau osmosée.

ASSOCIATION ENTRE LES CONCENTRATIONS URINAIRES DE SODIUM ET DE POTASSIUM, ET LES COMPLICATIONS CARDIOVASCULAIRES ET RENALES DANS UNE COHORTE FRANÇAISE DE SUJETS DIABÉTIQUES DE TYPE 2.

Pierre-Jean Saulnier^{1,2,3}, Elise GAND⁴, Stéphanie Ragot^{1,2,3,5}, Ronan Roussel^{6,7,8}, Richard Marechaud^{4,5}, Samy Hadjadj^{1,2,3,4,5,9} for the SURDIAGENE study group.

¹. Université de Poitiers, CIC0802, Poitiers, France

². CHU de Poitiers, Centre d'investigation clinique, Poitiers, France

³. Inserm, CIC0802, Poitiers, France

⁴. CHU Poitiers, service d'Endocrinologie, Poitiers, France

⁵. Université de Poitiers, Faculté de Médecine et Pharmacie, Poitiers, France

⁶. Inserm, U695, Paris, France

⁷. Université Paris 7 Denis Diderot, U695, Paris, France

⁸. Assistance Public-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Groupe Hospitalier Bichat Claude Bernard, Service d'Endocrinologie, diabétologie, nutrition, Paris, France

⁹. Inserm, U1082, Poitiers, France

Introduction et objectifs :

Des données épidémiologiques dans le diabète de type 1 et en population générale, suggèrent que les apports de sodium sont associés avec un risque de complications cardiovasculaires selon une courbe en J. Toutefois il n'existe pas de données évaluant l'association entre le sodium urinaire et les complications cardiovasculaires ou rénales chez des sujets atteints de diabète de type 2. Nous avons réalisé une étude observationnelle dans une cohorte d'inception de sujets atteints de diabète de type 2 en nous focalisant sur les concentrations urinaires de sodium et de potassium (U_{Na} et U_K).

Matériel et méthodes :

Les concentrations urinaires de sodium et de potassium à l'entrée dans la cohorte ont été mesurées chez de 1467 sujets par potentiométrie indirecte sur un échantillon d'urine du matin. Notre critère principal de jugement est un critère combiné fait du premier évènement pendant le suivi parmi : mort cardiovasculaire, infarctus du myocarde non fatal, accident vasculaire cérébral non fatal, hospitalisation pour insuffisance cardiaque ou épuration extra-rénale. Nous avons établi des courbes de survie selon la méthode Kaplan-Meier. La comparaison de la probabilité de survie a été faite grâce au test du log-rank mais également grâce à un modèle de risque proportionnel de Cox.

Résultats :

La médiane de suivi était de 56 mois pendant lesquels 386 évènements composites ont été enregistrés parmi lesquels 193 morts cardiovasculaires. La valeur moyenne de U_{Na} et U_K était 88.5 ± 41.3 mmol/jour et 52.2 ± 25.2 mmol/jour respectivement.

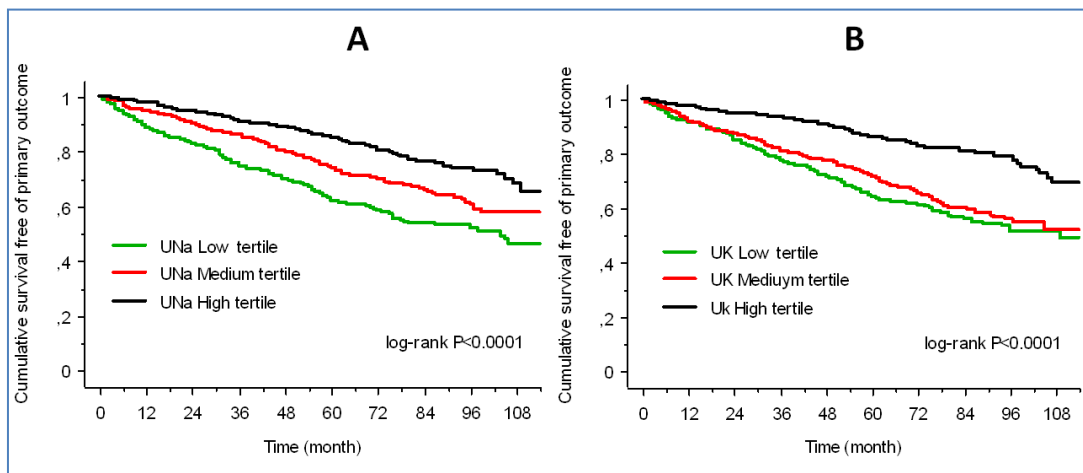
L'incidence cumulée du critère principal de jugement augmentait significativement avec la diminution des tertiles de U_{Na} et U_K (Figure, tous les P log-rank < 0.0001) : tertile inférieur de U_{Na} [7-68 mmol/l] : 9.67 %/patient-année; tertile intermédiaire de U_{Na} [69-103 mmol/l] : 6.41 %/patient-année ; tertile supérieur de U_{Na} [104-240 mmol/l] : 3.97 %/patient-année. Tertile inférieur U_K [6-38 mmol/l] : 8.74 %/patient-année; U_K tertile intermédiaire [39-59 mmol/l] : 7.56 %/patient-année ; U_K tertile supérieur [60-163 mmol/l] : 3.42 %/patient/année.

Une relation similaire a été retrouvée lorsque l'on considère le risque de mort cardiovasculaire (tous les P log-rank < 0.0001). Cette association reste significative après ajustement sur l'âge, le sexe, la durée du diabète, le débit de filtration glomérulaire estimé, l'excrétion urinaire d'albumine, les antécédents d'infarctus du myocarde, la pression artérielle systolique et le traitement par diurétiques (critère de jugement principal : U_{Na} , $P=0.0004$; U_K , $P < 0.0001$; mort cardiovasculaire: U_{Na} , $P = 0.0041$ et U_K , $P < 0.0036$).

Conclusion :

Dans une population de sujets atteints de diabète de type 2, des concentrations plus faibles de sodium et de potassium dans les urines sont associées avec un risque plus élevé de complications cardiovasculaires et rénales.

Figure : Courbes de survie de Kaplan-Meier pour la survie sans événement primaire en fonction des tertiles de concentrations urinaires de Sodium (A) et de Potassium (B) dans une cohorte française de sujets atteint de diabète de type 2.



NOUVEL OUTIL DE MESURE DES INFECTIONS DU SITE OPÉRATOIRE : LE PMSI DANS LES INFECTIONS DE PROTHÈSES ORTHOPÉDIQUES

Grammatico-Guillon L, *Service d'information médicale, d'épidémiologie et d'économie de la santé, CHRU de Tours, France*

Université François Rabelais, Tours, France

Baron S, *Unité Régionale D'épidémiologie Hospitalière, UREH, CHRU de Tours, France*

Gaborit C, *Unité Régionale D'épidémiologie Hospitalière, UREH, CHRU de Tours, France*

Rusch E, *Service d'information médicale, d'épidémiologie et d'économie de la santé, CHRU de Tours, France*
Université François Rabelais, Tours

Astagneau P, *Centre de coordination interregional pour le contrôle des infections nosocomiales (C-CLIN) Paris Nord*

Université Pierre et Marie Curie, École de médecine, Paris France

Contexte : Les infections du site opératoires, ISO (15 à 30 % des infections hospitalières) sont associées à une importante morbi-mortalité et augmentent les coûts. Les systèmes de surveillance des infections nosocomiales ciblent constamment les ISO. Mais ces systèmes sont imparfaits, avec des données de qualité variable et des risques de faux négatifs notamment. Nous avons évalué et validé l'utilisation des bases médico-administratives (PMSI) comme outil de surveillance des ISO, avec l'exemple des infections de prothèse ostéo-articulaires (IPOA).

Méthodes : Création d'une cohorte rétrospective de patients avec première pose de prothèse de hanche ou de genou en utilisant les bases régionales PMSI 2008-09, avec surveillance de la survenue d'une IPOA dans l'année suivant la pose (PMSI 2008-10). La définition d'IPOA était basée sur un algorithme utilisant les codes de la CIM-10 et des actes CCAM, définissant ainsi des cas certains ou possibles. Les cas d'IPOA étaient validés dans chaque hôpital de la région par les cliniciens en charge des patients, permettant de réaliser une étude de sensibilité de la définition de cas. Le calcul de la sensibilité, spécificité et valeurs prédictives était réalisée selon la même méthode sur un échantillon aléatoire de patients tirés au sort dans la cohorte.

Résultats : L'échantillon de validation contenait 1 000 patients, avec 809 séjours revus et 430 IPOA codés, correspondant à 194 cas certains et 236 cas possibles. La sensibilité et la spécificité de la définition PMSI était respectivement de 97 % et 71 %, la VPN 98 % et la VPP 63 %. Parmi les cas certains, la VPP augmentait à 76 %.

Conclusion : Cette investigation montre la fiabilité et la facilité d'utilisation de l'outil PMSI pour la surveillance des ISO, sur ce modèle d'IPOA à incidence faible, avec une VPP estimée autour de 70% selon les méthodes de sélection des cas.

Prise en charge hospitalière des soins palliatifs en Région Centre en MCO, SSR et HAD - PMSI 2009-2011

LAURENT E., BARON S., LECUYER A.I., GABORIT C., GODILLON L., RUSCH E.

Unité Régionale d'Épidémiologie Hospitalière (UREH) - CHRU de Tours

Introduction :

L'objectif était de décrire les séjours de soins palliatifs (SP) et leur tarification chez l'adulte hospitalisé dans les trois champs du Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information (PMSI) : Médecine-Chirurgie-Obstétrique (MCO), Soins de Suite et de Réadaptation (SSR) et Hospitalisation A Domicile (HAD), sur la période 2009-2011 en Région Centre.

Méthodes :

En MCO, les SP ont été sélectionnés par le code Z515 « Soins Palliatifs » en Diagnostic Principal ou Associé (DAS). Chaque séjour a été classé en « Lit Identifié de SP » (LISP), « Unité de SP » (USP) ou « lit conventionnel » (ni LISP, ni USP). La valorisation "réelle" était basée sur le tarif du séjour modulé par les bornes haute et basse et les suppléments.

En SSR, les SP ont été sélectionnés par le code Z515 en Finalité Principale, ou en DAS seulement en cas de décès. Deux tarifs ont été étudiés : "IVA", sur le modèle de la tarification à l'activité ; et "réel", à partir de la dotation globale par établissement (données ARS Centre).

En HAD, les SP ont été sélectionnés le Mode de prise en charge Principal (MP) ou Associé n°04 « Soins palliatifs », ou par le code Z515 en DAS avec décès et MP n°01 « Assistance respiratoire », 07 « Prise en charge de la douleur » ou 14 « Soins de nursing lourds ». La valorisation "réelle" a été calculée au tarif du Groupe Homogène de Tarif multiplié par le nombre de jours.

Les analyses ont été réalisées selon trois axes : consommation, production, tarification.

Résultats :

En 2011, 5 756 patients domiciliés en région Centre étaient pris en charge en MCO (stable), 1 123 en SSR (stable), et 1 112 en HAD (+46%). Le sex-ratio H/F était supérieur à 1, sauf en SSR (0,94), lié à un âge moyen plus élevé (78,2 ans, versus 72,5 ans en MCO et HAD). 72% des patients avaient un cancer (65,9% en SSR) et 75% décédaient (50,8% en HAD). Ces chiffres étaient stables. La production de SP était proche de la consommation. La durée moyenne de séjour était supérieure à la durée médiane du fait de séjours très longs (>300 jours). Le tarif moyen "réel" par jour était stable à 600 € en USP, 400 € en LISP ou lit conventionnel de MCO, 300 € en HAD et 200 € en SSR. En 2011, le tarif moyen "réel" par séjour était proche de 8 000 € en MCO et HAD et 4 500 € en SSR (5 500 € pour le tarif "IVA"), avec une forte dispersion des tarifs. Les tarifs médians par séjour étaient de 6 400 € en USP, 6 200 € en LISP et lit conventionnel de MCO, 3 000 € en SSR et 4 000 € en HAD.

Discussion – Conclusion :

La description des SP dépend du codage : définition PMSI des SP plus quantitative que la définition clinique ; sous-codage des SP en SSR. Les patients ont des profils peu différents entre les trois systèmes, mais sont toutefois plus âgés en SSR. L'augmentation de l'HAD est cohérente avec les objectifs du programme de développement des SP 2008-2012. Les tarifs ont tendance à se niveler entre les différentes prises en charge en MCO du fait d'un codage plus fréquent des SP en DAS en 2011. Le SSR, sans tarification à l'activité, est sous-doté. Pour les SP, les médianes (durée de séjour, tarif) sont plus pertinentes à considérer que les moyennes, en particulier en HAD. Les résultats de cette étude très quantitative mériteraient d'être complétés par des études de coûts et par des données qualitatives (qualité des soins, qualité du codage).

Gastro-Entérologie

EVENEMENTS CARDIO-VASCULAIRES DANS L'HEPATITE C CHRONIQUE : VALEUR PRONOSTIQUE DE L'EVOLUTION DE L'ELASTICITE HEPATIQUE

**Laura Serres (LS), Elise Gand (EG), Carine Chagneau-Derrode (CCD), Florian Charier (FC),
Philippe Vasseur (PV), David Tougeron (DT), Christine Silvain (CS)**

Service d'hépatogastroentérologie, CHU Poitiers

Introduction

L'hépatite C chronique est aussi une maladie métabolique pouvant favoriser la survenue d'événements cardio-vasculaires. Le FibroScan[®] est un outil diagnostique de la fibrose et pronostique dans les complications de la cirrhose et la mortalité. L'objectif de notre étude est d'étudier la valeur pronostique de l'évolution de l'élasticité hépatique mesurée par FibroScan[®] dans la survenue d'événements cardio-vasculaires chez des patients porteurs d'une hépatite chronique virale C, ainsi que la valeur pronostique de l'élasticité initiale à la prise en charge.

Patients et méthodes

Tous les patients majeurs suivis pour une hépatite C chronique au CHU de Poitiers ayant eu au moins deux mesures de l'élasticité hépatique (MEH) par FibroScan[®] valides entre 2006 et 2013 ont été inclus. En cas de suivi inférieur à 2 ans, de co-infection virale, de cirrhose décompensée, de transplantation hépatique, de maladie hépatique associée, les patients étaient exclus. Les événements cardio-vasculaires survenus après la première évaluation par FibroScan[®] ont été recueillis rétrospectivement. Une progression lente de l'élasticité hépatique était définie par une évolution des MEH < 0,3 kPa/an et une progression rapide par des MEH ≥ 0,3kPa/an. Une élasticité initiale élevée était définie par une MEH initiale ≥ 7kPa.

Résultats

Sur les 561 patients VHC ayant eu une évaluation indirecte de l'élasticité par Fibroscan[®], 135 patients ont été inclus. Il s'agissait majoritairement d'hommes ($n=75;56\%$), âgés de 55,3 ans, infectés par un génotype 1 ($n=94;71\%$). Parmi les 89 patients traités (66%), 28 ont eu une réponse virologique soutenue dont 8 avant la MEH initiale. Sur les 135 patients, 27 étaient en surpoids ($IMC \geq 25$), 12 avaient un diabète de type 2 et 41 une stéatose échographique.

Au cours du suivi, 7 patients (5%) ont présenté un événement cardio-vasculaire (4 infarctus du myocarde, 3 accidents vasculaires cérébraux). Une progression lente était notée chez 100 patients et une progression rapide chez 35. Un événement cardio-vasculaire est survenu chez 5% des patients du groupe « progression lente » et 6% du groupe « progression rapide » ($p=1,0$). Parmi les 57 patients avec une élasticité initiale élevée, 11% ($n=6$) ont présenté un événement cardio-vasculaire comparé à 1% ($n=1$) des 78 patients ayant une élasticité initiale faible ($p=0,04$). La durée moyenne de suivi par FibroScan[®] était de 5,2 ans. La première MEH médiane était de 6,3 kPa (4,9 - 8,8) contre 5,9 kPa (4,8 - 7,9) pour la seconde. La médiane de l'évolution annuelle de l'élasticité était de -1,5 kPa/an.

Conclusion

Chez les patients porteurs d'une hépatite chronique virale C, l'élasticité initiale ≥ 7kPa est associée à la survenue d'événements cardio-vasculaires. La progression rapide de l'élasticité hépatique ne semble pas associée à la survenue de ces événements.

LIENS ENTRE STEATO-HEPATITE NON ALCOOLIQUE ET PSORIASIS DANS UN MODELE MURIN

P. Vasseur (1,2), A. Rabeoni (1), I. Paris (1), J.F. Jegou (1), F. Morel (1), P. Levillain (3), J.C. Lecron (1,4) et C. Silvain (1,2)

(1) LITEC EA 4331 Poitiers (2) service d'hépatogastroentérologie, CHU Poitiers (3) service d'anatomopathologie, CHU Poitiers (4) service d'immunologie et inflammation, CHU Poitiers

Introduction

Le psoriasis est une maladie inflammatoire médiée par les lymphocytes T (LT) associant des manifestations systémiques articulaires et cardio-vasculaires. Bien que le psoriasis soit associé à la maladie stéatosique non alcoolique, leurs liens ne sont pas compris.

Matériel et méthodes

Nous avons nourris des souris mâles C57BL/6 pendant 11 semaines avec un régime hyperlipidique enrichi en acide cholique. L'inflammation cutanée psoriasiforme a été induite de la 9^{ème} à la 11^{ème} semaine par une application topique d'imiquimod, un agoniste des toll like recepteurs 7/8. L'inflammation hépatique et cutanée a été étudiée par histologie et RT-PCR quantitative, la composition cellulaire splénique a été caractérisée en cytométrie de flux.

Résultats

L'imiquimod induisait des plaques érythémato-squameuses semblables aux lésions psoriasiques avec une acanthose, une hyperkératose et une surexpression de l'interleukine-17A (IL-17A). L'inflammation cutanée était associée à une splénomégalie avec une augmentation du nombre de LT. Le régime hyperlipidique induisait une stéato-hépatite (NASH) caractérisée par une stéatose, des ballonisations hépatocytaires et un infiltrat de polynucléaires neutrophiles. L'induction d'un phénotype psoriasiforme n'aggravait pas la sévérité histologique de la NASH, mais induisait une inflammation hépatique caractérisée par des infiltrats de cellules mononuclées et de polynucléaires neutrophiles, associés à une surexpression de la chimiokine macrophagique CCL3. A l'inverse, la présence d'une NASH induisait une inflammation cutanée caractérisée par un érythème et une surexpression de l'IL-17A. De même, le phénotype psoriasiforme était plus sévère macroscopiquement et histologiquement chez les souris présentant une NASH

En conclusion, dans ce modèle murin la NASH et l'inflammation cutanée psoriasiforme sont associées à des manifestations systémiques et s'aggravent mutuellement.

Inflammatoires - Dermatologie

ETUDE DE L'IMPLICATION DE L'ONCOSTATINE M DANS LE DEVELOPPEMENT DES CICATRICES HYPERTROPHIQUES ET CHELOIDES.

HUGUIER V (1,2), GIOT JP (2), LEVILLAIN P (3), CHARREAU S (1), PARIS I (1), DAGREGORIO G (1,2), MOREL F (1), GARCIA M (1), LECRON JC (1), FAVOT L (1).

(1) *Laboratoire LITEC Poitiers,*

(2) *Service de Chirurgie Plastique CHU Poitiers.*

(3) *Service d'Anatomo pathologie CHU Poitiers.*

La cicatrisation est un processus complexe qui permet de réparer une lésion organique et qui aboutit à la formation d'un tissu fibreux essentiellement constitué de collagène I. La cicatrisation cutanée peut évoluer de façon pathologique pour former des cicatrices hypertrophiques, voire chéloïdes correspondant à des tumeurs fibreuses. La physiopathologie de ces cicatrices pathologiques est mal connue.

Les processus de cicatrisation sont modulés par des cytokines dont le TGF β et l'Oncostatine M (OSM). Le rôle du TGF β 1 dans la fibrose et en particulier dans la cicatrisation pathologique est relativement bien documenté. Quelques travaux ont également montré l'implication de l'OSM dans des pathologies comme la sclérodémie ou la fibrose pulmonaire. Cependant, le rôle de l'OSM dans la cicatrisation pathologique n'a pas encore été clairement mis en évidence.

Notre étude a pour objectif d'évaluer l'implication de l'OSM dans les processus cicatriciels cutanés pathologiques.

Ce travail a été réalisé sur une cohorte de 18 patients et comporte 9 cicatrices hypertrophiques et 9 cicatrices chéloïdes de localisations anatomiques variées. La peau saine contrôle provient de plastique mammaire ou abdominale.

L'analyse histologique des tissus met en évidence d'importantes similitudes entre les deux types cicatriciels. Des différences mineures portent sur l'organisation de la matrice extra cellulaire, l'infiltrat inflammatoire et l'activité des kératinocytes.

L'étude transcriptomique montre une augmentation de l'expression de la fibronectine, du collagène I (constituants de la matrice extra cellulaire), du TGF β 1 et enfin de β défensine et S100A7 (peptides antibactériens marqueurs de l'inflammation) dans les 2 types de prélèvements comparés à la peau saine. Fait notable, le niveau d'expression de l'OSM est plus élevé dans les cicatrices hypertrophiques que dans les chéloïdes et la peau contrôle.

In vitro, sur des fibroblastes en culture, L'OSM possède la capacité d'inhiber la sécrétion des composants de la matrice extra cellulaire induite par le TGF β 1 suggérant son implication dans l'évolution et le phénotype de la cicatrice pathologique.

En conclusion, l'OSM semble être un élément important dans le processus de cicatrisation, inhibiteur dans la genèse des cicatrices hypertrophiques et chéloïdes. Nous émettons l'hypothèse qu'il puisse inhiber l'évolution d'une cicatrice hypertrophique vers une cicatrice chéloïde.

“ROLE OF INTERLEUKIN-1 PROCESSING AND SIGNALING IN IMIQUIMOD-INDUCED PSORIASIS-LIKE SKIN INFLAMMATION IN MICE”

H. Rabeony¹, P. Vasseur^{1,2}, I. Paris^{1,2}, J.F Jégou¹, B. Ryffel³, F.X. Bernard^{1,4}, J. C. Lecron^{1,2}, and F. Morel¹

1 Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines, UPRES EA4331, Pôle Biologie Santé, Université de Poitiers, 1 rue Georges Bonnet, 86022 Cedex France

2 CHU de Poitiers, 86021 Poitiers, France

3 INEM-UMR7355 CNRS, Université d'Orléans, 3B rue de la Férrollerie, 45071 Orléans, France

4 BIOalternatives, 1 bis rue des Plantes, 86160 Gençay, France

ABSTRACT:

The pathogenesis of inflammatory skin diseases such as psoriasis involves the release of numerous proinflammatory cytokines, including IL-1. To highlight the potential role of IL-1 α and IL-1 β in the induction and maintenance of psoriasis-like skin inflammation in mice, we assessed the expression of IL-1 family members after topical application of the TLR7/8 agonist imiquimod (IMQ) in C57BL/6 (BL6) mice. Daily skin application of IMQ in BL6 mice induced overexpression of IL-1 α , IL-1 β and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) mRNA. IMQ-treated IL-1 α - or IL-1 β -deficient mice display inflamed, red and scaly skin lesions, and epidermal hyperplasia, similar to IMQ-treated BL6 mice. Furthermore, IMQ-induced expression of IL-23p19, IL-17A and IL-22, antimicrobial peptides β -defensin3 and S100A9, and chemokine CXCL3 is similar in mice deficient for IL-1 α or IL-1 β and BL6 mice. The absence of the NALP3 or ASC proteins did not affect inflammatory response to IMQ, demonstrating a modest role of NALP3/ASC inflammasome upstream of IL-1 β processing in IMQ model. However, IMQ-induced skin inflammation was reduced in mice deficient for IL-1 $\alpha\beta$ or IL-1RI. Finally, IMQ-induced skin inflammation was totally abolished in mice deficient for MyD88, which is the adaptor protein shared by IL-1R and TLR signaling pathways, confirming that IMQ induced inflammation is TLR-signaling dependent. Therefore, IL-1 α and IL-1 β appear to be functionally redundant, since the response is attenuated in the absence of both IL-1 α and IL-1 β or IL-1RI, while MyD88 signaling is critical in IMQ induced cutaneous inflammation.

DE LA PRESENCE D'ANTICORPS ANTI-INFLIXIMAB DANS LES PATHOLOGIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES

Chasseuil Elodie^{1,4,5}, Mulleman Denis^{2,4,5}, Aubourg Alexandre^{3,4,5}, Lecomte Thierry^{3,4,5}, Paintaud Gilles^{1,4,5}, Ternant David^{1,4,5}.

1 CHRU de Tours, laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie

2 CHRU de Tours, service de Rhumatologie

3 CHRU de Tours, service d'Hépto-gastro-entérologie et de Cancérologie Digestive

4 UMR 7292, CNRS, Tours

5 Université François Rabelais, GICC, Tours

Introduction

L'Infliximab est un anticorps thérapeutique dirigé contre le TNF- α (Tumor Necrosis Factor) largement utilisé dans les pathologies inflammatoires chroniques, comme la Polyarthrite Rhumatoïde (PR), la Spondylarthrite Ankylosante (SA), le psoriasis, le Rhumatisme Psoriasique, ou encore les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Il peut être source d'immunogénicité: les patients qui s'immunisent développent des anticorps dirigés contre l'infliximab (ATI) qui entraînent une augmentation de l'élimination de l'infliximab suivie d'une diminution de la réponse au traitement. Le but de cette étude est de déterminer une concentration seuil d'infliximab prédisant la présence ou l'absence des ATI.

Méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective menée sur des échantillons sanguins de patients atteints de PR, SPA ou MICI traités en rhumatologie et gastroentérologie au CHU de Tours entre 2005 et 2012 pour Polyarthrite Rhumatoïde (PR), Spondylarthrite Ankylosante (SA), et pathologies inflammatoires des intestins (MICI). La mesure des concentrations d'infliximab et la détection des ATI ont été réalisées par méthodes ELISA. Le test des ATI était réalisé pour une concentration inférieure à 2 mg/L. Les ATI ne sont pas détectés si les concentrations d'infliximab sont supérieures à 2.0 mg/L. La concentration-seuil prédictive de la présence d'ATI a été déterminée en maximisant la sensibilité et la spécificité en prenant comme référence le résultat du test ATI. Cette analyse a été réalisée sur l'intégralité des prélèvements, et en séparant les prélèvements provenant de patients atteints de PR, SA et MICI.

Résultats

Un total de 4923 échantillons sanguins, provenant de 354 patients étaient disponibles pour cette étude. La plupart des patients étaient atteints de SA (179), puis MICI (123), puis PR (52). Les concentrations seuil dans les différentes pathologies inflammatoires étaient de 0.97 mg/L toutes pathologies confondues, de 0.30 mg/L pour la PR et de 1.2 mg/L pour la SA et les MICI. Les valeurs prédictives positives respectives étaient de 0.42, 0.56, 0.44 et 0.31, et les valeurs prédictives négatives (VPN) étaient proches de 1. Tous les prélèvements ATI+ étaient inférieurs aux concentrations-seuil, mais un nombre non-négligeable de prélèvements ATI- étaient inférieurs à ces concentrations.

Conclusion

Les concentrations-seuil déterminées dans cette étude permettent une discrimination sensible et spécifique des prélèvements ATI+ et ATI-.

ROLE DU CANAL CALCIQUE « TRANSIENT RECEPTOR POTENTIAL VANILLOID 4 » (TRPV4) DANS L'INFLAMMATION PULMONAIRE

HENRY C.¹, DALLONEAU E.¹, BREA D.¹, BARANEK T.¹, ESNARD F.¹,
POTIER-CARTEREAU M.², CORAUX C.³, VANDIER C.² et SI-TAHAR M.¹

¹Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), INSERM U1100/EA6305, Université François Rabelais, Tours, France

²INSERM U1069, Université François Rabelais, Tours, France

³INSERM UMRS 903, Reims, France

INTRODUCTION : Au cours de pathologies respiratoires comme la mucoviscidose ou la Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO), le déclenchement de la réponse inflammatoire peut provoquer des lésions tissulaires irréversibles, parfois fatales. Plusieurs travaux ont montré que la signalisation calcique intervient dans la mise en place de cette réponse inflammatoire. La concentration calcique intracellulaire est par ailleurs régulée par divers canaux présents au niveau de la surface cellulaire dont le « Transient Receptor Potential Vanilloid » (TRPV4).

OBJECTIF : A travers des approches *in vitro* et *in vivo*, notre objectif est de déterminer l'impact de la signalisation dépendante du canal calcique TRPV4 sur l'inflammation respiratoire.

MATERIEL ET METHODES : *In vitro*, une étude de l'expression du TRPV4 et de sa régulation dans plusieurs modèles de cellules épithéliales pulmonaires humaines (lignées A549, Beas-2B, NCI-H292 et cellules primaires) a été réalisée par qPCR. Les cellules NCI-H292 ont également été stimulées par le 4 α PDD, un agoniste spécifique du TRPV4 dérivé de l'acide arachidonique. La concentration calcique intracellulaire a été quantifiée par fluorimétrie et celle de cytokines inflammatoires sécrétées (telles que l'interleukine-8) par ELISA. *In vivo*, des souris C57Bl/6j ont reçu une instillation intranasale de 4 α PDD. Les lavages broncho-alvéolaires ont été collectés et l'inflammation pulmonaire a été évaluée en termes d'expression de cytokines inflammatoires et d'infiltration leucocytaire par cytométrie en flux.

RESULTATS : *In vitro*, nous démontrons une expression constitutive et non modulée du TRPV4 au niveau de l'épithélium respiratoire. La stimulation des cellules NCI-H292 par le 4 α PDD induit une entrée de calcium et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires majeures. *In vivo*, l'administration intranasale de 4 α PDD conduit à une augmentation de la concentration en médiateurs inflammatoires dans les fluides broncho-alvéolaires ainsi qu'à un recrutement de polynucléaires neutrophiles dans les poumons.

CONCLUSION : Ces travaux démontrent un rôle du TRPV4 dans la réponse inflammatoire au niveau pulmonaire. Ce canal calcique constitue donc une cible thérapeutique potentielle pour les pathologies inflammatoires chroniques ou aiguës du poumon.

Maladies infectieuses

THE POTENTIAL OF CRANBERRY TO PREVENT ORAL CANDIDA BIOFILMS

Girardot M.¹, Guerineau A.¹, Boudesocque L.², Bazinet L.³, Enguehard-Gueiffier C.² and Imbert C.¹

¹UMR CNRS 7267 Laboratory of Ecology and Biology of the Interactions, Faculty of Medicine Pharmacy, 6 rue de la Milétrie, BP 199, 86034 Poitiers, France.

²UMR INRA 1282 Infectiology Public Health, Pharmaceutical Sciences Faculty Philippe Maupas, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France.

³Nutraceuticals and Functional Foods Institute (INAF), Laval University, Pavillon Comtois, Department of Food Science and Nutrition, 2425 rue de l'Agriculture, Quebec, Canada.

In the context of the prevention of dental caries by natural foodstuff sources, the cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*), thanks to its richness in high molecular weight proanthocyanidins (PAC), previously demonstrated anti-cariogenic properties, inhibiting biofilm formation of cariogenic bacteria.

The antifungal and anti-adhesion activities of a dry commercial extract of this fruit and three other red fruits: raspberry (*Rubus idaeus*), blueberry (*Vaccinium myrtillus*) and acerola (*Malpighia puniceifolia*), were assessed on yeasts of the *Candida* genus, commonly isolated from the human oral cavity: *Candida albicans*, *C. glabrata* and *C. parapsilosis*. The antifungal activity of these extracts was investigated by evaluating the minimum inhibitory concentration (MIC). The anti-adhesion activity was evaluated by using the XTT method. The cranberry extract was the most anti-adherent. A significant anti-adhesion activity was obtained with this extract, using concentrations ≥ 1.25 mg/mL (*C. albicans*) and ≥ 2.5 mg/mL (*C. glabrata*). Thus, cranberry was then selected for a phytochemical investigation.

The fractionation of freeze dried cranberry juice was performed by chromatographic methods (chromatographic columns: Amberlite XAD 16 resin and then Sephadex® LH 20 gel). The obtained fractions were analyzed by HPLC and ESI-MS. The fractionation was bioguided by antifungal and anti-adhesion assays (as previously described).

An aqueous fraction containing sugars and non phenolic compounds and a methanolic fraction enriched in phenolic components were first obtained. Only this last one showed an anti-adhesion activity against *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. parapsilosis* at low concentrations (0.3; 0.6 and 0.6 mg/mL respectively). Six sub-fractions were obtained after its fractionation. The anti-adhesion tests performed on these fractions highlighted the potential of fractions containing low molecular weight PAC (F3), flavonoids and PAC (F4) and high molecular weight PAC (F6). F4 and F6 were active against the 3 tested species by using low concentrations between 0.06 and 0.25 mg/mL whereas F3 demonstrated a significant activity ($p < 0.05$) only against *C. glabrata* and *C. parapsilosis* (0.25 and 0.12 mg/mL respectively). None extract or fraction showed antifungal activity (MIC > 100 mg/mL).

The anti-adhesion activity of these fractions was significant at lower concentrations than dry commercial extract and methanolic fraction suggesting a real interest. In conclusion, this work highlighted the potential of cranberry to prevent oral *Candida* biofilm and especially demonstrated for the first time its anti-adhesion activity against *C. glabrata* and *C. parapsilosis*.

Mixing Patterns in France Vary According to Seasons: Implication for the Spread of Infectious Diseases

Béraud G^{1,2,3}, Kazmierczak S⁴, Levy-Bruhl D⁵, Lenne X⁶, Mielcarek N⁷, Yazdanpanah Y⁸, Guillemot D⁹, Boëlle PY¹⁰, Beutels P¹¹, Hens N^{11,3}, Dervaux B¹².

¹Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CHU de Poitiers, Poitiers. ²EA2694, Université Droit et Santé Lille 2. ³Center for Statistics, Hasselt University, Hasselt, Belgium. ⁴CRESGE, Université Catholique de Lille, Lille. ⁵Département des maladies infectieuses, InVS, Saint-Maurice. ⁶DIM, CHU de Lille. ⁷INSERM U1019, Institut Pasteur de Lille, Lille. ⁸Service des Maladies Infectieuses et tropicales, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris. ⁹Pharmacopidémiologie et Maladies Infectieuses (Inserm U657), Institut Pasteur, Paris. ¹⁰UMR-S 707, INSERM, Paris, France. ¹¹Centre for Health Economics Research & Modeling Infectious Diseases (CHERMID), Universiteit Antwerpen, Antwerpen. ¹²DRCI, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France.

Background and aims:

Mixing patterns between individuals allows modeling infectious diseases transmission and evaluating interventions to limit the spread of infectious diseases. We report the first contact survey conducted in France.

Methods:

Participants had to fill in a paper diary of all contacts during two consecutive days, with a mix of week day, week end and holidays. Diaries included information on each contact including age of the contact, gender, location, duration, frequency and touching. Participants were recruited in 2 periods (Winter/Spring).

Results:

Among the 24250 persons contacted with a randomly generated phone number, 3977 were recruited, 2033 effectively participated and 278 participants were common to the 2 periods. Participants were significantly older than non-participants (30.9(25.4) vs 37.1(27.0); $p < 0.001$). 39.1% of all participants were less than 18 years. Participants reported a mean number of contacts of 9.56 per day. Age of participants influenced significantly the mean (SD) number of contact, with a minimum when participants were $< 4y$ [8,64 (7,23)] and $> 65y$ [7,01 (5,73)], and a maximum at 15-19 years [12,96 (9,55)] ($p < 0.001$). Number of contact increased with the household size and decreased when participants were male [9,29 (7,52) vs 9,78 (8,04), $p = 0.025$]. Participants had less contact during weekend [8,37 (6,50) vs 9,90 (8,13), ($p < 0.001$)] and holidays [8,20 (6,20) vs 11,05 (9,05), $p < 0.001$]. Number of contact was higher in Spring [9,77 (7,98)] compared to Winter [9,19 (7,51), $p = 0.011$]. Modeling a newly emerging infection in a fully susceptible population would result of R_0 10% higher in Spring than in Winter.

Conclusions:

This is the first population based survey conducted in France, the first to consider 2 consecutive days on 2 different periods and the first to show a difference in mixing patterns according to season.

Simulation pharmacocinétique (PK) et pharmacodynamique (PD) de 2 régimes posologiques de céfotaxime (CFX) à objectif cérébral.

Denis Frasca, Sandrine Marchand, William Couet, Bertrand Debaene, Olivier Mimoz, Claire Dahyot-Fizelier.

INSERM U1070 – Pharmacologie des anti-infectieux ; Service d'Anesthésie réanimation CHU de Poitiers

Introduction

Le CFX, céphalosporines de troisième génération, est le traitement de première intention des méningites bactériennes. Sa distribution dans le système nerveux central (SNC) est limitée par la présence d'une barrière hémato-encéphalique. Son efficacité est «temps-dépendante» et le temps pendant lequel les concentrations tissulaires sont supérieures à la concentration minimale inhibitrice ($T > CMI$) est le paramètre pharmacodynamique d'efficacité, avec un objectif $>90\%$ de l'intervalle de dose pour les méningites. Le but de l'étude était de réaliser des simulations des $T > CMI$ à partir des concentrations libres cérébrales du liquide extra-cellulaire (LEC) de CFX ($C_{LEC-CFX}$) obtenues par microdialyse et d'évaluer l'efficacité des posologies recommandées dans la méningite bactérienne.

Matériels et Méthodes

L'étude était réalisée à partir des paramètres pharmacocinétiques (PK) de cinq patients cérébro-lésés, ayant bénéficié d'un monitoring cérébral multimodal dont la microdialyse (CMA, Suède) et traités par CFX (2gx3/j) pour une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique. Les paramètres PK libres dans le plasma (C_{pl-CFX}) et le LEC cérébral étaient obtenus après 2g de CFTX intraveineux par analyse non compartimentale puis compartimentale (Phoenix WinNonlin 6.2, Pharsight, US). Un modèle pharmacocinétique à 3 compartiments (CPT) : 1 central, 1 périphérique et 1 cérébral était élaboré afin de simuler les $C_{LEC-CFX}$ moyennes à l'état d'équilibre de 2 régimes de dose (4g/8h;4g/6h). Les $T > CMI$ étaient calculés selon 2 seuils de CMI du *Streptococcus pneumoniae*, sensibles ($0.5\mu\text{g.mL}^{-1}$) et résistant ($2\mu\text{g.mL}^{-1}$).

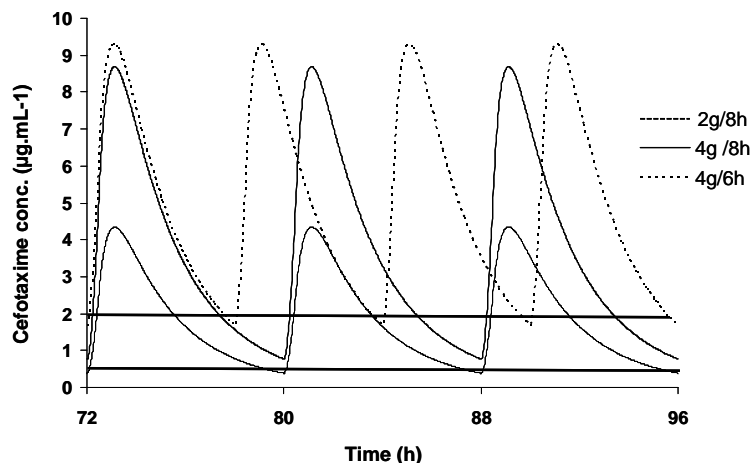
Résultats

Le modèle PK ajustait correctement les C_{pl-CFX} et les $C_{LEC-CFX}$, ainsi que le ratio moyen observé des surfaces sous courbe LEC/plasma ($26.1\pm 12.1\%$). Les simulations des $C_{LEC-CFX}$ estimaient un $T > CMI$ à 99,9% et 99,8% respectivement des intervalles de 4g/8h et 4g/6h pour les souches sensibles, et à 63,7% et 89,8% des mêmes intervalles posologiques pour des souches résistantes (Figure).

Discussion

Ce modèle PK a permis de simuler des $C_{LEC-CFX}$ ($C_{max}=8,7\mu\text{g/mL}$), pour la dose de 4g/8h, proches de celles observées dans la littérature ($C_{max}=11,4\mu\text{g/mL}$)[3]. Les $T > CMI$ étaient $>90\%$ de l'intervalle des 2 doses testées pour les souches sensibles, mais seulement pour 4g/6h pour les souches résistantes.

Figure : Concentrations de céfotaxime simulées en fonction du temps et selon 3 régimes posologiques



COMPARATIVE PERFORMANCE OF A MULTIPLEX MOLECULAR ASSAY VERSUS CONVENTIONAL METHODS IN A CONTINUOUS SERIES OF 279 ADULTS RESPIRATORY SPECIMENS.

Bouvet D¹, Gaudy-Graffin C¹, Robert S¹, Garot D², Sunder S³, De Gialluly C⁴, Goudeau A¹

Université François Rabelais, CHRU de Tours, France ; ¹Service de bactériologie et virologie, hôpital Bretonneau ; ²Service de réanimation ; ³Service de médecine interne et maladies infectieuses ; ⁴Laboratoire de bactériologie et d'hygiène hospitalière, hôpital Trousseau

Background

Adult community-acquired respiratory tract infections may be caused by a variety of pathogens. Diagnostic methods for respiratory infections include bacterial and viral culture, serology, antigen detection and nucleic acid amplification techniques. Indirect immunofluorescence assays allow rapid detection but lack sensitivity. Amplification techniques and especially multiplex assays have recently emerged as potent diagnostic tools to determine respiratory tract infections bacterial and viral etiologies.

Objectives

We compared conventional testing methods like indirect immunofluorescence and *Mycoplasma pneumoniae* serology to a multiplex molecular assay.

Methods

During the winter 2011-2012 (week 47-2011 to 18-2012), nasopharyngeal aspirates, bronchoalveolar lavages and sputum received from adult patients hospitalized for community-acquired respiratory tract infections in Tours' university hospital were analysed with a multiplex molecular assay (Respifinder22, Pathofinder) that allows detection of 18 respiratory viruses (Influenza virus A, H1N1 pdm 2009, B, rhinovirus/enterovirus, metapneumovirus, adenovirus, parainfluenza virus 1 to 4, respiratory syncytial virus A and B, coronaviruses NL63, OC43, 229E, HKU1, bocavirus) and 4 bacteria (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Bordetella pertussis*). All samples were tested for influenza virus A and B, adenovirus, metapneumovirus, parainfluenzae virus 1 to 3 using indirect immunofluorescence (IFI). Serum samples were tested for IgM and IgG antibodies to *Mycoplasma pneumoniae*.

Results

279 specimens met inclusion criteria: 235 nasopharyngeal aspirates, 42 bronchoalveolar lavages and 2 sputum. 216 pathogens were detected in 171 samples. Multiplex PCR detected 75 (35 %) more positives than IFI and an additional 114 (52 %) viral and bacterial infections not tested by IFI. Influenza virus A (n=50) was commonest etiologic agent, followed by rhino/enterovirus (n=35) and bocavirus (n=34). Hundred and thirty (76 %) of the 171 positive specimens were positive for only one pathogens, whereas 37 (22 %) samples were positive for two pathogens and 4 (2 %) for 3 pathogens. Respifinder22 assay identified 17 patients with *Mycoplasma pneumoniae* infection. At least one serum was available for each patient. The first serum sample was obtained during the first 2 weeks after onset of illness for 12 patients: only 2 had a significant antibody response.

Conclusion

Our data show that sensitive molecular multiplex detection of respiratory pathogens is efficient for the detection of virus and bacteria involved in adult community-acquired respiratory tract infections.

HEPATITIS C VIRUS GLYCOPROTEINS ARE ASSOCIATED WITH APOE AND APOB DURING THE INITIATION OF THE LIPOVIRAL PARTICLES MORPHOGENESIS AND ON INFECTIOUS PARTICLES

Audrey Boyer (AB), Amélie Dumans (AD), Elodie Beaumont (EB), Loïc Etienne (LE), Philippe Roingeard (PR) and Jean-Christophe Meunier (JCM)

INSERMU966, Université François Rabelais and CHRU de Tours, Tours, France.

In patients chronically infected with hepatitis C virus (HCV) and in the HCV cell culture system (HCVcc), highly infectious virus particles have low to very low buoyant densities. The low density of infectious particles has been attributed to the association between HCV and lipoprotein components during viral morphogenesis. The resulting hybrid particles have been termed lipoviral particles. However, very little is known about the mechanisms underlying the association of viral and lipoprotein components. Using Huh7.5 cell lines we investigated the intracellular association of envelope proteins with ApoB and ApoE and the role of this association in the initiation of LVP morphogenesis. Confocal analyses on naïve, E1E2-transduced and HCVcc-infected cells showed that HCV glycoproteins, ApoE and ApoB are colocalized, predominantly in the endoplasmic reticulum. Co-immunoprecipitation assays revealed that ApoE, ApoB and HCV glycoproteins formed a proteic complex, early in the life cycle of HCV. We also found that HCV glycoproteins, apolipoproteins B and E were already associated to intracellular infectious viral particles. In addition, our results suggest that the proteins complex (apolipoproteins and HCV glycoproteins) was conserved in infectious viral particles present in the supernatant of infected Huh7.5 cells. Interestingly, an anti-ApoB Ab neutralized efficiently intracellular and extracellular infectious LVP entry. We propose that the complex formed by HCV E1E2, Apolipoproteins E and B may potentially initiate lipoviral particles morphogenesis.

HIGH RATE OF HBV SCREENING BEFORE RITUXIMAB ADMINISTRATION IN PATIENTS TREATED FOR HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES OR DISORDERS.

BRACHET G^{1,2}, MITRESKI S¹, TOURNAMILLE JF², GYAN E³, GOUDEAU A¹, GAUDY-GRAFFIN C¹

1-Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours

2-Unité de Biopharmacie Clinique et Oncologique, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours

3-Hématologie et Thérapie cellulaire, Centre Henry Kaplan, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours

Rituximab is used to treat non-Hodgkin's lymphoma (NHL), autoimmune disease as idiopathic thrombocytopenic purpura. Hepatitis B virus (HBV) reactivation is a crucial complication in this context. Reactivation largely occurs in patients with chronic hepatitis B but can also affect previously infected patients achieving HBV control with loss of HBsAg. An effective prophylaxis is available but depends on detection of HBV prior infection. We conducted a retrospective study including patients with hematological malignancies or disorders, who received their first injection of Rituximab during years 2011 or 2012 in a Cancer Center. Time between HBV screening and beginning of therapy was documented. The prevalence of patients having a previous contact with HBV or being chronically infected was estimated.

We included 106 patients: 67,9% were treated for non-Hodgkin Lymphoma, 19.8% for chronic lymphocytic leukemia, 8.5% for Waldenström, 1.9% for EBV induced lymphoproliferation, 0.9% for severe chemotherapy-resistant Hodgkin Lymphoma and 0.9% for Idiopathic Thrombotic Purpura. Mean age was 62. For 87.7% of patients, HBV testing was performed within 3 months before treatment and even earlier, between 3 and 6 months (3.8%). For remaining cases, HBV screening was done up to 6 months before the start of therapy (2.8%) or no history of screening was found (5.7%). HBcAb was positive in 3.8%. Among all, one patient had a chronic HBV infection. Rate of HBV screening was high in the studied population. It will help to find the most adapted follow-up and antiviral prophylaxis best effective antiviral prophylaxis in patients treated with rituximab and at risk of HBV reactivation.

DYNAMICS OF VIRAL EVOLUTION AND NEUTRALIZING ANTIBODY RESPONSE AFTER HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 SUPERINFECTION*

Chaillon A^{1,2}, Wagner G.A.¹, Hepler N.L.¹, Little S.J.¹, Kosakovsky Pond S.L.¹, Caballero G.³, Pacold M.E.⁴, Phung P.⁵, Wrin T.⁵, Richman D.D.^{1,3}, Wertheim J.O.¹ and Smith D.M.^{1,3}

¹University of California, San Diego, La Jolla, California, USA

²Inserm UMR U966, Tours, FRANCE

³Veterans Affairs San Diego Healthcare System, San Diego, California, USA

⁴Life Technologies, Foster City, California, USA

⁵Monogram BioSciences, Inc., San Francisco, California, USA

* article publié dans "Journal of Virology" - 2013 - PMID: 24049166 et présenté lors de la Conférence Internationale CROI (Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections) en février 2013 à Atlanta.

Background. Investigating the incidence and prevalence of HIV-1 superinfection is challenging due to the complex dynamics of two infecting strains. The superinfecting strain can replace the initial strain, be transiently expressed, or persist along with the initial strain in distinct or in recombined forms. Various selective pressures influence these alternative scenarios in different HIV-1 coding regions. We hypothesized that the potency of the neutralizing antibody (NAb) response to autologous viruses would modulate viral dynamics in *env* following superinfection in a limited set of superinfection cases.

Methods. HIV-1 *env* pyrosequencing data were generated from blood plasma collected from 7 individuals with evidence of superinfection. Viral variants within each patient were screened for recombination and viral dynamics evaluated using nucleotide diversity. NAb responses to autologous viruses were evaluated before and after superinfection.

Results. In 4 individuals, the superinfecting strain replaced the original strain. In 2 individuals, both initial and superinfecting strains continued to co-circulate. In the final individual, the surviving lineage was the product of inter-strain recombination. NAb responses to autologous viruses were weak or absent for 6 of the 7 recently infected individuals at the time of and shortly following superinfection that were detected within the first 2 years of HIV-1 infection. These 6 individuals had detectable on-going viral replication of distinct superinfecting virus in the *env* coding region. In the remaining case, there was an early and strong autologous NAb response, which was associated with extensive recombination in *env* between initial and superinfecting strains.

Conclusions. This extensive recombination made superinfection more difficult to identify and may explain why the detection of superinfection has typically been associated with low autologous NAb titers.

ÉTUDE DE LA REPONSE INFLAMMATOIRE PULMONAIRE INDUITE PAR ASPERGILLUS FUMIGATUS DANS UN MODELE MURIN.

DESOUBEAUX G^{1,2}, JOURDAN ML^{3,4}, THÉRON A¹, EL SANHARAWI I¹, HEM S⁵, BAILLY E¹, MARCHAND-ADAM S^{2,6}, VALERA L⁷, JARDIN B⁷, DIOT P^{2,6}, CHANDENIER J^{1,2}.

(1) CHU de Tours, Service de Parasitologie- Mycologie – Médecine Tropicale, Tours - FRANCE ; (2) Université François Rabelais, C.E.P.R. Unité INSERM U1100 / EA 63053, faculté de Médecine, Tours - FRANCE ; (3) CHU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, Tours - FRANCE ; (4) Université François Rabelais, INSERM U1069 / N2C, Faculté de Médecine, Tours - FRANCE ; (5) Plateforme de spectrométrie de masse protéomique - MSPP, Laboratoire de Protéomique Fonctionnelle, INRA UR1199, Montpellier - FRANCE ; (6) CHU de Tours, Service de Pneumologie, Tours - FRANCE ; (7) Sysdiag, CNRS UMR 3145 Bio-Rad R & D, Montpellier – France.

e-mail de l'auteur correspondant : guillaume.desoubeaux@univ-tours.fr

Introduction : Infection fongique opportuniste, l'aspergillose pulmonaire invasive (API) reste redoutée au sein des services hospitaliers hébergeant les patients immunodéprimés, comme ceux d'onco-hématologie, de réanimation ou de transplantation d'organes. Le diagnostic, tant clinique que biologique, en est actuellement délicat. Le développement de nouveaux marqueurs d'infection apparaît donc nécessaire pour une meilleure prise en charge de la maladie.

Matériel et méthodes : Nous avons recherché des biomarqueurs pulmonaires d'API en comparant, par électrophorèse bidimensionnelle, le protéome de lavages broncho-alvéolaires (LBA) de rats aspergillaires à celui de rats contrôles présentant une inflammation aspécifique induite par des lipopolysaccharides bactériens.

Résultats : Plus de 1500 spots étaient détectables sur les gels-2D issus des deux populations. Leur analyse comparative de variance (ANOVA) par le logiciel Progenesis SameSpots[®] (NonLinear Dynamics[™]) a mis en évidence une surreprésentation significative de 20 spots protéiques dans les LBA de rats immunodéprimés atteints d'API (P -value < 0,01 ; puissance > 0,8 ; q -value < 0,03). Par interrogation des banques de données NCBI UniProt[®] via MASCOT[®], le séquençage en spectrométrie de masse en tandem associée à la chromatographie liquide a identifié 16 protéines, toutes d'origine murine. Certaines d'entre elles étaient représentées au sein de plusieurs spots, mais sous différentes formes fragmentaires. Dans ce panel de protéines inflammatoires, une nous semblait particulièrement digne d'intérêt : l'*inter- α -trypsin inhibitor H4 heavy-chain* (ITIH4), caractérisée pour la première fois dans ce contexte. Des *western blot* ont confirmé la surabondance d'ITIH4 dans tous les LBA de rats aspergillaires, ainsi que son augmentation relative dans le sérum des mêmes animaux.

Conclusion : Ces résultats apportent un éclaircissement sur la réponse inflammatoire mise en place au cours de l'aspergillose, tout en suggérant l'intérêt potentiel d'ITIH4 comme éventuel nouveau biomarqueur d'API, seul ou associé aux outils diagnostiques déjà à notre disposition.

SURVEILLANCE OF PROSTHETIC JOINT INFECTIONS: INTERNATIONAL OVERVIEW AND NEW INSIGHTS FOR HOSPITAL DATABASES

Grammatico-Guillon L, *Service d'information médicale, d'épidémiologie et d'économie de la santé, CHRU de Tours, France*

Université François Rabelais, Tours, France

Rusch E, *Service d'information médicale, d'épidémiologie et d'économie de la santé, CHRU de Tours, France*

Université François Rabelais, Tours

Astagneau P, *Centre de coordination interregional pour le contrôle des infections nosocomiales (C-CLIN) Paris Nord*

Université Pierre et Marie Curie, École de médecine, Paris France

SUMMARY

Since the US National Nosocomial Infections Surveillance System was implemented in the 1970s, several countries have developed their own surveillance systems, all including surgical site infection (SSI) as a major target. However, the performance of such systems needs to be evaluated further in terms of data quality and cost-effectiveness. The current article presents a literature overview of the main strategies used for SSI surveillance worldwide, focusing on hip and knee arthroplasty infections, and discusses new issues for further development of surveillance databases.

Evidence for conservation of the V1/V2- but not V3- glycan-dependent neutralizing epitopes within divergent groups of HIV-1.

Morgand M, Braibant M, Bouvin-Pley M, Gong EY, Plantier JC, Simon F, Barin F

Inserm U966, Université François Rabelais and Bretonneau Hospital, Tours, France ; C Nicolle Hospital, Rouen, France ; St Louis Hospital, Paris, France

Background: HIV-1 has been classified into 4 groups: M, N, O and P. Cross-group broadly neutralizing antibodies have been detected in some HIV-1 infected individuals. The aim of this study was to analyze the sensitivity to neutralization of a panel of non-M primary isolates (PI) to a series of highly potent human monoclonal broadly neutralizing antibodies (HuMoNabs).

Material & methods: The sensitivity to neutralization of 14 non-M HIV-1 PIs (12 O, 1 N, and 1 P) was analyzed in neutralization assays using TZM-bl cells. The panel of HuMoNabs was composed of PG9, PG16, PGT121, PGT128, PGT145, VRC01 and VRC03. These HuMoNabs were isolated from patients infected by HIV-1 group M variants. PG9, PG16 and PGT145 target a glycan-dependent epitope located in the V1-V2 region of gp120 whereas PGT121 and PGT128 target a glycan-dependent epitope located in the V3 region. VRC01 and VRC03 target the CD4 binding site (CD4bs) of gp120.

Results: Three group O PIs were neutralized by PG9 and PG16 (IC_{50} range = 0.23-7.62 $\mu\text{g/mL}$) and a fourth group O PI was neutralized by PG9 only (IC_{50} = 9.39 $\mu\text{g/mL}$). The group N PI (YBF30) was highly sensitive to neutralization by both PG9 (IC_{50} = 0.28 $\mu\text{g/mL}$) and PG16 (IC_{50} < 0.12 $\mu\text{g/mL}$), but resistant to other HuMoNabs. The group P PI (RBF168) was neutralized by PGT145 only (IC_{50} = 0.13 $\mu\text{g/mL}$). None of the non-M PIs was neutralized at the highest concentration tested (10 $\mu\text{g/mL}$) by the HuMoNabs targeting the V3 glycan-dependent epitopes, PGT121 and PGT128. Similarly the HuMoNabs VRC01 and VRC03 that target the CD4bs did not neutralize any of the non-M isolates at the concentration tested.

	YBF 30	N1.FR.2011	BCT02	BCF03	BCF108	RBF125	RBF189	YBF 16	YBF26	YBF32	YBF35	YBF37	YBF 38	YBF 39	RBF208	RBF168
Group	N	N	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	M/O rec.	P
PGT121	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
PGT128	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
PGT145	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	0.13
PG9	0.28	>10	0.23	9.39	>10	>10	4.99	>10	>10	1.6	>10	>10	>10	>10	>10	>10
PG16	<0.12	>10	6.1	>10	>10	>10	7.62	>10	>10	1.2	>10	>10	>10	>10	>10	>10
VRC01	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	3.64	>10
VRC03	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

Conclusion: Our data suggest that the V1-V2 glycan-dependent neutralizing epitopes targeted by the HuMoNabs PG9/PG16 and PGT145 are conserved within the divergent groups of HIV-1. It makes them potentially interesting targets for vaccine strategies.

PREVALENCE AND EXPRESSION OF THE *FRZ-LIKE* CARBOHYDRATE METABOLIC OPERON OF *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

Patron K, Camiade E, Gilot P and Mereghetti L

UMR 1282-INRA, Equipe 5 « Bactéries et Risque Materno-fœtal », 1 Université François Rabelais, Faculté de Médecine, 10 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours ; 2 INRA

Streptococcus agalactiae is a leading cause of neonatal morbidity and mortality, and is also a pathogenic emergent of immunocompromised adults. The implication of *S. agalactiae* in a wide variety of diseases at numerous hosts underlines its capacity of adaptation to diverse environmental conditions.

A recent study, realized by Rouquet et al. in 2009, showed that the *frz* carbohydrate metabolic operon constitutes a sensor system allowing *Escherichia coli* to activate, according to the environment, some of its adaptation and virulence genes. We highlighted that an equivalent operon, named *frz-like*, is present in the genome of some *S. agalactiae* strains. This operon is composed of 7 genes that code for a MtlR family transcriptional activator (*frzR*), a PTS transport (*ptsABC*) system, and three enzymes that are potentially involved in the non-oxidative pentose phosphate pathway.

We first studied the prevalence of *frz-like* within 249 *S. agalactiae* strains isolated from human (gastric fluid, blood, vaginal carriage and cerebral spinal fluid (CSF) and animal (bovine) samples that are representative of the *S. agalactiae* genetic diversity. We showed that *frz-like* is absent in all the invasive strains causing meningitis belonging to the Clonal Complexes 17, 19 and 23. So, we highlighted that *frz-like* was acquired during the evolution by strains having clonal complexes 1, 10 and 12.

To determine the role of this operon in *S. agalactiae*, deletion mutants of *frzR*, *ptsABC* and the genes coding for the 3 enzymes were obtained in *S. agalactiae* A909. These mutants will allow us i) to compare the transcription of some virulence factors in various conditions and ii) to define what is the sugar transported by the PTS system and metabolized by the *frz-like* operon enzymes.

Neurologie

CORTICAL LESION STIMULATES ADULT SUBVENTRICULAR ZONE NEURAL PROGENITOR CELLS PROLIFERATION AND MIGRATION TO THE SITE OF INJURY

Ballout N., Saha B., Peron S., Murray K., Jaber M., Gaillard A.

INSERM U1084, Experimental and Clinical Neurosciences Laboratory, Cellular Therapies in Brain Diseases group, Poitiers, F-86022, France; University of Poitiers, Poitiers, F-86022, France.

RESUME :

The subventricular zone (SVZ) is the principal neurogenic niche present in the adult non-human mammalian brain. Neurons generated in the SVZ migrate along the rostral migratory stream to reach the olfactory bulb. Brain injuries stimulate SVZ neurogenesis and direct migration of new progenitors to the sites of injury. To date, cortical injury-induced adult SVZ neurogenesis in mice remains ambiguous and migration of neural progenitors to the site of injury has not been studied in detail. Here we report that aspiration lesion in the motor cortex induces a transient, but significant increase in the proliferation as well as neurogenesis in the SVZ. New neural progenitors migrate ectopically to the injured area with the assistance of blood vessels and reactive astrocytes. The SVZ origin of these progenitors was further confirmed using lentiviral transduction. In addition, we show that astrocyte-assisted ectopic migration is regulated by CXCR4/SDF-1 signaling pathway. Finally, upon reaching the lesion area, these progenitors differentiate mainly into glial cells and, to a lesser extent, mature neurons. These data provide a detailed account of the changes occurring in the SVZ and the cortex following lesion, and indicate the potential of the endogenous neural progenitors in cortical repair.

DELAYING CORTICAL TRANSPLANTATION IMPROVES THE ANGIOGENESIS, SURVIVAL AND CONNECTIVITY OF GRAFTS

Droguerre M. (1), Péron S. (1), Debarbieux F. (2), Weber P. (2), Rougon G. (2), Jaber M. (1), Gaillard A.(1)

(1) Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, INSERM U 1084 Université de Poitiers, France

(2) Institut de Biologie du Développement de Marseille-Luminy, UMR CNRS-Université 6216, Marseille, France

RESUME : Damage to the adult motor cortex leads to severe deficits in motor function. One approach for overcoming the generally limited capacity of the mature central nervous system to regenerate axons in response to cell loss is the transplantation of embryonic neurons. One crucial issue for the transplanted cells survival is the provision of oxygen and metabolic compound. Grafted tissue survival also depends on interaction between host and fetal endothelial cells allowing the establishment of a functional vascularization.

Here, we examined the effect of a delay in transplantation after occurrence of a cortical lesion on blood vessels evolution and grafted cells outcome. To this end we have combined the use of genetically modified mice over-expressing GFP under the control of β -actin promoter as embryonic tissue donor and in vivo 2-photon microscopy in order to study the temporal and spatial patterns of blood vessels relatively to the dynamic of the graft axonal outgrowth. Cell proliferation, survival and connectivity of the grafted cells were also determined at different time points by post-mortem immunostaining.

Our data show that the blood supply to the cortical tissue transplanted without a delay originated primarily from the regenerated host vessels. By contrast, the microvasculature of the cortical tissue transplanted into the lesion cavity with a delay of 1 week arise both from the transplanted tissue and sprouting of the host vessels. A delay between lesion and transplantation was also shown to enhance grafted cell proliferation, survival as well as the density of the projections developed by grafted neurons.

Taken together these results show that introducing a delay between the lesion and transplantation can significantly enhance graft vascularization, survival and the establishment of appropriate transplant-to-host projections and may thus have a beneficial impact on repair and recovery.

Existe-t-il un lien entre l'inflammation périphérique et le statut cognitif au diagnostic de la maladie d'Alzheimer ?

Adrien JULIAN^{1,2,3}, Emilie DUGAST^{3,4}, Stéphanie RAGOT⁴, Pierre KROLAK-SALMON⁵, Gilles BERRUT⁶, Thierry DANTOINE⁷, Caroline HOMMET⁸, Olivier HANON⁹, Guylène PAGE³, Marc PACCALIN^{1,3,4,10}

1Poitiers University Hospital, Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, 86021 France, 2Poitiers University Hospital, Department of Neurology, 86021 France, 3EA3808-Cibles moléculaires et Thérapeutique de la maladie d'Alzheimer (CiMoTheMA), University of Poitiers, 86022 France, 4Poitiers University Hospital, CIC-P802, 86021 France, 5Lyon University Hospital, Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, 69229 France, 6Nantes University Hospital, Department of Geriatrics, 44035 France, 7Limoges University Hospital, Department of Geriatrics, 87042 France, 8Tours University Hospital, Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, 37044 France, 9Paris Broca University Hospital, Department of Geriatrics, 75013 France, 10Poitiers University Hospital, Department of Geriatrics, 86021 France.

RESUME :

A côté de la dégénérescence neurofibrillaire et des plaques amyloïdes, il existe un processus inflammatoire décrit dans la maladie d'Alzheimer (MA) au niveau central et en périphérie. Ce processus implique différents acteurs de l'inflammation dont les cytokines et chemokines. Nous avons focalisé l'étude sur les interleukines IL-1 β , IL-6, TNF α et la chemokine CCL5 (Rantes) dans le cadre d'une étude multicentrique dont l'objectif principal était de quantifier le taux plasmatique des médiateurs de l'inflammation et de chercher une corrélation avec les scores cognitifs chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer au moment du diagnostic. Une étude ancillaire menée sur Poitiers, quantifiait également le taux des médiateurs au sein des cellules mononucléées, ainsi que l'activation de la protéine kinase PKR. Cette étude s'inscrivait dans le cadre d'un programme hospitalier de recherche clinique (PHRC CytoCogMa).

Nous avons inclus des patients atteints de MA, selon les critères NINCDS-ADRDA avec un score MMSE compris entre 16 et 26. Les patients à l'inclusion étaient naïfs de traitement symptomatique de la MA. Un taux de Protéine C Réactive > 10 mg/l, une pathologie inflammatoire ou la prise de traitement anti-inflammatoire étaient des critères d'exclusion. L'évaluation cognitive était réalisée à partir des tests MMSE et ADAScog.

Au total 125 patients (95 femmes et 30 hommes) dont 42 dans l'étude ancillaire de Poitiers ont été inclus sur une période de deux ans. L'âge moyen était de 79.6 \pm 6.7 ans, les scores MMSE moyen et ADAS-cog moyen au diagnostic, étaient respectivement de 21.3 \pm 2.7 et 16 \pm 5.8. Les taux plasmatiques des marqueurs étaient parfois indétectables (IL-1), ou avec une grande variabilité. Aucune corrélation entre les valeurs plasmatiques des médiateurs inflammatoires et le score MMSE au moment du diagnostic n'a été retrouvée. De même, aucune corrélation n'a été retrouvée avec le score ADAScog. Aucune corrélation entre les valeurs dans le milieu extracellulaire ou les lysats des cellules mononucléées et les scores cognitifs n'a été retrouvée. L'activation de PKR dans les cellules mononucléées était très faible, aucune corrélation entre les différentes formes de PKR et les scores cognitifs n'a été retrouvée.

À notre connaissance, il s'agit de la première étude de cohorte prospective multicentrique ciblant le rôle de l'inflammation périphérique dès le diagnostic de la maladie d'Alzheimer. Le PHRC se poursuit avec un suivi évolutif de deux ans et permettra de préciser d'une part l'évolution des marqueurs périphériques de l'inflammation avec l'évolution de la maladie, d'autre part le caractère prédictif de ces marqueurs sur la cinétique d'évolution de la maladie.

Mots clés : Maladie d'Alzheimer, inflammation, cytokines, PKR, statut cognitif

MOLECULAR GUIDANCE OF DOPAMINERGIC CELLS TRANSPLANTED IN AN ANIMAL MODEL OF PARKINSON'S DISEASE

Kalaani^a J., Roche^a J., Hamade^b E., Jaber^a M., Badran^b B., Gaillard^a A., Prestoz^a L.

a. INSERM U-1084, Experimental and Clinical Neurosciences Laboratory, Cellular Therapies in Brain Diseases group; University of Poitiers, F-86022 Poitiers-France.

b. Doctoral School of Sciences and Technology (DSST-PRASE), Lebanese university (UL), Hadath-Lebanon

Introduction: Parkinson's disease is a progressive, neurodegenerative disease, characterized by selective degeneration of mesencephalic dopaminergic (DA) neurons in the substantia nigra pars compacta. Recent studies (Gaillard et al, 2007; Thompson et al, 2009) have shown that intra-nigral grafts of fetal dopaminergic neurons are able to develop projections to the striatum, re-establishing the damaged nigrostriatal pathway, and increasing striatal dopamine levels. This suggests that guidance molecules (GM) exist in the adult host brain and allow the dopaminergic axons to connect to their final targets.

Materials and methods: To identify the guidance molecules involved in the repair of the nigrostriatal pathway, five brain regions in the vicinity of this path were extracted from adult mouse brain at different stages after 6-OHDA lesion of the substantia nigra and graft of ventral mesencephalon-derived fetal cells. One day and seven days after the lesion or the transplantation, brains were removed, and regions including striatum, nucleus accumbens, thalamus, medial forebrain bundle, and ventral mesencephalon were dissected from 200 µm thick sagittal sections. Then quantitative real time PCR was carried out to quantify the variation of expression of these molecules, where two housekeeping genes, GAPDH and cyclophilinA, were used as controls to normalize the level of expression of GM mRNAs.

Results: Our results show that expression of several guidance molecules varies in different regions of the dopaminergic pathway after lesion and transplantation. In particular our qPCR results show an increase in expression of Sema3A molecule one day post lesion in the MFB region in comparison to control. Knowing that Sema3A is expressed during development in the mid line region, and is important for guiding DA projections through the MFB (Torre et al., 2010), this would suggest possible implication of this molecule in the re-establishment of nigrostriatal pathway. In addition Sema3F expression increases in the nucleus accumbens particularly at day 7 post transplantation. Sema3F is a bifunctional cue with both chemorepulsion and chemoattraction effect, required for guidance, fasciculation, and rostrally oriented growth of DA axons (Kolk et al., 2009), this would suggest a possible chemo-attractive role for sema3F as the transplanted projections approach the striatum, thus contributing to the guidance of axons towards this region.

Conclusion: Thus upon lesion and transplantation the expression of specific guidance molecules along the nigrostriatal pathway is modified and could possibly contribute to the guidance of the transplanted axonal projections towards the striatum. Next we will test if the absence or overexpression of these molecules could modulate the connection of grafted axonal projections, and may enhance the efficacy of the graft.

ETUDE DES FACTEURS PREDICTIFS DU PASSAGE A L'ANAPLASIE DES GLIOMES DE GRADE II DE L'OMS.

Larrieu D^{1,2}, Karayan-Tapon L¹, Guilhot J³, Milin S⁴, Duchesne M⁴, Marquant C¹, Godet J⁴, Fromont-Hankard G⁴, Taillandier L², Wager M⁵

¹INSERM U935 Laboratoire de Cancérologie Biologique, CHU Poitiers

²Service de Neurologie, CHU Poitiers

³INSERM CIC 0802, CHU Poitiers

⁴Service d'Anatomopathologie, CHU Poitiers

⁵Service de Neurochirurgie, CHU Poitiers

Introduction

Les gliomes diffus de l'adulte de grade II (OMS) sont communément considérés comme étant des tumeurs de bas grade. Cependant leur genèse est complexe, avec probablement différents sous-groupes, expliquant l'hétérogénéité manifeste de cette entité tumorale. La mesure de leur vitesse de croissance atteste en effet d'une réelle variabilité interindividuelle. Leur passage à l'anaplasie est corrélé d'une part à leur volume et plus encore à la vitesse d'accroissement de celui-ci. Parmi les facteurs biologiques, la mutation du gène BRAF V600E a récemment été identifiée au sein des gliomes de l'adulte. Rare au sein des gliomes de grade II, sa valeur pronostique n'est pas connue à ce jour.

Nous avons cherché dans ce travail à identifier les facteurs biologiques prédictifs du passage à l'anaplasie, incluant la recherche des mutations du gène BRAF, en relation avec le cortex d'origine présumé de ces gliomes (cortex transitionnel versus autres) et leur contact avec la zone sous-ventriculaire.

Patients et Méthode

Il s'agit d'une étude rétrospective. 87 patients ont été inclus de janvier 2000 à avril 2012. Les facteurs pronostiques habituels reconnus ont été recherchés. Les variables cliniques et d'imagerie ont été recueillies de façon rétrospective. Les recherches de la codélétion 1p19q, des mutations des gènes IDH1 et 2 et de la surexpression nucléaire de p53 ont été réalisées respectivement par analyse de fragments par PCR, pyroséquençage ou séquençage direct et IHC. La recherche de la mutation BRAF V600E a été réalisée par pyroséquençage. Une analyse statistique univariée puis multivariée a pu être réalisée sur ces différents paramètres.

Résultats

En analyse univariée, le statut mutationnel des gènes IDH1 et 2, la codélétion 1p19q et l'expression de p53 semblent potentiellement prédictifs de la survenue de l'anaplasie. Cependant, seule l'absence de mutation des gènes IDH1 et 2 prédit un passage à l'anaplasie précoce après ajustement sur les autres variables en analyse multivariée ($p=0,0007$). Le contact avec la zone sous-ventriculaire, bien que significativement associé avec l'existence d'une mutation IDH1/2 ($p=0,025$), n'apparaît pas comme prédictif du passage à l'anaplasie, de même que le cortex d'origine présumé. Enfin, aucune tumeur de notre série n'apparaît mutée sur le gène BRAF.

Conclusion

Le statut mutationnel des gènes IDH1 et 2 apparaît comme un facteur pronostique fort sur le passage à l'anaplasie des tumeurs de grade II de l'OMS. Une association significative est retrouvée entre l'existence d'une mutation sur l'un de ces deux gènes et le contact tumoral avec la zone sous-ventriculaire, zone de neurogenèse. Enfin, le statut mutationnel de BRAF apparaît sauvage pour l'ensemble de notre série.

Reconstruction of the nigrostriatal pathway by intranigrale transplantation of stem cells derived dopamine neurons

Tristan Rochelle, Sebastien Brot, Bhaskar Saha, Sophie Peron, Mohamed Jaber, Afsaneh Gaillard

INSERM U1084, Experimental and Clinical Neurosciences Laboratory, Cellular Therapies in Brain Diseases group, Poitiers, F-86022, France; University of Poitiers, Poitiers, F-86022, France.

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by the loss of the nigrostriatal dopaminergic (DA) neurons. Cell replacement therapy has been proposed as a possible mean to replace lost DA neurons in PD. In most studies the transplanted cells have been placed within the target sites, the striatum, and not within the lesioned site, the substantia nigra (SN), as the adult nigrostriatal pathway was thought to constitute a non-permissive environment for long distance axonal outgrowth of transplanted embryonic neurons. We have previously shown that ventral mesencephalon (VM) cells obtained from mouse fetuses grafted into the lesioned SN of adult mice, can survive, differentiate into dopamine neurons, and most importantly develop significant contingents of projections through the medial forebrain bundle to the lesioned striatum. Intranigral transplants increase striatal dopamine levels and restore normal behavior.

Transplantation of fetal DA neuron is a promising approach for treating PD, however, use of fetal neurons raises ethical concerns and limitations. Embryonic stem cells represent possible alternative sources for transplantable cells. We have undertaken a study aimed at obtaining DA neurons from mouse embryonic stem cells (mESC). We have shown that mESC can be differentiated in vitro into neurons exhibiting major phenotypic characteristics of the DA neurons. We next investigated the therapeutic potential of mESC derived DA neurons in an animal model of PD. When grafted into the lesioned SN of adult mice, these cells can survive, differentiate into DA neurons, and develop projections to the striatum. Altogether these data indicate that grafted ESC-derived DA neurons display robust integration similar to those of fetal DA neurons. Further study will be directed towards functional properties of these ESC-derived DA neurons.

CONTROL OF MOTOR CORTICAL LOCAL NETWORK FOLLOWING DOPAMINE D2 RECEPTOR ACTIVATION IN MICE.

Vitrac C.^{1,2*}, Péron S.^{1,2}, Frappé I.^{1,2,3}, Fernagut P.O.^{4,5}, Jaber M.^{1,2,3}, Gaillard A.^{1,2} and Benoit-Marand M.^{1,2}

1, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Clinique, INSERM, U1084, Poitiers F-86022, France

2, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Université de Poitiers, Poitiers F-86022, France

3, CHU de Poitiers, Poitiers, F-86021, France

4, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, Université de Bordeaux Bordeaux, F-33000, France

5, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, CNRS, Bordeaux, F 33000 France

Numerous studies have established a key role for dopamine in the prefrontal cortex regarding decision making and goal directed behaviours. However, the involvement of dopamine in motor cortical network is still poorly understood. Functional studies suggest that dopamine increase pyramidal neurons excitability in the motor cortex. A recent study supports the hypothesis that this effect could be due to a decrease in the inhibitory drive through activation of D2 receptors on interneurons.

In order to directly address this hypothesis, we used in vivo extracellular recordings of neurons in the motor cortex of C57 mice anesthetized with Urethane (1.8 mg/kg). Glass recording electrodes filled with 0.4M NaCl and 1% Neurobiotin were lowered in the motor cortex. Since most of the dopamine projections to the motor cortex reach deep layers, we recorded neurons 700 to 1000 μm under the cortical surface. All recorded neurons were injected with neurobiotin by passing current pulses through the recording electrode. Brains were fixed, collected and processed for fluorescent immunohistochemistry after each recording session. The different neuronal populations were identified by their firing characteristics, morphology and the expression of phenotypic markers. Neurobiotin stained neurons were revealed with neutravidin and interneurons were identified using GABA immunohistochemistry. D2 receptor activation by quinpirole (0.5 mg/kg, i.p.) induced a significant increase of pyramidal neurons mean firing rate from 4.2 ± 2.7 Hz to 34.0 ± 14.0 Hz. This increase was statistically significant ($p < 0.05$) 30 minutes after drug injection compared with saline injection. This result directly demonstrates the hypothesis that dopamine favours pyramidal neurons excitability in motor cortex through D2 receptor activation.

RADIOLABELING AND INITIAL EVALUATION OF [¹¹¹IN]AML-1, A NEW PROBE FOR SPECT IMAGING OF AMYLOID DEPOSITS.

Arlicot N¹, Fourmy H¹, Martin A^{2,3}, Vercouillie J¹, Geraldès C³, Toth, E², Guilloteau D¹.

1- Inserm U930; Université François Rabelais de Tours; CHRU de Tours, Tours, France

2- Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Orléans, France

3- Department of Life Sciences, Centre of Neurosciences and Cell Biology (CNC) and Coimbra Chemistry Centre, University of Coimbra, Portugal

Objectives: To develop a novel indium 111 chelated Pittsburgh compound B (PiB) derivative (AML-1) as a potential SPECT imaging agent for β -amyloid.

Methods: [¹¹¹In]AML-1 was prepared by treating the precursor in isotonic HEPES pH 5.5 buffer with a solution of ¹¹¹InCl₃, in order to obtain 1:1 ¹¹¹In³⁺ complexes (with 10% precursor excess). Complexation was performed by heating the mixture at 100°C for 30 min. The efficiency of radiolabeling with ¹¹¹In³⁺ was controlled by thin layer chromatography (ITLC-SG / MeOH:H₂O:NH₄OH (2:4:0.1)); in vitro stability of the complex was also investigated. Biodistribution studies were carried out on adult male Swiss mice weighing 36±1 g. A saline solution of [¹¹¹In]AML-1 (2 – 2.5 MBq/100 μ L) was intravenously injected through the penis vein. The mice (n=5 per group) were euthanized by decapitation 2 min or 30 min after radioligand injection, and organ samples, including blood, cortex, cerebellum, heart, liver, lung, kidney, spleen and intestine were quickly removed and weighed. The radioactivity was measured with an automated γ -counter, and the percentage injected dose per gram of wet tissue (%ID/g) was calculated by comparison to a diluted standard solution derived from the initial injected solution.

Results: Quality control indicated that a >97% radiochemical purity of the complex was achieved. Moreover, the complex remained stable with a degradation rate of 2% up to 22h after radiolabeling. In mice, kidney displayed the highest uptake of activity of all organs at 30min post-injection (7.65 %ID/g), suggesting a urinary elimination of the activity. In the brain, the %ID/g was 0.36 and 0.11 at 2 and 30min post-injection in cortex, and 0.50 and 0.21 in cerebellum, respectively. [¹¹¹In]AML-1 demonstrated a 2 min-to-30 min brain radioactivity ratio of 3.3 in cortex, reflecting interesting brain entry and clearance from normal brain tissue with no amyloid deposits. This blood brain barrier crossing of [¹¹¹In]AML-1 is also in accordance with the cerebral biodistribution of other SPECT radioligand for brain imaging, including PE2I and CLINDE, developed for molecular imaging of the dopaminergic system and neuroinflammation, respectively.

Conclusions: [¹¹¹In]AML-1 may be a potential SPECT A β plaques imaging agent and further study is needed in relevant rodents transgenic models surexpressing A β aggregates.

Research Support: This work was supported in part by the European Actions COST TD1007 “PET-MRI”.

A rare motor neuron deleterious missense mutation in the *DPYSL3 (CRMP4)* gene is associated with ALS

Blasco H^{1,2}, Bernard-Marissal N³, Vourc'h P^{1,2}, Guettard YO¹, Sunyach C³, Augereau O², Khederchah J², Mouzat K⁴, Antar C^{1,2}, Gordon PH⁵, Veyrat-Durebex C^{1,2}, Besson G⁶, Andersen PM⁷, Salachas F⁵, Meininger V⁵, Camu W⁸, Pettmann B³, Andres CR^{1,2}, Corcia P^{1,9} and the French ALS study group¹⁰.

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

2- Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, France

3- Université de la Méditerranée, The Mediterranean Institute of Neurobiology, INMED, UMR S901, 13009, Marseille, France

4- Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes, 30000, Nîmes, France

5- Département des Maladies du Système Nerveux, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital de la Salpêtrière, 75000, Paris, France

6- Centre SLA, Service de Neurologie, CHU Grenoble, 38000 Grenoble, France

7- Department of Clinical Neuroscience, Umeå University, 90814 Umeå, Sweden

8- Centre SLA, Hôpital Gui-de-Chauliac, CHU Montpellier, 34000 Montpellier, France

9- Centre SLA, Service de Neurologie et Neurophysiologie Clinique, CHRU de Tours, France

10- French ALS study group

The dihydropyrimidinase-like 3 (DPYSL3) or Collapsin Response Mediator Protein 4a (CRMP4a) expression is modified in neurodegeneration and is involved in several ALS-associated pathways including axonal transport, glutamate excitotoxicity and oxidative stress. The objective of the study was to analyze CRMP4 as a risk factor for ALS.

We analyzed the *CRMP4* gene in French ALS patients (n=468) and matched-controls (n=394) We subsequently examined a variant in a Swedish population (184 SALS, 186 controls), and evaluated its functional effects on axonal growth and survival in motor neuron cell culture.

The *rs147541241:A>G* missense mutation occurred in higher frequency among French ALS patients (Odds ratio = 2.99) but the association was not confirmed in the Swedish population. *In vitro* expression of mutated *CRMP4* in motor neurons reduced axonal growth and accelerated cell death compared to wild type protein.

Thus, the association between the *rs147541241* mutation and ALS was limited to the French population, highlighting the geographic particularities of genetic influences (risks, contributors). The identified variant appears to shorten motor neuron survival through a detrimental effect on axonal growth and *CRMP4* could act as a key unifier in transduction pathways leading to neurodegeneration through effects on early axon development.

Rôle de la SUMOylation dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA) associée à des mutations du gène *SOD1*

Audrey Dangoumau¹, Charlotte Veyrat-Durebex^{1,2}, Hélène Blasco^{1,2}, Marie-Amélie Papon¹, Philippe Corcia^{1,3}, Christian R. Andres^{1,2}, Patrick Vourc'h^{1,2}

¹ UMR INSERM U930, Université François-Rabelais, Tours, France ² CHRU de Tours, Laboratoire de Biochimie et de biologie moléculaire, Tours, France ³ CHRU de Tours, Service de Neurologie, Tours, France

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative de l'adulte caractérisée par une mort sélective des motoneurons dans le cerveau et la moelle épinière. Les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la SLA sont mal compris. Ils impliquent des facteurs génétiques et environnementaux. Un lien possible entre ces facteurs est la formation d'agrégats protéiques immunoréactifs pour la protéine SUMO dans les motoneurons de patients SLA. Plusieurs observations suggèrent que la SUMOylation, qui consiste en la modification post-traductionnelle de protéines cellulaires par fixation à la protéine SUMO, jouerait un rôle dans la physiopathologie de la SLA.

Plusieurs gènes impliqués dans la SLA codent des protéines contenant des sites potentiels de SUMOylation (Dangoumau *et al.*, 2013). *SOD1*, gène muté dans la SLA, contient 1 site de SUMOylation au niveau de la lysine 75. Dans une 1^{ère} étude, nous avons analysé les conséquences de plusieurs mutations de *SOD1* sur la formation d'agrégats dans la lignée motoneuronale, NSC34. L'analyse des cellules NSC34 48 heures après transfection a montré la formation d'agrégats intracellulaires pour trois mutants liés à la SLA, *SOD1*^{A4V}, *SOD1*^{G93C} et *SOD1*^{V31A}, cette dernière étant une nouvelle mutation que nous avons identifiée chez un patient SLA (Dangoumau *et al.*, 2013). De manière intéressante, nous avons observé une diminution de la formation d'agrégats pour les doubles mutants non SUMOylables car mutés pour la lysine 75 (*SOD1*^{A4V-K75R}, *SOD1*^{G93C-K75R} et *SOD1*^{V31A-K75R}). Ces résultats indiquent que le blocage du site de SUMOylation de formes mutées pathogènes de *SOD1* empêche la formation des agrégats dans les motoneurons. Une seconde étude sur l'effet de la formation d'agrégats sur le voie de la SUMOylation, nous a permis d'observer que l'expression des 3 formes mutées est associée à une diminution de SUMO1 libre dans les cellules. Cette diminution n'est pas due à une différence d'expression des gènes *SUMO1*, *SENPI1*, *2*, *6* et *7*, mais à une séquestration par les agrégats de la protéine SUMO1.

Nous étudions actuellement si bloquer la SUMOylation de *SOD1* réduit la formation d'agrégats et permettrait d'augmenter la survie des motoneurons mutés *SOD1*. Ces études montreront si la SUMOylation est un mécanisme de protection ou de mort des motoneurons en réponse aux facteurs génétiques impliqués dans la SLA.

A NOVEL DIFFUSION PHANTOM IMITATING BRAIN WHITE MATTER FOR MAGNETIC RESONANCE DIFFUSION WEIGHTED IMAGING AND DIFFUSION TENSOR IMAGING.

FILIPAK Isabelle^a, DESTRIEUX Christophe^a, COTTIER Jean-Philippe^{a,b}, BARANTIN Laurent^a

^a UMR INSERM U 930, Université François Rabelais, Tours, France

^b Service de Neuroradiologie, Groupement Imagerie Médicale, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, France

Introduction

To investigate brain microarchitecture and white fibres organization, Diffusion MR Imaging family, Diffusion Weighted Imaging (DWI) and Diffusion Tensor Imaging (DTI) are applied as non-invasive MR techniques based on water diffusion. Quantitative information can be extracted, such as Apparent Diffusion Coefficient (ADC), fractional anisotropy (FA), or mean diffusivity (MD). An indirect modelling of white fibres organization is possible using tractography algorithms. The lack of an available phantom approaching 3D anatomical structure of the white matter, and exploring different diffusion properties, make that the validation is not optimal.

In this study, we developed a phantom simultaneously imitating 3D white matter organization, and allowing the measure of several diffusion parameters.

Material & methods:

The 3D skeleton has 6 slices reproducing isotropic (slice 1) and anisotropic (slices 2-6) properties. Slice 1 is composed of 3 compartments of sucrose solutions with various concentrations; one of hydro-alcoholic gel and another of pure water. Slice 2 is composed of 5 longitudinal bundles. Different U-shape bundles were placed in slice 3. The slice 4 imitates different angular bundles. The slice 5 includes 2 crossing bundles and 1 S-shape. The last slice, 6, contains a fan shape bundle. Dyneema and nylon fibers were used to mimic fibres bundles.

This work was performed with a 3T MR scanner using the same parameters used for clinical practice.

We first measured diffusion data (FA,MD) on the artificial fibres and compared the results across fiber material and shapes. The diffusion tensor data was then calculated for each voxel and tracts were reconstructed using deterministic algorithms (Interpolated Streamline, FACT, tensorline).

Results:

In dyneema fiber bundle, FA/MD were 0.45 ± 0.05 and $1.66 \times 10^{-3} \pm 0.08$ mm²/s. In nylon fiber, FA/MD were 0.19 ± 0.06 and $2.12 \times 10^{-3} \pm 0.1$ mm²/s. FA/MD values were independent from fiber shape ($p > 0.05$) and imaging session. In order to evaluate the performance of deterministic tractography algorithms, all fibers were analyzed. It was possible to reconstruct fibres bundles from the used algorithms. Reconstruction of bundles from dyneema fibers was qualitatively better (slices #2 and #3). All angular fibers could be reconstructed, but decrease of fiber angulation below 90° induced a lower number of detected bundle tracks (Slice #4). S-shape fiber was not fully reconstructed (Slice #5). Single fiber trajectory was not detected, but the gross fan shaped appearance of the bundle was correctly reconstructed (Slice #6).

Conclusion:

With this phantom: (1) FA and MD were similar to values obtained in literature for similar synthetic material, (2) Tractography was doable on the phantom and length of detected fibers varied depending of the used material and algorithm.

This new phantom significantly expands the potential of quality control in diffusion imaging to improve the accuracy of diffusion data and tractography in clinical practice. It indeed provides both isotropic and anisotropic data in the same scanning session and mimics several 3D configuration of white matter bundles.

INFARCTUS CEREBRAL : QUELLE QUALITE DE VIE A TROIS MOIS POUR LES PATIENTS APHASIQUES THROMBOLYSES ?

IMBERT, M. ; DIARD-DETOEUF, C. ; MUSIKAS, A.; GAUDRON-ASSOR, M. ; DE TOFFOL, B. DEBIAIS, S.

CHRU Bretonneau à Tours, service de neurologie

Introduction : Les séquelles de l'infarctus cérébral (IC) sont multiples et fréquentes, parmi elles les séquelles non motrices sont souvent mésestimées. Nous nous sommes interrogés sur l'impact de l'aphasie sur la qualité de vie des patients thrombolysés au CHRU de Tours entre juin 2012 et janvier 2013.

Type de l'étude : Il s'agit d'une étude observationnelle, prospective et monocentrique avec inclusion consécutive.

Patients / matériel et méthodes : Notre avons inclus les patients thrombolysés au sein de l'UNV de Tours de juin 2012 à janvier 2013, en excluant les patients non francophones, gauchers, ayant des troubles cognitifs antérieurs et n'habitant pas en région centre. Sur les 88 patients initialement thrombolysés, 50 ont pu être évalués à 3 mois.

Les patients étaient revus en consultation médicale systématique trois mois après l'AVC (mesure du déficit neurologique résiduel par échelles du NIHSS et de Rankin). Une échelle de qualité de vie (SIS 3.0) et de dépression (Mini 5.0) étaient également systématiquement utilisées. Nous avons complété cette consultation médicale par une consultation orthophonique au cours de laquelle nous avons évalué le langage (MT-86, version courte) ainsi que la communication (ECVB). L'indice de Barthel et les IADL nous ont permis de faire un point sur l'autonomie. Enfin, pour les patients non aphasiques, deux tests d'efficacité cognitive globale (MMSE et MoCA) ont été proposés. Lorsque les patients étaient accompagnés, nous avons proposé l'échelle du fardeau de l'aidant (Zarit) à leur proche.

Résultats : Afin de mettre en évidence le rôle des troubles du langage, nous avons comparé les scores obtenus par les patients aphasiques (N=25, âge médian : 79 ans, NIHSS médian : 15) à ceux des patients non aphasiques (N=25, âge médian : 77 ans, NIHSS médian : 8). Les patients aphasiques sont significativement plus dépendants et moins autonomes que les patients non aphasiques. Leur déficit neurologique global séquellaire est plus marqué. Les résultats obtenus à l'échelle de QDV sont systématiquement plus bas en cas d'aphasie. La communication et les interactions sociales sont les domaines les plus touchés. En comparaison avec les patients non aphasiques, la QDV des patients aphasiques est significativement moindre en cas de retour à domicile. Les aphasiques ne sont pas plus touchés par la dépression ou par l'anxiété mais leur degré d'anxiété est majoré. Parmi les non aphasiques, on retrouve une forte prévalence de troubles cognitifs : 20 patients sur 25 ont une indication de rééducation orthophonique. 65% de ces patients ont un MMS normal mais un MoCA pathologique, le MoCA paraît donc être un outil de dépistage plus sensible.

Nos résultats doivent être nuancés par le délai précoce de consultation, la moitié des patients étant encore en structure à 3 mois, et les troubles du langage encore en pleine évolution.

Conclusion : Le rôle de l'aphasie sur le devenir des patients est important. Le déficit de la communication, même en cas de troubles du langage légers, la fréquence des troubles de l'humeur ainsi que l'altération significative de la QDV, y compris chez des patients avec une bonne récupération fonctionnelle, observées dans notre étude, soulignent la nécessité d'une consultation de suivi pluridisciplinaire post AVC. Cette consultation médicale, comportant une échelle de QDV et complétée par une consultation orthophonique et neuropsychologique, permet d'évaluer et de dépister les patients précocement après leur AVC. Il apparaît bien sur nécessaire de les réévaluer à plus long terme (6 mois – 1 an) afin d'adapter la prise en charge.

LONG-TERM ODOR RECOGNITION MEMORY IN DEPRESSION AND ALZHEIMER'S DISEASE

Naudin M^a, Mondon K^{a,c}, El-Hage W^{a,b}, Desmidt T^c, Belzung C^a, Gaillard P^{a,b}, Hommet C^{a,c}, Atanasova B^a

^a INSERM U930, équipe « Troubles affectifs » Université François Rabelais, 37200 Tours, France

^b Pôle de Psychiatrie, Clinique Psychiatrique Universitaire, CHRU de Tours, France

^c CMRR région Centre et médecine interne gériatrique, hôpital Bretonneau, CHRU Tours

Introduction: Many studies have revealed olfactory deficits in psychiatric and neurodegenerative disorders. The detection of specific olfactory markers in these diseases could improve their screening. The aim of the present study was to investigate the long-term odor recognition memory in depressed and Alzheimer's disease patients.

Methods: In this prospective study, we included 20 patients with unipolar major depressive episode (MDE), 20 patients in mild to moderate Alzheimer's disease (AD) and 24 healthy subjects. We investigated the cognitive profile and the olfactory memory ability to recognize familiar and unfamiliar odors.

Results: We found no significant difference between depressed and AD subjects on the olfactory memory testing when the results were analyzed for all odors. However, in MDE patients, we demonstrate a decrease in olfactory memory performance for both familiar and unfamiliar odors while AD subjects failed to recognize only unfamiliar odors, compared to healthy subjects.

Discussion: Our results need to be replicated in a larger population in order to confirm these results. The confirmation of a preserved olfactory memory for familiar stimuli in AD patients in mild to moderate AD, with a large population assessing the sensitivity and the specificity of the olfactory test could allow clinicians to use this test as a complementary tool to clarify the diagnosis.

NeuroPsychologie

MESUSAGE D'ALCOOL, DONNEES SOCIODEMOGRAPHIQUES ET ALEXITHYMIE: ENQUETE TRANSVERSALE AUPRES DES ETUDIANTS DE LA VILLE DE POITIERS

BARUCQ Edouard, RICHARD Philippe, CHABAUD Francis

Centre Hospitalier Henri Laborit, Poitiers

On observe une évolution des modes de consommation d'alcool en France : en dépit d'une baisse de la consommation moyenne d'alcool par habitant et par an depuis plusieurs années, de nouveaux modes d'alcoolisations, ponctuels mais massifs, sont mis en évidence, surtout chez les 18-25 ans ; on parle d'alcoolisation ponctuelle importante, ou encore de binge drinking, mais aucun des termes qualifiant de tels usages d'alcool n'a fait encore l'unanimité d'un point de vue scientifique. Ces nouveaux modes d'alcoolisations s'inscrivent souvent dans des mésusages « aigus » d'alcool : l'usage à risque ou l'abus. Les alcoolisations aiguës n'ont été que peu considérées par rapport à l'alcoolodépendance dans le champ du soin, pourtant elles peuvent entraîner des dommages variés et parfois graves (accidents de la voie publique, violences...).

On s'est intéressé, au sein de ces mésusages d'alcool, à une dimension psychopathologique fréquemment observée chez les sujets dépendants : l'alexithymie. Ce concept, introduit par Sifneos, se caractérisait notamment par l'incapacité à identifier et communiquer ses sentiments et à les différencier des sensations corporelles. Cette dimension a beaucoup moins été étudiée dans la littérature au niveau des mésusages d'alcool aigus, contrairement aux cas de dépendance.

Notre enquête transversale avait pour objectifs principaux d'apprécier l'étendue et les caractéristiques des mésusages d'alcool en population étudiante, et d'évaluer si un lien entre alexithymie et troubles addictifs de type abus et usage risque d'alcool existait. Nous avons analysé les résultats de 1936 questionnaires, remplis par des étudiants de Poitiers, âgés de 18 à 25 ans. L'usage d'alcool a été évalué avec l'AUDIT, et l'alexithymie avec la TAS-20.

Les résultats montrent une part importante des mésusages d'alcool, proche des données nationales correspondantes, s'élevant à 54.3%. On a mis en évidence que l'alexithymie évoluait dans un lien significatif aux conduites addictives, se renforçant avec l'intensité et la sévérité de ces dernières. Ce lien apparaissait donc dès l'existence de mésusages « aigus », de type abus ou usage à risque d'alcool. Ces résultats paraissent encore plus saillants chez les étudiants ayant déjà pratiqué le binge drinking. Une corrélation significativement forte existe entre les mésusages d'alcool et un facteur émotionnel d'alexithymie, « difficultés à identifier ses émotions ». Ce facteur dit thymodépendant, a un lien majeur à la dépression. Il nous semble important d'évaluer la place de la dépression dans le lien entre alexithymie et mésusages d'alcool auprès de notre échantillon par une prochaine étude s'intéressant à la symptomatologie dépressive dans cette population.

Devant l'importance des mésusages d'alcool chez les étudiants de 18-25 ans, et la place de l'alexithymie, souvent décrite comme un facteur péjoratif dans la prise en charge des troubles addictifs, les soignants se doivent de proposer des stratégies de prévention et de soin spécifiques. Il faut sensibiliser au mieux ce public, globalement peu demandeur de soins pour des conduites addictives, en dépit des nombreux risques auxquels un mésusage d'alcool, même ponctuel, peut exposer.

Etude des bases neurales des différentes dimensions cliniques du Trouble Obsessionnel Compulsif lors d'une tâche de repos conscient en Imagerie par Résonance Magnétique Fonctionnelle

Anne-Laure Berthomé^(1,4), Carole Guillevin⁽²⁾, Remy Guillevin⁽²⁾, Nemat Jaafari^(1,3,4)

1. INSERM CIC-P 0802 du CHU de Poitiers

2. Service de Radiologie CHU de Poitiers

3. INSERM U1084 - Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques (LNEC) & Université de Poitiers.

4. Unité de Recherche Clinique Intersectorielle en Psychiatrie à vocation régionale du Centre Hospitalier Henri Laborit, Poitiers

Introduction :

Le TOC (Trouble Obsessionnel Compulsif) est une pathologie psychiatrique fréquente et invalidante sur le plan socio-professionnel. Il est défini par le DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) en tant que pathologie homogène, par des obsessions et des compulsions. En partant de cette définition, différentes études ont montré l'implication de la boucle cortico-striato-thalamo-corticale dans cette pathologie. Nous faisons l'hypothèse que le TOC est une pathologie hétérogène avec l'implication de boucles spécifiques en fonction des dimensions cliniques. L'approche dimensionnelle du TOC proposée par Bloch et al. 2004, permet de classer cette maladie en quatre dimensions différentes : dimension d'accumulation, dimension de symétrie, dimension de pensées interdites et dimension de lavage.

Objectif :

L'objectif de notre étude a été d'identifier des circuits fonctionnels spécifiquement impliqués dans les différentes dimensions symptomatologiques chez les patients souffrant de TOC.

Matériels et Méthodes :

Dans cette étude 73 sujets ont été inclus (49 patients TOC et 24 sujets contrôles sains). Les données ont été obtenues par l'utilisation d'une IRM 1,5 T (philips). Après une acquisition conventionnelle structurelle en séquences T2 anatomiques, les images d'IRM f (IRM fonctionnelle) de repos ont été acquises par l'utilisation de l'EPI (Echo-Planar-Imaging) et la sensibilisation à l'effet BOLD (Blood Oxygen Level Dependent). Les participants ont eu pour instruction de rester détendus et « ne penser à rien », les yeux fermés. En post traitement, nous avons utilisé le logiciel FSL (Analysis Group, FMRIB Software Library, Oxford) avec l'outil MELODIC (Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components) incluant l'ICA (Independent Component Analysis). L'IRM f de repos détecte l'activité neuronale spontanée par l'augmentation de la concentration en sang oxygéné des vaisseaux proches, et peut montrer des zones d'activation cérébrale spécifiques en fonction des différentes catégories de symptômes. Les données psychopathologiques ont été évaluées par le MINI (Mini International Neuropsychiatric Interview) et la sévérité de la pathologie par Y-BOCS (Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale). Les patients ne présentaient pas de pathologies comorbides.

Résultats :

En comparaison aux sujets contrôles, les patients souffrant de TOC présentaient des zones d'activation fonctionnelle différentes en fonction de la dimension clinique.

Les patients inclus dans le groupe TOC avec dimension de symétrie montraient une plus forte activation du cortex orbito-frontal, de l'insula, du thalamus et du noyau caudé gauche. Le groupe TOC avec dimension d'accumulation, montre une activation plus forte au niveau du cortex orbito-frontal et insulaire. Dans le groupe TOC avec dimension de lavage, seul le cortex insulaire droit était activé. Dans le groupe TOC avec dimension de pensées interdites : une activation plus forte était visible au niveau du cortex orbito-frontal, du cortex insulaire, du thalamus et du cortex cingulaire antérieur.

Discussion :

Ces résultats semblent confirmer ceux des études antérieures retrouvant une dysfonction du circuit cortico-striato-thalamo-cortical impliquant le cortex orbito-frontal dans le TOC, et ajoutent d'autres informations concernant des aires cérébrales spécifiquement impliquées dans les quatre dimensions symptomatologiques du TOC. De manière intéressante, les patients inclus dans le groupe de laveurs n'ont pas montré d'activation de leur cortex orbito-frontal dans notre étude, ce qui est en contradiction avec d'autres résultats retrouvés dans la littérature.

Conclusion :

Cette étude montre que le TOC n'est pas une maladie homogène et qu'il nécessite une approche dimensionnelle telle qu'elle est proposée par le DSM-V. D'autres études sont nécessaires, incluant plus de sujets avec l'utilisation de l'outil Dual Regression pour explorer de manière plus précise les particularités des anomalies cérébrales chez les patients TOC. Si de futures études confirment nos résultats, cela pourrait être utilisé en thérapeutique, avec l'adaptation des cibles de stimulation pour la rTMS (Stimulation Magnétique Transcranienne répétitive) en fonction de la symptomatologie clinique. Cette idée plaide dans le sens de proposer un traitement personnalisé aux patients souffrant d'un TOC.

EFFICACITE DE LA STIMULATION MAGNETIQUE TRANSCRANIENNE REPETITIVE DANS LE TROUBLE OBSESSIONNEL COMPULSIF RESISTANT

DJELLAB Merouane

Centre Hospitalier Henri Laborit, Unité de Recherche Clinique, 370 avenue Jacques Cœur, 86000 Poitiers

Introduction : le trouble obsessionnel compulsif (TOC), de par son caractère chronique et résistant, est responsable de handicap social et professionnel. Les traitements actuels associant thérapie cognitivo-comportementale et inhibiteurs de la recapture de la sérotonine ne permettent pas toujours la rémission symptomatique et un pourcentage non négligeable de patients reste lourdement handicapé (40%-60%). Ces formes graves et réfractaires peuvent aujourd'hui avoir accès à des techniques de neuro-modulation. Le recours à la stimulation cérébrale profonde, bien qu'elle ait pu montrer de bons résultats, est réservé aux cas les plus sévères en raison de son caractère invasif. La stimulation magnétique transcrânienne répétitive (rTMS) constitue alors une alternative séduisante du fait de son caractère non-invasif et de l'absence d'effets secondaires sérieux. Les résultats des premières études ciblant les cortex préfrontaux dorsolatéraux droits et gauches dans le TOC ont été décevants. Depuis, de nouvelles cibles de stimulation s'attachant plus aux modèles récents de la physiopathologie du TOC, à savoir l'aire motrice supplémentaire (AMS) et le cortex orbitofrontal (COF), ont été proposées et ont montré des résultats satisfaisants mais nécessitant d'être répliqués.

Objectifs : l'objectif principal est d'évaluer l'efficacité de la rTMS à basse fréquence de l'AMS sur les symptômes du TOC résistant aux traitements. Les objectifs secondaires sont l'étude de la persistance de la réponse thérapeutique après un suivi de 3 mois, ainsi que la recherche d'un effet thérapeutique sur la qualité de vie, le fonctionnement et l'adaptation socioprofessionnelle, et enfin la corrélation de la réponse thérapeutique aux différentes dimensions du TOC.

Méthode : dans notre étude menée en ouvert, 15 patients souffrant d'un TOC résistant aux traitements conventionnels ont bénéficié de 4 semaines de rTMS puis d'un suivi de 2 mois. Les paramètres de stimulation utilisés étaient : 1 Hz, 100% du seuil moteur pendant 33 minutes, la cible étant l'AMS stimulée de façon bilatérale guidée par neuronavigation, une séance par jour, 5 jours par semaine. Les patients ont été évalués sur le plan de la symptomatologie TOC, de l'humeur, de l'anxiété et du fonctionnement général, à l'inclusion, à 5 semaines et à 13 semaines. La réponse au traitement est définie par une réduction de plus de 35% du score Y-BOCS.

Résultats : 14 patients ont fini l'étude. A la fin des 4 semaines de rTMS, on a noté une diminution significative du score Y-BOCS ($p < 0,001$), et le taux de réponse était de 28,6% (4/14). A 3 mois, le taux de réponse est passé à 50% (7/14) avec une diminution significative de la Y-BOCS par rapport à l'inclusion ($p = 0,02$). On a également trouvé une réduction non significative de l'anxiété et de la dépression.

Conclusion : la rTMS à basse fréquence de l'AMS améliore le TOC résistant. Nos résultats doivent néanmoins être interprétés avec prudence en raison de la présence d'un certain nombre de limites à l'étude et nécessitent d'être confirmés par une étude contrôlée, randomisée, et multicentrique.

INDISTINCTION DE L'IMAGE DU CORPS PROPRE ET DU CORPS D'AUTRUI: ETUDE DE L'AGNOSIE DIGITALE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER.

du Boisguéheneuc F.^{1,4,5}, Salmon F.^{2,4}, Bouyer C.^{3,4}, Baudiffier V.^{3,4}, Page G.⁵, Neau J.-P.¹, Paccalin M.^{4,5,6}

¹ Service de Neurologie, CHU de Poitiers, ² Service de Médecine Nucléaire, CHU de Poitiers, ³ Unité de Neuropsychologie, CHU de Poitiers, ⁴ Centre Mémoire Ressources et Recherches Région Poitou-Charentes, ⁵ EA 3808 Cibles moléculaires et Thérapeutique de la maladie d'Alzheimer, ⁶ Service de Gériatrie, CHU de Poitiers.

Introduction

Un déficit spécifique de la désignation des parties du corps (somatotopoagnosie) est décrit dans les lésions de la jonction temporo-pariétale, région d'association atteinte précocement dans la maladie d'Alzheimer. Selon des travaux récents, ce qui poserait problème dans la désignation des parties du corps, est l'ambiguïté d'un geste qui prend pour objet le sujet lui-même. L'objectif de ce travail était de préciser la nature de ce trouble en s'intéressant plus spécifiquement à une région du corps qui soulève électivement cette ambiguïté, les doigts et l'index en particulier.

Patients et Méthode

Nous avons étudié l'agnosie digitale chez 38 patients atteints de maladie d'Alzheimer à un stade précoce (19 prodromal, 19 au stade léger), en tenant compte de plusieurs facteurs: attribution (qui est désigné ?), agentivité (qui désigne ?), latéralité manuelle, et rapport homologue ou hétérologue entre la main désignante et la main désignée. Chez 36 patients ont été réalisés une tomographie à émission de positons (TEP 18FDG) et un dosage des biomarqueurs dans le LCR.

Résultats

Les troubles de la désignation du corps surviennent au stade léger (MMSE=20). Ils ne concernent pas les vêtements et affectent les doigts plus que toutes les autres parties du corps. Le trouble de désignation concerne spécifiquement le corps d'autrui (hétérotopoagnosie). De plus, les patients ont autant de difficultés à désigner la main d'autrui qu'à comprendre le même geste d'autrui sur leur propre main. Enfin les erreurs surviennent électivement la main qui désigne est la même que la main désignée (main droite-main droite ou main gauche-main gauche). L'erreur d'identification digitale la plus fréquente est la confusion entre l'index et l'annulaire.

Conclusion

Les patients semblent incapables de désigner une deuxième main droite: ils montrent leur propre main droite au lieu de celle de l'examineur, ou bien ils atteignent la main droite d'autrui mais ils en font une main gauche. Les patients se comportent finalement avec la main d'autrui comme avec leurs propres mains: soit ils donnent leur main et ne comprennent que ce geste de la part d'autrui, soit ils désignent la main d'autrui mais alors ils en font une main hétérologue. L'agnosie digitale refléterait une incapacité à faire coïncider le même point du corps propre et du corps d'autrui.

INFLUENCE DE FACTEURS GENETIQUES ET DIMENSIONNELS DANS LA REPONSE AU TRAITEMENT PAR L'ESCITALOPRAM DANS LE TROUBLE OBSESSIONNEL COMPULSIF

Harika-Germaine G. ^(1,2), Jaafari N. ^(1,3,4), Patri S. ⁽²⁾, Ragot S. ⁽⁴⁾, Kitzis A. ⁽²⁾, Pérault-Pochat M.-C. ^(3,4,5), Lafay-Chebassier C. ^(2,3,5)

1. *Unité de Recherche Clinique Intersectorielle en Psychiatrie à vocation régionale du Centre Hospitalier Henri Laborit, Poitiers*

2. *Service de Génétique, CHU de Poitiers et Equipe Emergente de Génétique, Université de Poitiers*

3. *INSERM U 1084, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers*

4. *CIC INSERM U 0802, CHU Poitiers et Université de Poitiers*

5. *Service de Pharmacologie Clinique et Vigilances, CHU de Poitiers*

Le trouble obsessionnel compulsif (TOC) est une pathologie psychiatrique fréquente, invalidante et complexe, qui se caractérise par la présence d'obsessions et de compulsions. Le traitement pharmacologique du TOC repose sur l'utilisation empirique d'antidépresseurs sérotoninergiques. Cependant, 40 à 60 % des patients traités restent symptomatiques, ce qui suggère une variabilité individuelle de la réponse au traitement qui pourrait résulter de variations génétiques mais également de l'existence peut-être de sous-groupes de patients ne relevant pas de la définition actuelle du TOC. Effectivement, le TOC est une pathologie hétérogène nécessitant une approche dimensionnelle afin de mieux définir ses différentes formes cliniques. Cette approche permet l'identification des sous-groupes de patients plus homogènes et supposés plus valides pour l'étude de la composante génétique et thérapeutique.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le caractère prédictif du polymorphisme fonctionnel 5-HTTLPR dans la réponse au traitement à l'escitalopram des patients souffrant d'un TOC. L'objectif secondaire consiste à étudier si ce caractère prédictif peut être différent en fonction de l'aspect dimensionnel du TOC.

Cette étude s'intègre dans le cadre d'un essai clinique de pharmacogénétique (phase IV), multicentrique, prospectif, randomisé, ouvert. Les patients sont traités par l'escitalopram et la réponse au traitement est évaluée après 12 semaines à l'aide d'une échelle psychométrique, la Y-BOCS. Quatre dimensions ont été recherchées à l'aide de la check-list de la Y-BOCS (symétrie, nettoyage, pensée agressive, accumulation). Un patient est considéré « répondeur » en cas de réduction du score initial de la Y-BOCS $\geq 25\%$. La recherche des polymorphismes génétiques 5-HTTLPR et CYP2C19*2 et *17 est effectuée par techniques PCR (Polymerase Chain Reaction) et séquençage Sanger.

Dans cette étude, 51 patients ont été inclus. Nous n'avons pas trouvé de lien statistiquement significatif entre les dimensions étudiées et la réponse aux traitements. En revanche le génotype L/L du 5-HTTLPR semble être associé à la réponse au traitement dans la population totale et plus particulièrement chez les patients présentant les dimensions de symétrie et de nettoyage. Enfin, l'étude des polymorphismes CYP2C19*2 et *17 associée au dosage plasmatique de l'escitalopram, nous ont permis d'éliminer toute non-réponse liée à un trouble du métabolisme ou à une mauvaise observance du traitement pharmacologique.

En conclusion, ces résultats préliminaires, même s'ils nécessitent d'être confirmés sur une population plus large de patients, sont encourageants en ce qui concerne l'implication du polymorphisme 5-HTTLPR en tant que facteur prédictif de la réponse au traitement pharmacologique.

ETUDE PRELIMINAIRE EN SPECTROSCOPIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE DU PROTON DANS LES TROUBLES OBSESSIONNELS COMPULSIFS

Laura HATCHONDO^{1,2,4,5}, Carole GUILLEVIN², Rémy GUILLEVIN^{1,3}, Nemat JAAFARI^{1,2,4,5}

⁽¹⁾ Université de Poitiers

⁽²⁾ INSERM CIC-P 0802 du CHU de Poitiers

⁽³⁾ Service de Radiologie CHU de Poitiers

⁽⁴⁾ INSERM U1084 - Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques (LNEC) & Université de Poitiers.

⁽⁵⁾ Unité de Recherche Clinique Intersectorielle en Psychiatrie à vocation régionale du Centre Hospitalier Henri Laborit, Poitiers

Introduction :

Les Troubles Obsessionnels Compulsifs (TOC) constituent l'un des troubles psychiatriques les plus fréquents et invalidants. Les études en neuroimagerie fonctionnelle s'accordent sur l'existence d'un dysfonctionnement du circuit cortico-striato-thalamo-cortical (CSTC) dans cette pathologie. Toutefois, le mécanisme biochimique reste obscur. La Spectroscopie par Résonance Magnétique du Proton (SRM-1H), semble une méthode intéressante pour une quantification cinétique non invasive de divers métabolites dans le cerveau, notamment le N-Acétyl-Aspartate (NAA), la Créatine (Cr) et la Choline (Cho) ainsi que le complexe glutaminergique. Les résultats actuels en SRM-1H sur les TOC restent discordants en raison de méthodologies cliniques et techniques insatisfaisantes.

Objectif principal

Dans ce contexte, notre objectif était d'établir un protocole SRM reproductible pour définir un profil spectroscopique pré-rTMS chez les TOC dans les régions impliquées de la boucle CSTC.

Matériel et Méthodes :

Etude prospective et contrôlée sur 12 sujets : 6 patients atteints de TOC extrêmes résistants évalués par la Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale (Y-BOCS), et 6 témoins ne présentant pas de trouble neurologique ou psychiatrique. Trois régions d'intérêt (ROI) ont été choisies suivant les données de la littérature et en fonction des difficultés techniques rencontrées : le Cortex Cingulaire Antérieur (CCA), le Striatum. Le Cortex Cingulaire Postérieur (CCP) a été également étudié pour détecter la présence ou non d'anomalie en dehors de la boucle CSTC. Les examens ont été réalisés sur une IRM 3-Tesla Siemens : une séquence anatomique 3D T1 et trois séquences SRM-1H monovoxels placées au niveau des ROI choisies. Les données recueillies ont été post-traitées grâce au logiciel jMRUI (*Universitat Autònoma de Barcelona*) ce qui nous a permis d'étudier les taux in situ du NAA, de la Choline et de la Créatine.

Résultats:

Les résultats obtenus ont montré des variations des taux de NAA, Choline et Créatine par rapport aux témoins. Respectivement, +37%, +46%, +30% dans le CCA, +19%, +65%, +20% dans le Striatum et +6,2%, +38%, +18% dans le CCP. Le rapport NAA/Cho se trouve diminué dans les trois régions, alors que les valeurs du NAA/Cr semblent plus hétérogènes (faible effectif).

Conclusion:

A travers cette étude, nous avons mis en place un protocole rigoureux et reproductible quant à l'exploration des TOC par SRM-1H. Nos premiers résultats sont encourageants car présentant des variations homogènes. Cependant, ils restent à confirmer avec une population plus importante et à approfondir par l'étude de ratio et d'autres localisations anatomiques impliquées dans les TOC.

Ce travail va donc être poursuivi avec le post traitement d'une séquence multivoxel (CSI 3D) centrée sur le CSTC afin d'étudier plus avant la répartition des modifications métaboliques dans cette région. Ce travail sera prolongé par une étude utilisant la SRM-Phosphore afin d'explorer les altérations énergétiques impliquées dans les TOC. Ces informations seront corrélées à celles obtenues en SRM proton.

STIMULATION TRANSCRANIENNE DIRECTE A COURANT CONTINU CHEZ LES PATIENTS SOUFFRANT D'UN TROUBLE OBSESSIONNEL COMPULSIF

D. HEIT^{1,4}, J. SAMSON^{1,4}, I. WASSOUF^{1,4}, N. LAFAY¹, G. HARIKA-GERMANEAU^{1,4}, G. DAVIGNON^{1,4}, C. TURQUE^{1,4}, S. MAILLOCHEAU¹, W. HAMMI¹, JL SENON^{1,4}, N. JAAFARI^{1,2,3,4}

1. *Unité de Recherche Clinique Intersectorielle en Psychiatrie à vocation régionale du Centre Hospitalier Henri Laborit, Poitiers*

2. *INSERM U 1084, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers*

3. *INSERM CIC-P 0802 du CHU Poitiers*

4. *Université de Poitiers*

Le trouble obsessionnel compulsif (TOC) est caractérisé par l'association d'obsessions et de compulsions. Une certaine proportion de patients (40-60%) reste symptomatique malgré un traitement conventionnel bien conduit. Les symptômes TOC seraient secondaires à un dysfonctionnement de la boucle cortico-striato-pallido-thalamo-corticale (CSTC). La stimulation transcrânienne directe par courant continu (tDCS) est basée sur deux stimulations cérébrales superficielles, simultanées, par l'intermédiaire de deux électrodes (anode et cathode). La stimulation anodique augmenterait l'excitabilité des neurones corticaux, en regard de l'anode, en dépolarisant la membrane. La stimulation cathodique tend plutôt à hyperpolariser la membrane des neurones corticaux avec pour effet de diminuer leur excitabilité.

Objectif : étudier l'efficacité de la tDCS bifocale dans le trouble obsessionnel compulsif pharmacorésistant. L'efficacité sera quantifiée par une diminution cliniquement utile du score de la Y-BOCS (au moins 35% entre le début et la fin du traitement).

Méthode : Il s'agit d'une étude pilote, en ouvert, qui a été réalisé chez 12 patients souffrant de TOC pharmacorésistant. Les patients ont reçu un traitement actif par tDCS avec stimulation anodique du cortex préfrontal dorso-latéral droit et stimulation cathodique du cortex orbito-frontal gauche. Ils ont bénéficié de 20 séances réparties sur 2 semaines (2 séances par jour). Tous les patients ont été suivis pendant 2 mois.

Résultats :

Dans cette étude pilote, la tDCS utilisée avec les paramètres retenus, n'a pas fait la preuve de son efficacité pour la prise en charge des patients souffrant d'un TOC pharmacorésistant. Le score moyen de la Y-BOCS à l'inclusion était de 30,58 (SD=3,5), et de 29,67 (SD=5,2) à J14.

Discussion : Il serait intéressant d'utiliser des intensités de stimulation plus élevées, ou de changer les cibles de stimulation. Si l'hyperactivation du COF apparaît assez nettement en lien avec la symptomatologie présentée par les patients souffrant de TOC, peut-être serait-il intéressant de cibler l'aire motrice supplémentaire à la place du CPFDL.

Conclusion : Notre étude montre que la stimulation anodique du CPFDL pourrait avoir un effet bénéfique sur la thymie des patients traités.

ETUDE PRELIMINAIRE EN IMAGERIE EN TENSEUR DE DIFFUSION DES ANOMALIES DE LA SUBSTANCE BLANCHE DANS LES TROUBLES OBSESSIONNELS COMPULSIFS

SABINE HOEFSLOOT^{1,2,4,5}, Carole GUILLEVIN², Rémy GUILLEVIN^{1,3}, Nemat JAAFARI^{1,2,4,5}

⁽¹⁾ Université de Poitiers

⁽²⁾ INSERM CIC-P 0802 du CHU de Poitiers

⁽³⁾ Service de Radiologie CHU de Poitiers

⁽⁴⁾ INSERM U1084 - Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques (LNEC) & Université de Poitiers.

⁽⁵⁾ Unité de Recherche Clinique Intersectorielle en Psychiatrie à vocation régionale du Centre Hospitalier Henri Laborit, Poitiers

Contexte : Les Troubles Obsessionnels Compulsifs (TOC) sont des affections chroniques et invalidantes caractérisées par des pensées intrusives et des compulsions très chronophages. Récemment, un certain nombre d'études en IRM fonctionnelle ont montré un dysfonctionnement de la boucle Cortico-Striato-Thalamo-Corticale (CSTC) dans cette pathologie. Toutefois, l'état des connexions reliant les régions de cette boucle n'est pas clairement établi. L'imagerie en tenseur de diffusion (DTI) est une technique in vivo non invasive permettant d'étudier les fibres de la substance blanche (SB), la valeur du coefficient d'anisotropie fractionnelle (FA) permet d'indiquer leur degré d'altération. Les résultats des études actuels chez les patients atteints de TOC ont montré une modification de la FA, notamment dans la région du cortex orbitofrontal, du striatum et du corps calleux. Cependant, l'ensemble de ces résultats restent très discordants du fait de méthodologie clinique et imagerie différentes.

Objectif principal : L'objectif de cette étude est de montrer un défaut de connectivité des faisceaux de la substance blanche du striatum au cortex orbito-frontal par l'analyse de l'anisotropie fractionnelle.

Méthodes : Etude prospective et contrôlée sur 8 sujets : 4 patients atteints de TOC extrêmes résistants évalués par la Yale Brown Obsessive Compulsive Scale et 4 témoins ne présentant aucun trouble neurologique et psychiatrique. L'analyse de la FA s'est portée sur les faisceaux de la boucle CSTC notamment ceux du corps calleux (gCC), des radiations thalamiques antérieures (ATR), du cingulum (CG) et du faisceau fronto-occipital inférieur (IFO). Les examens IRM réalisés sur un appareil Siemens 3T comprenaient un volume axiale T1 et une acquisition DTI (b=1000, 30directions). Les données recueillies en DTI ont été analysées avec le logiciel Trackvis en positionnant des régions d'intérêt (ROI) sur les fibres étudiées.

Résultats : Les premiers résultats obtenus montrent une modification de l'anisotropie dans les régions de la boucle CSTC avec une diminution de la FA de 14% pour les ATR, de 12% pour le gCC et une augmentation de 15% pour l'IFO par rapport aux sujets témoins. Les résultats du Cg sont à ce jour discordant (effectif faible).

Conclusions : Cette étude préliminaire nous a permis de reconnaître les principaux faisceaux de la SB de la boucle CSTC afin de mieux cibler les ROI d'analyse puis d'observer des modifications de la FA. Les variations paramétriques obtenues sont homogènes. Ce travail constitue la phase préliminaire d'une étude qui permettra d'adresser les questions suivantes : Y a-t-il des fibres connectant le noyau sous-thalamique au cortex orbito-frontal ? Comment le corps calleux se comporte t'il ? Y a-t-il des régions anatomiques montrant une augmentation ou une diminution particulière de l'anisotropie fractionnelle ? Ces résultats concordent-ils avec la carte d'activation observée en IRM fonctionnelle ?

GENERALIZATION OF ANTI-CRAVING EFFECTS OF ENVIRONMENTAL ENRICHMENT TO DIFFERENT CLASSES OF DRUGS OF ABUSE

Nicolas C^{1,2}, Istin M², Solinas M^{1,2}

¹ INSERM U-1084, Experimental and Clinical Neurosciences Laboratory, Poitiers-France

² University of Poitiers, 1 Rue Georges Bonnet, 86022, Poitiers-France

RESUME :

Recent evidence suggests that, in addition to preventive effects, environmental enrichment (EE) can also have “curative” effects in animal models of addiction. However until present all studies demonstrating restorative effects of EE have focused on cocaine. In this study, we investigated whether EE could have beneficial effects on relapse to other psychoactive substances belonging to different pharmacological classes such methamphetamine (METH), heroin and alcohol. For this, 1) rats learned to self-administered drugs for several (10 to 20) sessions of extend (14h) access to drugs; 2), after the last self-administration session, rats were exposed either to EE or standard environment (SE) for a 3-4 weeks withdrawal period; and 3) drug-seeking behavior was tested in a single extinction session. In the case of alcohol, drug seeking was measured after 1 and 28 days of withdrawal, which allowed quantifying the effects of EE on incubation of craving. We found that exposure to EE significantly reduces METH and heroin seeking behavior and incubation of alcohol craving. Altogether, these results demonstrate that EE produces anti-craving effects on a wide range of abuse drugs and suggest that EE acts on relapse mechanisms common to several drugs. More in general, this study strengthen the validity of the EE model for the treatment of addiction and support the hypothesis that positive and stimulating life conditions are critical in facilitating abstinence and preventing of relapse.

ATYPICAL BRAIN CORRELATES OF AUTOMATIC VISUAL CHANGE DETECTION IN AUTISM

Cléry, H.^{1,2}, Andersson, F.^{1,2}, Bonnet-Brilhault, F.^{1,2,3}, Wicker, B.⁴, Gomot, M.^{1,2}

¹ INSERM, U930, Tours, France ; ² Université François-Rabelais de Tours, France ; ³ CHRU de Tours, France ; ⁴ Institut de Neurosciences Cognitives de la Méditerranée, CNRS UMR 6193, Université Aix-Marseille, Marseille, France

Introduction: Clinical observations of people with autism spectrum disorders (ASD) show that they react in an unusual way to unexpected changes that appear in their environment. Several studies have examined the neural basis of the automatic novelty detection in patients with ASD in the auditory modality and have highlighted atypical change processing. The aim of the present study was to determine whether these abnormalities in change detection could also be evidenced in the visual modality. This fMRI study was thus designed to localize the brain activations elicited by visual unattended changing stimuli in adults with ASD compared to controls.

Methods: Seventeen healthy adults and twelve patients with ASD participated in the experiment. A passive oddball paradigm in which stimuli consisted in the deformation of a circle into an ellipse either in the horizontal (standard) or in the vertical direction (deviant, $p=0.15$) or into another shape (novel, $p=0.15$) was used. In order to present the visual stimuli outside the focus of attention, a concurrent task was required in which subjects had to stare at the fixation cross and to respond to its disappearance.

Results: Combined results from all volunteers highlight the involvement of both occipital (BA 18/19) and frontal (BA 6/8) regions in visual change detection. However adults with ASD display stronger activity in the bilateral occipital cortex (BA 18/19) and in the anterior cingulate cortex ACC (BA 32) associated with smaller activation in frontal regions (BA6/8) than controls. To further investigate ACC involvement during automatic change detection, a psychophysiological interaction analysis was performed with ACC as seed. Results show that the ACC is more functionally connected to sensory regions in ASD than in controls, but less connected to prefrontal and orbito-frontal cortices.

Discussion: To conclude the present work evidenced atypical brain correlates of automatic visual change detection in adults with ASD. Indeed, compared to controls, larger sensory activation associated with reduced frontal activation were highlight in ASD. Besides, atypical psychophysiological interactions between frontal and occipital regions were evidenced, congruent with the idea of atypical connectivity between these regions described in the literature. Moreover, the atypical involvement of the anterior cingulate cortex in visual change detection can be related to previous results obtained in the auditory modality, thus suggesting that abnormalities in change detection are independent of the sensory modality. This supports the hypothesis of an altered general mechanism of change detection in patients with ASD that would underlie their unusual reaction to change.

REGULATION OF THE HPA AXIS AND RESPONSE TO ANTIDEPRESSANT: EVIDENCE FROM AN ANIMAL MODEL OF DEPRESSION

Wahid KHEMISSI^{1,2}, Rai Khalid FAROOQ^{1,2}, Anne-Marie LE GUIQUET^{1,2}, Mohsen SAKLY³, Catherine BELZUNG^{1,2}.

¹Inserm U930, UFR Sciences et Techniques, ²Université François Rabelais, Tours, France, ³Laboratoire de Physiologie intégrée, Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte, Tunisia

Abstract :

Antidepressant therapy does achieve remission only in a subpopulation of depressed patients. Interestingly, altered regulation of the HPA axis is a predictor of treatment response in humans but the mechanisms involved in this are poorly understood. As further progress involves animal models, it becomes necessary to mimic this resistance and the contribution of the HPA axis regulation in animals. The Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) in mice is an animal model of depression which has the advantage of reproducing the role of socio-environmental stress in the onset of a depressive episode and to induce a set of alterations suggestive of symptoms of depression and to predict effectiveness of the response to antidepressants. As a first step, we subjected BALB/C mice to UCMS in order to induce depressive-like alterations. After two weeks of stress exposure we measured the regulation of the HPA axis using the dexamethasone (0.1mg/kg, ip) suppression test. According to the percentage of corticosterone suppression after dexamethasone injection, we divided the mice into two groups: High suppression (HS) and Low suppression (LS). From the fifth week onwards, we administered fluoxetine (an antidepressant from SSRI group) at 15mg/kg (i.p.) daily. At the end of 7th week, we applied a battery of behavioral tests assessing the emotional, cognitive, and motor aspects of UCMS induced depressive-like behavior. Our results show that fluoxetine-induced antidepressant effects were observed with higher amplitude in HS when compared to LS in various behavioral aspects like coat state, novelty suppression of feeding, splash test and Nest test. The same profile was found concerning the immunohistochemical analysis of ki-67 positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus, which is a marker of neuronal proliferation. This suggests that the failure of fluoxetine to induce antidepressant effects was associated to poor ability of the compounds to stimulate cell proliferation in the hippocampus.

Keywords: Resistance depression, Fluoxetine, HPA axis

DU MOUVEMENT A L'INTENTION SOCIALE : REponses OCULAIRES AU COURS DU DEVELOPPEMENT TYPIQUE ET CHEZ LES PATIENTS AVEC DES TROUBLES ENVAHISSANTS DU DEVELOPPEMENT.

Roché, L. ^{a,b}, Hernandez, N. ^{a,b}, Rochat M. ^d, Andersson, F. ^{a,b}, Huc-Chabrolle, M. ^c, Houy-Durand, E. ^c, Malvy, J. ^c, Barthélémy, C. ^{a,b,c}, Bonnet-Brilhault, F. ^{a,b,c}, Schmitz, C. ^e, Blanc, R. ^{c,f}, Martineau, J. ^{a,b}.

^a Inserm U930, Tours. ^b Université François-Rabelais de Tours, UMR930 Imagerie et Cerveau - Equipe 1 Autisme, Tours. ^c Centre Universitaire de Pédiopsychiatrie, CHRU Bretonneau, Tours. ^d Université de Parme, Parme (Italie). ^e Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Inserm U1028, & CNRS UMR5292, Bron. ^f Université Paris Descartes, Institut de Psychologie, Boulogne.

Introduction : La perception des actions d'autrui joue un rôle majeur dans la cognition sociale, notamment grâce au couplage de la perception de ses actions avec notre répertoire d'actions (neurones miroirs) et grâce à nos inférences sur son état mental (théorie de l'esprit). Dans le développement typique, le nourrisson perçoit précocement les mouvements humains et il est capable de se synchroniser avec eux et de les imiter. Dès l'âge de 7 ans, le mouvement biologique (MB) d'autrui est suffisant pour détecter sa volonté d'interagir avec les autres. En revanche, les patients avec des Troubles Envahissants du Développement (TED), qui ont des difficultés avec l'emploi et la compréhension des gestes conventionnels ou expressifs, sont également moins attentifs au MB et moins performants dans la détection de l'intention sociale. Notre objectif était d'étudier, au cours du développement typique et chez des patients atteints de TED, l'effet de l'intention sociale des agents observés sur l'attention d'un observateur, en mesurant l'exploration visuelle et le réflexe pupillaire psychosensoriel.

Méthode : Grâce au système de suivi du regard, les mouvements oculaires et la dilatation pupillaire de 97 participants témoins et 55 patients (divisés en 3 sous-groupes diagnostics), âgés de 3 à 53 ans, ont été enregistrés pendant l'observation de MB. Les deux types de stimulations, deux agents en interaction sociale ou non (sans communication), étaient présentés selon un paradigme de préférence visuelle et un paradigme en blocs.

Résultats : Chez les sujets témoins, le paradigme de préférence visuelle montre une augmentation de l'exploration des interactions sociale au cours du développement typique jusqu'à une préférence significative chez l'adulte, et le paradigme en blocs montre une stratégie d'exploration du corps en mouvement différente entre interactions et mouvements sans communication. Dans les 2 procédures, les groupes de patients présentent des profils d'exploration différents, avec une moindre exploration des interactions. Le réflexe pupillaire psychosensoriel en réponse aux interactions augmente avec l'intensité émotionnelle.

Conclusion : Dans le développement typique, la capacité à détecter l'intention sociale dans le MB serait précédée du développement d'une stratégie d'exploration du corps spécifique aux MB sociaux, et serait suivie d'un biais attentionnel en faveur des MB sociaux. Le groupe de patients avec autisme présenterait un « double » déficit spécifiquement social alors que le groupe avec un autre TED aurait un déficit d'exploration globale et les patients avec un syndrome d'Asperger un profil intermédiaire. De plus, la pupillométrie indique une intégration de la composante émotionnelle du MB chez les patients. Des anomalies de l'attention envers les MB pourraient participer au trouble de l'interaction sociale et la variabilité des profils d'exploration est cohérente avec l'existence de profils cognitifs distincts dans les différents TED.

TRAITEMENT DU CONTEXTE ET ANTICIPATION CHEZ L'ADOLESCENT AVEC AUTISME : ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE.

Thillay A^{1 2}, Roux S^{1 2}, Houy Durand E^{1 3}, Malvy J^{1 3}, Barthélémy C^{1 2 3}, Bidet-Caulet A⁴ & Bonnet-Brilhault F^{1 2 3}.

¹ INSERM, U930, Tours, France.

² Université François-Rabelais de Tours, France.

³ CHRU de Tours, France.

⁴ INSERM, U1028, CNRS UMR5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, France.

RESUME :

Les comportements répétés et restreints observés dans l'autisme sont moins étudiés que les autres dimensions mais restent à ce jour inexplicables. Ces anomalies du comportement témoignent d'une recherche d'immuabilité possiblement réactionnelle à une incapacité pour la personne avec autisme à prédire les événements à venir. Un traitement atypique du contexte pourrait être impliqué, empêchant les personnes avec autisme de percevoir les subtilités de ce contexte et ainsi de construire et d'utiliser des prédictions indispensables pour l'adaptation cognitive, comportementale et sociale. L'intégration de ces informations contextuelles dépend de processus intervenant à différents niveaux du traitement de l'information allant des premières étapes du traitement sensoriel aux processus cognitifs de plus haut niveau.

L'objectif est de caractériser chez des adolescents avec autisme les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les processus du traitement d'un contexte prédictif à partir de l'analyse des potentiels évoqués. 11 patients, âgés de 13 à 17 ans, recouvrant l'ensemble du spectre autistique sont comparés à des sujets contrôles afin d'identifier les altérations liées aux troubles du spectre autistique. Afin de tester les processus neurophysiologiques du traitement du contexte, nous utilisons un paradigme visuel de détection de cible où une séquence de stimulus permet d'anticiper et de prédire avec certitude l'arrivée de la cible.

Sur le plan comportemental, les résultats montrent que les adolescents avec autisme peuvent réaliser correctement la tâche et bénéficier de l'information prédictive de la séquence mais de manière moins importante que les sujets témoins. En potentiels évoqués, l'analyse de la latence de l'onde P3 suggère que la facilitation de la détection de la cible liée au contexte est moins importante chez les adolescents avec autisme. De plus, l'étude de la Variation Contingente Négative renforce l'hypothèse d'une planification et d'une anticipation motrice atypique dans l'autisme.

Ces résultats indiquent que les adolescents avec autisme reconnaissent les éléments de la séquence prédictive et les utilisent pour anticiper mais de manière moins efficace. Ainsi, ces résultats suggèrent que les réseaux neuronaux recrutés par les patients ne sont pas parfaitement similaires à ceux des sujets témoins. L'ensemble de ces éléments est en faveur d'un traitement atypique des informations du contexte dans l'autisme.

NeuroPsychoToxicologie

LE SCANNER POST MORTEM PEUT-IL VALIDER UN ADAGE « OVERDOSE = VESSIE PLEINE » ?

Lebeau M.⁽¹⁾, Houpert T.⁽¹⁾, Delbreil A.⁽¹⁾, Voyer M.⁽¹⁾, Taris M.⁽¹⁾, Stanix A.⁽²⁾, Mura P.⁽³⁾, Sapanet M.⁽¹⁾

(1) : Unité de médecine légale – CHU Poitiers

(2) : Unité de radiologie – CHU Poitiers

(3) : Unité de toxicologie – CHU Poitiers

Introduction : la distension vésicale est classiquement décrite comme un signe autopsique de décès par intoxication. D'autre part, des cas de ruptures spontanées de vessies sont décrits dans la littérature, dans les suites d'intoxications diverses. Cependant, il existe peu d'étude sur le sujet et, compte tenu du développement du scanner post mortem, nous avons souhaité comparer le volume vésical mesuré sur le scanner dans les décès toxiques et les autres causes de décès.

Matériel et méthode : il s'agissait d'une étude rétrospective portant sur toutes les autopsies précédées d'un scanner réalisées à l'Institut de Médecine Légale de Poitiers entre janvier 2011 et décembre 2012. Les scanners ont été relus par deux médecins légistes afin d'estimer le volume vésical (selon la formule utilisée couramment en imagerie médicale comprenant les mesures de hauteur, largeur et profondeur de la vessie). Dans le même temps, le volume vésical a été mesuré directement par le logiciel *Vitrea Advanced*®, afin de valider la formule d'estimation du volume vésical.

Secondairement, les résultats de l'analyse toxicologique, effectuées systématiquement après autopsie, ont été relevés et classés selon le type de toxique et leur impact sur le décès (taux létal, présence à un taux non létal, absence de toxique). Enfin, un test de student a permis de rechercher s'il existait une différence significative de volume vésicale dans les décès de cause toxique par rapport aux autres causes de décès.

Résultats : Sur 267 autopsies précédées d'un scanner, 171 dossiers ont été inclus. La répartition des causes de décès pour ces dossiers a été la suivante : 41 % de décès accidentels, 26 % de décès résultant d'une cause naturelle, à 23 % de suicides et 10 % d'homicides.

Le volume vésical mesuré était significativement supérieur ($p \leq 0,0001$) dans les décès de cause toxique (volume moyen = 269,5 ml) par rapport aux décès de cause non toxique (volume moyen = 55,2 ml). De plus, il existait également une différence significative ($p < 0,001$) de volume vésical entre les décès d'origine toxique (volume moyen = 269,5 ml), les décès d'une autre origine mais pour lesquels des toxiques à dose non létale étaient mis en évidence (volume moyen = 119,8 ml) et les décès pour lesquels aucun toxique n'était retrouvé (volume moyen = 55,2 ml).

S'agissant du type de toxique ingéré, le volume vésical était significativement supérieur en cas de prise de cannabis (volume = 242,4 ml versus 110,6 ml), d'opiacé (volume = 337,1 ml versus 91,7 ml) ou de benzodiazépine (volume = 243,9 ml versus 87,3 ml) par rapport aux décès pour lesquels aucune prise de ces substances n'était observée.

Par ailleurs, l'estimation du volume vésical par la formule que nous avons utilisée, à partir des mesures effectuées sur le scanner est une méthode fiable. En effet, il existait une très forte corrélation (Coefficient de Spearman à 0,93 et interclasse de 0,97) entre celle-ci et la mesure directe du volume par le logiciel *Vitrea Advanced*®.

Conclusion : En dehors de certains toxiques, il n'existe que peu de signes autopsiques spécifiques. Cette mesure tomodensitométrique constitue un élément d'orientation diagnostique simple et reproductible.

ORL

IN VITRO STUDY OF AEROSOL DEPOSITION IN NASAL CAVITIES DURING INHALATION AND EXHALATION

FRANCIS M. (1), LE PENNEC D. (1), WILLIAMS G. (2), DUCLOS E.(3), DIOT P. (1), VECCELLIO L. (1, 4)

(1)CEPR/INSERM U1100/EA 6305, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France. (2) Aptar Pharma, Le Vaudreuil, France. (3) SOS STAT Doussard, France. (4) DTF-Aerodrug, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France

The aim of this work is to study the influence of the particle size and the air flow rate during inhalation and exhalation process on nasal aerosol deposition. In order to carry out this cartography, a nasal cast model was built from epoxy plastic based on CT-scans. The nasal cast can be dismantled in 4 parts and the aerosol deposition into the different region (nose, nasal valve, turbinate, maxillary, ethmoidal and frontal sinuses, sphenoid and nasopharynx) was measured. Three different aerosol sizes (Volume Median Diameter (VMD) from 1.1µm to 9.8µm) were generated by nebulization and three different air flow rates were applied on the nasal cast during inhalation and exhalation process (from 2L/min to 90L/min).

Statistical analysis was performed to evaluate the correlation between the deposited mass and the VMD and the air flow rate. Results have shown an influence of VMD and air flow rate on deposited aerosols on the turbinates, on the nasopharynx and on the total deposited mass in the nasal model during inhalation and exhalation process. For the nose and the nasal valve the correlation was found between the deposited mass and the VMD during inhalation. While during the exhalation it depends on both the VMD and the air flow rate.

For maxillary, sphenoidal and ethmoidal sinuses no significant correlation between the deposited mass and the tested parameters was determined.

For the frontal sinus no mass was detected in both inhalation and exhalation process and then no correlation could be determined with the two tested parameters.

REPONSE PUPILLAIRE ET CONFORT AUDITIF

KIM S.^{1,2}, HERNANDEZ N.¹, MARTINEAU J.¹, LESCANNE E.^{1,2}, ROUX A.¹, BAKHOS D.^{1,2}

1 : UMR Inserm 930 – Equipe 1, Université François-Rabelais de Tours

2 : Service ORL et CCF - CHRU de Tours

RESUME :

Introduction : Actuellement, le dépistage néonatal permet un diagnostic précoce de la surdité et une réhabilitation auditive rapide par des audioprothèses ou un implant cochléaire en fonction du degré de surdité. La précocité de la prise en charge est un facteur pronostic de bon développement du langage. Cependant, lors des réglages des aides auditives le seuil de confort auditif est difficile à déterminer chez ces enfants. Des études récentes ont montré que la variation de la dilatation pupillaire pouvait être un reflet de la charge cognitive et de l'intelligibilité. Ce marqueur objectif permettrait de trouver le seuil de confort auditif pour assurer une meilleure qualité de réglage et une meilleure observance du port des aides auditives. L'objectif de notre étude prospective est d'étudier la variation du diamètre pupillaire en réponse à des stimulations vocales en fonction des variations d'intensité dans une étude préliminaire chez des adultes sourds réhabilités par implant cochléaire.

Patients et méthode : 32 adultes normo-entendants et 13 adultes avec implant cochléaire ont été inclus dans cette étude prospective. Les mesures de pupillométrie et l'évaluation subjective de leur seuil de confort auditif, lors de l'exposition à 4 listes de mots d'audiométrie vocale déclinées à 4 intensités (30, 50, 70, 90 dB SPL) ont été étudiées.

Résultats : L'étude du pic relatif de dilatation pupillaire montre une différence significative entre l'exposition à 30 dB et 90 dB dans les 2 groupes. La dilatation est plus importante aux fortes intensités. L'échelle subjective de cotation du niveau de confort auditif n'est pas corrélée à la taille pupillaire en raison de la taille de l'échantillon.

Conclusion : La mesure du diamètre pupillaire apparaît comme une mesure objective prometteuse d'identification du seuil d'inconfort. La poursuite du recrutement et l'étude d'une population d'enfants permettrait de valider un tel outil, afin d'associer la variation du diamètre pupillaire aux techniques de réglage des aides auditives chez les jeunes enfants (moins de 1 an), et ainsi améliorer l'observance du port de ces aides auditives.

Mots-clés : implant cochléaire, eye tracking, pupille, seuil de confort, enfant

PEDIATRIE

EFFETS PARADOXAUX DE LA METACHOLINE ET DU SALBUTAMOL SUR LA FONCTION RESPIRATOIRE DES ENFANTS AYANT UNE TRACHEOBRONCHOMALACIE SECONDAIRE A L'ATRESIE DE L'OESOPHAGE

S. Benkaddouss SB, J. Mulliez JM, M. Eugène ME, X. Drouot XD, I. Gibertini IG, H. Lardy HL, V. Diaz VD.

1 : *Service de médecine de spécialités pédiatriques CHU Tours*

2 : *Service des explorations fonctionnelles respiratoires CHU Poitiers*

3 : *Service de chirurgie viscérale pédiatrique CHU de Tours*

Introduction : Dans la trachéobronchomalacie (TBM) des effets paradoxaux des bronchodilatateurs et des bronchoconstricteurs sur la fonction respiratoire ont été décrits seulement chez quelques nourrissons. Or l'une des causes les plus fréquentes de TBM est l'atrésie de l'œsophage (AO). L'objectif de l'étude était de déterminer les conséquences de l'inhalation de salbutamol et de métacholine sur l'obstruction bronchique dans la TBM secondaire à une AO chez des plus grands enfants.

Patients et Méthodes : Nous avons réalisé une 1^{ère} étude rétrospective aux CHU de Poitiers et de Tours puis une 2^{ème} étude prospective au CHU de Tours chez des enfants atteints d'une TBM secondaire à une AO âgés de plus de 2 ans dans la 1^{ère} étude et de plus de 6 ans dans la 2^{ème} étude. Tous les enfants ont réalisé des mesures de la fonction respiratoire en conditions de base selon une technique adaptée à leur âge qui était associées soit à un test de provocation bronchique à la métacholine soit à un test de bronchodilatation au salbutamol. Les effets du salbutamol et de la métacholine ont été étudiés sur les variations des RINT (âge <6 ans) et du VEMS (âge > 6 ans) par rapport aux valeurs de base.

Résultats : Nous avons inclus respectivement 28 et 11 enfants dans la 1^{ère} et 2^{ème} étude. Une obstruction bronchique inter critique était fréquente (71 et 36%) respectivement dans la 1^{ère} et 2^{ème} étude mais peu réversible après salbutamol (17%) dans la 1^{ère} étude. De plus, nous avons montré une hyper réactivité bronchique importante après métacholine (89 et 45%) respectivement dans la 1^{ère} et 2^{ème} étude. Enfin nous avons montré un effet paradoxal inconstant du salbutamol (21%) dans la 1^{ère} étude et aussi un effet paradoxal inconstant de la métacholine (36% et 18%) respectivement dans la 1^{ère} et 2^{ème} étude. Les effets paradoxaux concernaient surtout les plus jeunes enfants sans lien avec la sévérité clinique de la TBM.

Conclusion : Des effets paradoxaux du salbutamol et de la métacholine sur la fonction respiratoire ont bien été retrouvés chez une partie des enfants étudiés. Ces résultats témoignent de la persistance d'une TBM chez ces enfants et soulignent l'intérêt dans le cas du salbutamol de réaliser une évaluation des effets des bronchodilatateurs au cas par cas.

GROWTH IN EXCLUSIVELY BREASTFED INFANTS: A CONTROLLED METABOLIC STUDY USING FOR THE FIRST TIME NON-INVASIVE STABLE ISOTOPE METHODOLOGY

Frasquet-Darrieux M^{1,2}, Gaud MA^{1,2,3}, Christin P^{3,4}, De Luca A^{1,2}, Boquien CY^{5,6}, Millet C⁷, Herviou M^{1,2}, Darmaun D^{5,6}, I Tea I^{7,8}, Ingrand P^{1,2}, Robins RJ^{7,8}, Hankard R^{9,10}

1. INSERM, CIC 0802, Poitiers, F-86000, France
2. Université de Poitiers, Poitiers, F-86000, France
3. Pédiatrie Multidisciplinaire-Nutrition de l'Enfant, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, F-86000, France
4. Maternité, Centre Hospitalier Chatellerauld, Chatellerauld, F 86100, France
5. INRA, UMR 1280, IMAD, CRNH Ouest, F-44000, France
6. Université de Nantes, Nantes, F-44000, France
7. Nuclear Medicine laboratory, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, F-86000, France
8. CNRS, UMR 6230, Elucidation of Biosynthesis by Isotopic Spectrometry Group, Unit for Interdisciplinary Chemistry: Synthesis, Analysis, Modeling (CEISAM), Nantes, F-44322, France
9. Inserm U 1069, F-37000 Tours; CHU Tours, F-37000 Tours, France
10. Université F Rabelais, F-37000 Tours, France

Introduction: Infants born to obese mothers and fully breastfed gain less weight than infants born to lean mothers during the first month of postnatal life. Whether protein metabolism in children differs between obese and lean mothers regarding isotopic fractionation remains unknown. This prospective controlled study aimed at comparing isotopic composition in exclusively breastfed infants at 1 month born from obese (OBE) and non-obese (NOBE) mothers.

Methods: OBE mothers were matched for age (± 5 years), parity, ethnic origin, and educational level with NOBE mothers. Infant protein metabolism was estimated from ¹⁵N natural enrichment in hair and milk using isotope ratio mass spectrometry.

Results: Of 165 mothers included between Feb. 2010 and Sept. 2012, 100 were followed up at 1 month. Estimated milk production was lower in OBE mothers. Infants exclusively breastfed born to obese mothers gained 90 g less than control infants but the difference did not reach statistical significance. We did not observe any difference between groups at birth or at 1 month of age regarding weight, height, head circumference, weight gain velocity, and protein metabolism at 1 month.

Conclusion: The present study was first to estimate protein metabolism in infants using non-invasive tracer methodology: ¹⁵N incorporation into hair protein was identical in both groups.

TEST DE REVERSIBILITE DE L'OBSTRUCTION BRONCHIQUE : Y A-T-IL UN INTERET A ADMINISTRER 400µg PLUTOT QUE 200µg DE SALBUTAMOL CHEZ L'ENFANT?

DUBOIS C., DIAZ V.

Service des EFR CHU de Poitiers

INTRODUCTION :

La mesure de l'obstruction bronchique et de sa réversibilité après bronchodilatateur sont au centre de la prise en charge du patient asthmatique. Chez l'adulte, l'ATS/ERS recommande d'administrer 400µg de salbutamol spray pour le test de réversibilité. Mais il n'existe pas de consensus pour la posologie et le type de bronchodilatateur à utiliser pour le test de réversibilité chez l'enfant. L'usage en pédiatrie est d'utiliser 200µg de salbutamol mais aucune étude n'a évalué à ce jour l'efficacité de posologies supérieures. L'objectif de cette étude est de déterminer s'il existe un intérêt à administrer 400µg plutôt que 200µg de salbutamol pour le test de réversibilité de l'obstruction bronchique chez l'enfant ?

METHODE :

Pour répondre à cette question, nous avons réalisé une étude prospective observationnelle dans le service des explorations fonctionnelles respiratoires du CHU de Poitiers. Nous avons évalué l'obstruction bronchique chez 88 enfants de 3 à 6/7 ans par la mesure des résistances par interruption du flux expiratoire et chez 19 enfants plus grands par la mesure des débits expiratoires forcés et des résistances pléthysmographiques, ceci en condition de base, puis après 200 et 400µg de salbutamol.

RESULTAT :

Nous avons montré une augmentation de la réversibilité avec l'utilisation de 400µg de salbutamol par rapport à 200µg. Chez les enfants de 3 à 6/7 ans, nous avons mis en évidence une diminution significative des résistances entre 200 et 400µg, avec un nombre supérieur d'enfants dont l'obstruction est réversible avec le dosage de 400µg par rapport à 200µg. Chez les plus grands, nous retrouvons une augmentation significative du VEMS, du rapport de Tiffeneau et du DEM 25/75, ainsi qu'une diminution significative des résistances entre 200 et 400µg de salbutamol.

CONCLUSION :

La dose de 400µg de salbutamol semble donc augmenter la sensibilité du test de réversibilité chez l'enfant asthmatique par rapport à la dose de 200µg et pourrait être intégrée à de nouvelles recommandations. Avant cela, une étude plus large, effectuée versus placebo, et associant une cohorte d'enfants sains, semble indispensable.

EVALUATION DE L'EFFICACITE DE L'ANTIBIOTHERAPIE PROPHYLACTIQUE SUR LA QUALITE DE VIE DES ENFANTS AYANT UN DEFICIT IMMUNITAIRE HUMORAL

DUBOIS C., MULLIEZ J.

Service des EFR du CHU de Poitiers

INTRODUCTION : L'antibioprophylaxie au long cours est utilisée dans la prise en charge des enfants atteints de déficit immunitaire humoral, pourtant ce traitement n'a pas fait ses preuves. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact d'une antibioprophylaxie sur la qualité de vie des enfants ayant un déficit immunitaire humoral.

METHODE : Nous avons évalué la qualité de vie de 5 groupes d'enfants âgés de 3 à 15 ans grâce au questionnaire de qualité de vie, le Child Health Questionnaire version parentale 50. Le groupe étudié est le groupe des enfants ayant un déficit immunitaire humoral sous antibioprophylaxie et les 4 groupes témoins sont des enfants ayant un déficit immunitaire humoral non traité, des enfants ayant un déficit immunitaire humoral ne nécessitant pas de traitement, des enfants asthmatiques et des enfants sains.

RESULTAT : Les scores de qualité de vie de 60 enfants ayant un déficit immunitaire humoral dont 31 enfants traités par antibioprophylaxie ont été obtenus, ainsi que les scores de 100 enfants sains et de 100 enfants asthmatiques. Tous les scores de qualité de vie des enfants avec un déficit immunitaire humoral sont significativement inférieurs aux scores des enfants sains. Les scores de la majorité des domaines de qualité de vie et notamment tous les scores physiques des enfants ayant un déficit immunitaire humoral sous antibioprophylaxie sont significativement supérieurs aux scores des enfants ayant un déficit immunitaire humoral non traités. Ces résultats sont illustrés par un score physique global de 43,1 et un score psycho- social global de 41,1 pour le groupe traité versus 21 et 32,2 pour les enfants non traités.

DISCUSSION : Il existe une nette amélioration de la qualité de vie, dans les domaines de directement liés à la santé physique, à l'impact de la santé physique sur l'enfant et sa famille et dans les domaines psycho-sociaux, dans le groupe sous antibioprophylaxie par rapport au groupe non traité. D'autres études prospectives et multicentriques sont à réaliser afin de confirmer l'efficacité de l'antibioprophylaxie sur l'amélioration de la qualité de vie des enfants ayant un déficit immunitaire humoral.

Mots clés : Déficit immunitaire humoral – Enfant – Qualité de vie – Antibioprophylaxie

PRISE EN CHARGE DES OPERES D'UN LAPAROSCHISIS, DEVENIR A MOYEN TERME

Gatibelza M-E., Gaudin J., Mcheik J., Levard G.

*Service medico-chirurgical de pédiatrie
Chu de Poitiers, 3 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers.*

Buts de l'étude:

Le laparoschisis est une pathologie dont la morbidité repose sur la qualité et la quantité d'intestin viable. Il n'existe aucun score pronostic fiable. Nous avons recherché des facteurs prédictifs de complications post-natales et évalué la croissance à moyen terme de nos patients.

Méthodes:

Sur une étude rétrospective monocentrique de 22 patients suivis par le CPDPN de notre CHU de 1996 à 2012, nous avons étudié les paramètres anténataux et post-nataux de chaque enfant porteur d'un laparoschisis.

Résultats: La fermeture pariétale a été réalisée en 1 temps chez 20 nouveau-nés. Au cours d'une hospitalisation moyenne de 46 jours, la nutrition parentérale (NTP) a été maintenue sur une période de 36 jours et nous avons recensé six cholestases, 11 sepsis sur cathéter central. Huit fœtus porteurs d'une dilatation intestinale intra ou extra-abdominale supérieure à 16mm ont eu une durée de NTP de 64j (p=0.02) et d'hospitalisation de 76j (p=0.01) qui était prolongée. A moyen terme, six enfants ont eu des épisodes d'occlusion intestinale, cinq ont été réopérés. A long terme, sur 13 enfants ayant des données staturo-pondérales complètes, 30% ont eu une insuffisance pondérale, 23% une dénutrition, 30% un retard statural strict pendant les 2 premières années de vie.

Conclusion:

Au cours d'un suivi moyen de 3.7ans, nous n'avons eu aucun décès. Nos résultats nous permettent de penser que seul le diamètre de la dilatation intestinale semble influencer le pronostic qu'elle soit intra ou extra-abdominale. L'épaississement pariétal digestif, l'index de liquide amniotique et la position des anses dilatées ne peuvent être retenus comme facteurs pronostics. Le devenir à long terme de ces enfants est bon: seuls deux enfants gardent une constipation chronique. Leur croissance semble similaire à celle des enfants indemnes au delà de 2 ans.

INFLUENCE DES APPORTS PROTIDIQUES PARENTERAUX PRECOSES SUR LA FONCTION RESPIRATOIRE DES ENFANTS ATTEINTS DE DYSPLASIE BRONCHO-PULMONAIRE

Bourgoin-Heck M., Mulliez J., Bott L., Pr X. Drouot, Pr M. Eugène, Dr V. Diaz

CHU de Poitiers, Service des explorations fonctionnelles respiratoire et Service de réanimation néonatale et pédiatrique

Introduction :

Malgré des progrès constants dans la prise en charge de la prématurité, la dysplasie broncho-pulmonaire (DBP) reste une pathologie très fréquente. Comparés à d'autres prématurés de même âge gestationnel, les enfants ayant eu une DBP ont plus de risques d'avoir des symptômes respiratoires persistants. Plusieurs études ont montré l'importance d'un apport énergétique et protéique précoce pour améliorer le développement et la maturation pulmonaires. L'objectif de notre étude était donc d'évaluer l'influence d'un apport protidique parentéral précoce sur la fonction respiratoire à distance des enfants atteints de DBP.

Matériels et méthodes :

18 grands prématurés ayant été hospitalisés dans le service de réanimation néonatale du CHU de Poitiers et atteints de DBP ont été inclus, et répartis en deux groupes en fonction de l'apport protidique parentéral. La fonction respiratoire de ces enfants était étudiée entre 3 et 6 ans, par des épreuves fonctionnelles respiratoires comprenant les mesures des résistances des voies aériennes, de la capacité résiduelle fonctionnelle (CRF) et du NO exhalé.

Résultats :

Les résistances des voies aériennes étaient significativement plus basses dans le groupe ayant reçu un apport protidique précoce [$p = 0,002$]. De plus, on montrait une corrélation inverse entre l'apport protéique total des 3 premiers jours de vie et les résistances pulmonaires [$r = -0,68$; $p = 0,002$]. En revanche, on ne retrouvait pas de lien entre l'apport calorique et les paramètres de fonction respiratoire étudiés. La CRF était significativement augmentée chez les enfants ayant reçu un apport protidique faible durant la première semaine de vie. Le NO exhalé n'était pas augmenté.

Conclusion :

Les apports protidiques parentéraux précoces ont permis une diminution de l'obstruction bronchique, et donc une amélioration de la fonction respiratoire à long terme des enfants atteints de DBP. Ces résultats soulignent l'importance d'adapter à la fois quantitativement et qualitativement la nutrition parentérale des grands prématurés.

Mots Clés

Dysplasie broncho-pulmonaire ; Nutrition parentérale ; Apports protidiques ; Explorations fonctionnelles respiratoire ; Prématurité.

MESURE DES VOLUMES EXPIRES A DIFFERENTES ETAPES DE LA DECROISSANCE DU DEBIT AU COURS DE L'EXPIRATION FORCEE CHEZ L'ENFANT. UNE NOUVELLE METHODE D'ANALYSE DES BOUCLES DEBIT-VOLUME PARTIELLES.

Siao V, Mulliez J, Eugène M, Drouot X, Diaz V.¹

¹*Service des Explorations fonctionnelles, CHU Poitiers*

Introduction:

Les EFR occupent une place importante dans le diagnostic et le suivi d'une maladie asthmatique. L'enfant d'âge préscolaire ne parvient habituellement qu'à effectuer des boucles débit-volume partielles dont l'interprétation reste délicate. En cas d'obstruction bronchique, les débits expiratoires forcés décroissent plus précocement au cours de l'expiration. la courbe débit volume partielle pourrait donc être analysée différemment.

L'objectif de notre étude est d'évaluer la faisabilité et l'intérêt de la mesure du volume expiré (Vexp30, Vexp60, Vexp90) lorsque le débit maximal atteint 30%, 60% et 90% du débit de pointe théorique, ce qui équivaut au DEM25, DEM50 et DEM75 théoriques chez des enfants sans et avec obstruction bronchique.

Matériels et méthodes.

Dans une première étude rétrospective, nous avons mesuré Vexp90, Vexp60, Vexp30 sur les courbes débit-volume de 26 enfants âgés de 8 à 15 ans, ayant un syndrome obstructif authentifié sur les EFR et 32 non-obstructifs. Vexp90, Vexp60, Vexp30 étaient significativement plus petits dans le groupe d'enfants obstructifs ($p < 0,05$).

Résultats.

Cinquante-cinq enfants de 5 à 7 ans, dont l'obstruction bronchique était évaluée par la mesure des résistances par interruption du flux expiratoire (Rint), ont ensuite réalisé des boucles débit-volume. Les enfants ont été répartis en deux groupes : obstructif (Rint > 120% de la théorique) et non-obstructif (Rint < 120% de la théorique). Vexp 90 et Vexp 60 étaient là aussi significativement diminués chez les enfants obstructifs ($p < 0,05$).

Conclusion.

Ces premiers résultats sont très préliminaires: la réalisation des boucles débit-volume partielles s'est avérée bien acceptée par les enfants et la diminution des Vexp dans les groupes obstructifs suggère qu'il pourrait servir de marqueurs d'obstruction. Une étude plus large prospective est prévue pour pouvoir valider ce paramètre.

MOTS-CLE : syndrome obstructif, courbe débit-volume, volumes expirés

IMAGERIE DES OSTEITES CHRONIQUES MULTIFOCALES RECURRENTES DE L'ENFANT ET DE L'ADOLESCENT A PARTIR D'UNE COHORTE NATIONALE DE 178 CAS

Nouar Dalila (USP Hôpital Clocheville CHU Tours)

co-auteurs : Julien Wippf¹, Yves Marot² Cyrille Hoarau³

¹ Service de Rhumatologie A - Hôpital Cochin, AP-HP, 75014 France, ² Urgences Pédiatriques - Hôpital Clocheville, CHU Tours, 37000 France, ³ Unité d'allergologie-immunologie - Hôpital Bretonneau, CHU Tours, 37000 France

L'ostéite chronique multifocale récurrente (OCMR) est une pathologie rare caractérisée par des lésions inflammatoires d'ostéite aseptique d'étiologie indéterminée chez l'enfant et l'adolescent. Le risque de déformation osseuse et le retard de croissance constituent un véritable défi pour une prise en charge précoce de cette pathologie. L'imagerie : radiographie, scintigraphie osseuse et imagerie par résonance magnétique (IRM) associée à la biopsie osseuse sont les principaux examens permettant le diagnostic de cette pathologie. L'IRM permet de diagnostiquer précocement les lésions multifocales sous-jacentes d'une atteinte clinique unifocale. Le score de Jansson, récemment développé pour affiner la démarche diagnostique devant une suspicion d'OCMR pourrait également éviter des biopsies osseuses invasives et inutiles.

Objectifs : Nous avons colligé l'ensemble des cas français d'ostéite chronique multifocale récurrente en précisant les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, biologiques, anatomopathologiques et surtout radiologiques.

L'objectif principal de cette étude était de démontrer l'intérêt majeur de l'IRM corps entier dans la détection de lésions osseuses multifocales devant une atteinte clinique unifocale. L'objectif secondaire était de démontrer l'intérêt de l'utilisation du score de Jansson dans la démarche diagnostique afin d'éviter le maximum de biopsies osseuses qui constituent un geste invasif chez l'enfant.

Matériel et Méthodes : 178 patients ont été inclus dans toute la France (123 filles, 55 garçons) dans 12 CHU, avec un âge moyen au diagnostic de 10.9±2.9 ans. En l'absence de critères internationaux consensuels, les critères d'inclusion choisis étaient : patient(e) ayant une ou plusieurs localisations d'ostéite confirmée par imagerie (IRM ou scintigraphie osseuse et radiographies) et ayant débuté avant l'âge de 18 ans. Les critères d'exclusion étaient : âge supérieur à 18 ans, autre diagnostic de lésion osseuse dont l'ostéite septique, tumorale ou l'arthrite juvénile idiopathique avec enthésite. Les données ont été relevées de manière rétrospective.

Résultats : 30% (54/178) des enfants présentaient initialement une lésion osseuse unifocale clinique touchant principalement les membres inférieurs. Parmi ces formes unifocales, l'imagerie a révélé que 52%(28/54) étaient en fait multifocales. L'imagerie réalisée pendant l'évolution a également montré que seulement 7% des patients (12/178) gardaient une véritable présentation unifocale, les autres étant en fait multifocales. L'IRM a une meilleure sensibilité 52% (20/38) que la scintigraphie osseuse (34%) 14/41 dans la détection des lésions multifocales. Le score clinique de Jansson aurait pu être appliqué chez 110/178 patients et aurait évité 25% (27) de biopsies osseuses.

Conclusion : Il s'agit de la plus grande cohorte d'OCMR décrite. Nos résultats confirment que l'utilisation de l'imagerie (IRM, radiographie et scintigraphie) et surtout de l'IRM corps entier permet de détecter des lésions multifocales sous-jacentes chez des patients ayant une localisation osseuse douloureuse unique. L'application du score de Jansson aurait pu éviter un quart des biopsies osseuses réalisées dans cette cohorte

Mots clés : ostéite chronique multifocale récurrente, enfant, IRM corps entier, biopsie osseuse, score de Jansson

UVEITES PEDIATRIQUES NON INFECTIEUSES SUIVIES AU CHU DE TOURS

Nouar.D¹, Hoarau.C², Le Lez M.L³

^{1,2} Unité d'immunologie-allergologie CHU de Tours, France, ³ Service d'ophtalmologie CHU de Tours, France

L'uvéite pédiatrique est une pathologie grave et potentiellement cécitante dans 15 à 20 % des cas. Une prise en charge diagnostique et thérapeutique précoce est primordiale. L'étiologie principale, lorsqu'elle est retrouvée, est l'arthrite juvénile idiopathique (AJI). Les biothérapies constituent un avènement dans le traitement des uvéites et en particulier celles liées à l'AJI.

Nous avons recueilli rétrospectivement les données épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutives de 32 enfants, suivis entre 2004 et 2013, pour une uvéite non infectieuse, dans le service d'ophtalmologie du CHU de Tours et en consultation de rhumatologie pédiatrique à l'hôpital Clocheville.

Parmi les 32 dossiers analysés il y avait 62 % de filles et 38 % de garçons. L'âge moyen au diagnostic était de 7.7 ± 3.4 ans. Des complications ophtalmologiques étaient présentes d'emblée chez 72% des patients. L'uvéite était unilatérale dans 56% des cas, et antérieure dans 75 % des cas. A la fin de l'étude 41 % des uvéites étaient d'origine idiopathique et 41% liées à une AJI oligoarticulaire. Le Tyndall était amélioré dans 50% des cas et stabilisé dans 50% des cas. Un tiers des patients avait présenté des complications ophtalmologiques nouvelles. L'évolution globale des uvéites était récurrente dans 84% des cas et 75 % des uvéites avaient récidivé au moins une fois. Un gain de l'acuité visuelle dans cette cohorte a été retrouvé de 4/10 initialement à 6.3/10 au final. L'acuité visuelle moyenne des 13 uvéites liées à une arthrite juvénile idiopathique s'est légèrement améliorée sous traitement : de 4/10 à 5/10 à la fin de la période d'étude. La corticothérapie locale était systématiquement utilisée en association à des traitements systémiques (corticothérapie orale et/ou intraveineuse, méthotrexate) dans 81% des cas. Les uvéites liées à l'AJI étaient de localisation anatomique antérieure. Une biothérapie par anti-TNF (adalimumab) a été utilisée chez 41% des patients.

L'uvéite pédiatrique est une pathologie insidieuse et le risque de malvoyance n'est pas négligeable. L'AJI est l'étiologie principale. L'absence de consensus sur la prise en charge thérapeutique et l'importance de notre cohorte valident la nécessité d'une concertation pluridisciplinaire, entre l'ophtalmologiste et le pédiatre rhumatologue pour une prise en charge optimale de ces enfants.

MOTS CLES : Uvéite, enfant, cécité, Tyndall, arthrite juvénile idiopathique, biothérapie

AUTRES

CONTRIBUTION A L'ETALONNAGE DU PRM (PROFIL DE RENDEMENTS MNESIQUES) DE REY SUR UNE POPULATION DE PLUS DE 60 ANS

GASGNIER I.¹ ; LASSERRE J-P.² ; RICAUVY M.²

¹Ecole d'Orthophonie, Université de Poitiers ; ²Ecole d'Orthophonie, Université de Toulouse

Introduction : L'orthophoniste est appelé(e) à prendre en charge les troubles de la mémoire affectant le langage et la communication dans de nombreuses pathologies neurologiques, dont l'incidence augmente avec l'âge. Dans cette démarche de réhabilitation, le bilan est le préalable de toute rééducation. Nous disposons pour cela de nombreux tests ou batteries de mémoire. Toutefois, il n'en existe à notre sens que très peu qui, sur une épreuve unique, testent au niveau élaboré à la fois la mémoire verbale, la mémoire visuo-spatiale et les fonctions exécutives, et ce dans un bon rapport temps/performance. Le PRM de Rey nous a semblé présenter plusieurs de ces qualités. Ce test ne disposant d'aucune donnée normative pour les personnes âgées, l'objectif principal de ce mémoire était l'étalonnage du PRM sur une population de plus de 60 ans. Selon notre première hypothèse, notre étalonnage devait prendre en compte les variables d'âge et plus encore de niveau culturel, réputées avoir une influence sur les performances mnésiques. Nous avons posé comme deuxième hypothèse que le PRM pouvait être un outil de première intention en pathologie neurologique.

Sujets et méthodes : Nous avons proposé le test à une population mixte de 79 sujets sains (âge moyen 72 ans, 71% de femmes), répartis en trois tranches d'âge et trois niveaux culturels. Ces témoins ont été sélectionnés sur la base d'un score non pathologique au MMS (Mini Mental State). Parallèlement, afin d'objectiver d'éventuels profils lésionnels, nous avons soumis le PRM à une population de 32 patients hospitalisés à la clinique de rééducation fonctionnelle de Verdaich (Haute-Garonne), et répartis en quatre groupes : aphasiques légers (8), syndromes de l'hémisphère mineur (10), syndromes frontaux post-traumatiques (8) et dysfonctions cognitives post-opératoires (6). Les données ont fait l'objet d'un traitement statistique quantitatif et qualitatif.

Résultats : Les résultats mettent en évidence un effet négatif de l'âge, plus marqué à partir de 80 ans ($p = 0,01$ aux épreuves de rappel), avec une atteinte en particulier de la mémoire épisodique et des capacités exécutives. En revanche, nous n'avons pu établir aucun effet significatif du niveau culturel sur les performances. Par ailleurs, nous n'avons pas déterminé de profil lésionnel significatif dans la population pathologique. Toutefois, notre étude a permis d'isoler des indices qualitatifs susceptibles d'orienter le diagnostic et la prise en charge ultérieure.

r

Conclusion : Notre première hypothèse n'est que partiellement validée. Le PRM représente par conséquent une alternative intéressante à d'autres tests plus dépendants du niveau culturel. Qui plus est, dans certains cas particuliers – faible niveau culturel, antécédents de pathologie du langage – il mériterait d'être proposé en première intention. Le travail qualitatif que nous avons mené au travers et à côté de l'étalonnage nous a permis de valider notre deuxième hypothèse, et de dégager des tendances. Certes, nous n'avons pas pu objectiver des profils mnésiques typiques. En revanche, nous avons isolé des indices exploitables dans la détérioration intellectuelle de la personne âgée. Ces indices pourraient également s'avérer intéressants dans d'autres pathologies neurologiques affectant l'adulte.

Oncostatin M is a potent pro-inflammatory cytokine for mouse skin inflammation.

Pohin M¹, Paris I^{1,2}, Bernard FX^{1,3}, Richards C⁴, Blanchard F⁵, Lecron JC^{1,2}, Morel F¹ and Jégou JF¹

¹Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines (LITEC), EA 4331, University of Poitiers, France

² Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, France

³ BioAlternatives, Gencay, France

⁴McMaster University, Center for Gene Therapeutics, Hamilton, Ontario, Canada

⁵INSERM UMR 957, University of Nantes, France

RESUME:

Introduction: Skin inflammatory diseases such as psoriasis or atopic dermatitis are associated to specific cytokine expression profiles. Recently, our laboratory identified a cocktail of 5 cytokines composed of IL-1 α , IL-22, IL-17A, TNF- α and Oncostatin M (OSM), able to reproduce a psoriasis-like inflammatory phenotype *in vitro* on human primary keratinocytes and *in vivo* on mouse skin. Among these cytokines, OSM seems to play a major role in skin inflammation and in the pathological alterations of the epidermis structure, making this cytokine an interesting therapeutic target. To test *in vivo* new strategies to block OSM activities, we need to develop and to characterize an animal model of cutaneous inflammation induced by this cytokine. Preliminary *in vitro* results obtained on mouse keratinocyte cultures revealed the predominant activity of OSM compared to other members of the IL-6 family such as IL-6 and IL-31, also known to be involved in skin inflammation. Our project consists now in investigating OSM activities *in vivo* on mouse skin by comparison with IL-6 and IL-31.

Material and methods: C57BL6/J mice were injected in the ear with adenoviruses (ad) encoding either mouse IL-6, IL-31 or OSM to induce skin inflammation. At 24h or 7 days post-infection, ears were collected and the expression of genes involved in inflammatory processes and keratinocyte differentiation were analyzed by RT-qPCR. Histological and immunohistofluorescent experiments were performed on ear sections to analyze alterations of epidermis structure and to determine the nature of infiltrating immune cells.

Results: Only mice injected with adOSM presented persistent clinical signs of ear inflammation seven days after ear injection, while they rapidly disappeared in adIL-6 and adIL-31-injected mice. Analysis by RT-qPCR showed that adOSM injection induced an increased expression of genes coding for antimicrobial peptides such as S100A8 and S100A9 or chemokines (CXCL-3) and changes in the expression of several genes involved in keratinocyte differentiation (cytokeratins, desmogleins, filaggrin). The histological examination of ear sections revealed an epidermal hyperplasia only when mice were injected with adOSM, along with a major infiltration of neutrophils, macrophages and lymphocytes.

Conclusion: The results obtained in this *in vivo* study confirmed that OSM plays a major role in mouse skin inflammation, reproducing several features of human skin inflammatory diseases. This murine model of cutaneous inflammation might be suitable to test new strategies to block OSM activities such as blocking antibodies or neutralizing peptides of OSM receptor.

RéaAnesthésie

Prophylaxie anti comitiale chez les cérébrolésés : enquête de pratiques professionnelles

Elsa Carise, Denis Frasca , Olivier Mimoz , Bertrand Debaene , Claire Dahyot-Fizelier

Service d’Anesthésie réanimation CHU de Poitiers ; INSERM U1070

Introduction: Une des complications des agressions cérébrales aiguës (traumatisme crânien (TC) ou hémorragie sous- arachnoïdienne (HSA) sont les crises convulsives, à l’origine de lésions cérébrales secondaires par relargage excessif de neurotransmetteurs, augmentation du métabolisme et élévation de la pression intra-crânienne aggravant ainsi la morbi- mortalité et la réhabilitation des patients. Leur prévention systématique n’est pas formalisée, les recommandations sont anciennes et sans consensus des sociétés savantes. Le but de notre étude est d’évaluer les pratiques des services francophones prenant en charge des cérébrolésés, en terme de prophylaxie des crises convulsives.

Matériel et Méthodes: Un questionnaire informatique portant sur les indications, les molécules utilisées et la durée de la prophylaxie a été envoyé par courriel à 59 réanimations et unités de soins intensifs (centres hospitaliers français et centres privés ; hôpitaux suisses et belges adhérents à l’ANARLF). Les statistiques sont descriptives.

Résultats: 37 réponses ont été obtenues de 30 services différents (58 % de réanimations neurochirurgicales). 65 % des centres ont un protocole de service et 30 % peuvent monitorer l’EEG en continu. Pour les TC, une prophylaxie est prescrite par 61 % des services (20/33), systématiquement dans 55 % (11/20) des cas et selon des critères de gravité (convulsions précoces, lésion scannographique intra-parenchymateuse, traumatisme pénétrant) pour les 45% restants (9/20). Le lévétiracétam (Keppra®) est le plus prescrit (79 %) suivi de la phénytoïne (18 %) (Tableau). La durée de prévention est inférieure à 3 semaines dans 79 % des cas (dont 62 % entre 7 à 10 jours). Concernant les HSA, l’embolisation est pratiquée en première intention dans tous les services ; une prophylaxie primaire n’est mise en place que pour 28 % (10/36) des services, dont la moitié seulement en présence de critères de gravité. Le lévétiracétam est le plus prescrit (75 %), suivi du clonazépam (11,1 %). Dans 69 % des cas, la durée de la prophylaxie est inférieure à 3 semaines.

Discussion

Cette enquête montre que 65 % des centres ont un protocole de service, que le monitoring continu reste à développer, que la prophylaxie de courte durée est privilégiée et qu’elle est peu prescrite dans l’HSA après embolisation selon les recommandations. Quels que soient le terrain et le type de prévention, l’antiépileptique le plus prescrit est le lévétiracétam (75-80 % des cas) malgré l’absence de recommandation. Une actualisation des ces dernières pourrait permettre d’uniformiser les pratiques.

	TC (n = 33)	HSA (n = 36)
Lévétiracétam	26 (78,8%)	27 (75,0%)
Valproate de Sodium	3 (9,0%)	2 (5,6%)
Phénytoïne	6 (18,2%)	2 (5,6%)
Fosphénytoïne	1 (3,0%)	2 (5,6%)
Clonazépam	4 (12,1%)	4 (11,1%)
Clobazam	2 (6,1%)	2 (5,6%)
Carbamazépine	1 (3,0%)	1 (2,8%)

REPRODUCTIBILITE DE LA MESURE ECHOGRAPHIQUE DE LA SURFACE ANTRALE GASTRIQUE CHEZ LE VOLONTAIRE SAIN

M Chaillan¹ (MC), F Petitpas¹ (FP), D Frasca¹ (DF), C Rousseau-Cullet² (CRC), JP Tasu² (JPT), B Debaene¹ (BD)

Service d'anesthésie-réanimation¹ et de gastro-entérologie² du CHU de Poitiers

Introduction :

L'inhalation est une des premières causes de mortalité liée à l'anesthésie. L'exploration échographique de l'estomac est une méthode non-invasive permettant le calcul de la surface antrale (CSA), corrélé au volume gastrique, à partir des diamètres antéro-postérieur et crânio-caudal, et proposé pour affirmer le diagnostic d'estomac plein. Le but de cette étude était d'évaluer la reproductibilité d'une méthode de calcul (CSA) et d'une méthode de mesure obtenue par délimitation de la surface antrale (DSA), entre 3 catégories d'échographistes d'expérience différente. La concordance et la performance du diagnostic de l'état prandial ont été évaluées.

Type de l'étude :

Etude monocentrique, prospective, randomisée, en simple aveugle.

Matériels et méthodes :

Après approbation du CPP, 20 volontaires sains ont été randomisés en deux groupes ; à jeun depuis plus de 6H (n=10) ou post-prandial (n=10), après prise alimentaire liquide et solide standardisée (500mL). Trois catégories d'opérateurs (radiologues, anesthésistes-réanimateurs séniors et juniors) en aveugle du statut prandial du volontaire, réalisaient successivement 3 séries de 3 coupes consécutives par volontaire. Pour chaque opérateur, un CSA et une DSA étaient réalisés sur chacune des 9 coupes, et un diagnostic de l'état prandial était émis par série. La reproductibilité du CSA et de la DSA a été évaluée par la méthode de Bland et Altman, sur de la totalité de l'échantillon pour l'analyse intra-opérateur, et chez les volontaires à jeun pour l'analyse inter-opérateur. La concordance entre les opérateurs a été déterminée par le coefficient Kappa de Cohen, et la performance du diagnostic prandial échographique par le calcul de la sensibilité (Se), la spécificité (Sp), la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) du diagnostic d'estomac plein.

Résultats :

En intra-opérateur, le coefficient de variation (CV) du CSA était de 27,6 % pour les radiologues, de 36,6 % pour les séniors et de 37,0 % pour juniors. Le CV de la DSA était similaire avec 27,8 % chez les radiologues, 37,7 % chez les séniors et 35,8 % chez les juniors. Par rapport aux radiologues, le biais \pm CV de la moyenne des CSA obtenue au cours d'une série était de $8,8 \pm 30,6$ % pour les séniors et de $11,1 \pm 42,1$ % pour les juniors. Pour le DSA, ce biais \pm CV était de $2,7 \pm 31,3$ % pour les séniors et de $23,7 \pm 35,8$ % pour les juniors. La concordance du diagnostic prandial échographique a été jugée excellente entre les radiologues et les séniors. Toutes catégories d'opérateurs confondues, la Se et la VPN du diagnostic d'estomac plein était de 86,7 % et 87,8 %, et la Sp et la VPP de 83,7 % et 82,3 %.

Conclusions :

L'évaluation quantitative du contenu gastrique par le CSA ou la DSA a été peu reproductible, tant en intra qu'en inter-opérateur. L'expérience est un facteur déterminant, pour améliorer la reproductibilité. Le diagnostic prandial échographique est concordant entre les opérateurs. L'échographie semble être un outil diagnostic intéressant dans la détection des estomacs pleins, mais une formation spécifique des opérateurs reste nécessaire.

SURVEILLANCE DE LA FREQUENCE RESPIRATOIRE PAR CAPNOGRAPHIE AU COURS DES ENDOSCOPIES DIGESTIVES HAUTES SOUS SEDATION : EVALUATION D'UN DISPOSITIF INTRA-BUCCAL ADAPTE (SAFETY-GUARD®)

M Chaillan¹ (MC), B Brugière¹ (BB), D Frasca¹ (DF), M Wangermez² (MW), O Mimosz¹ (OM), B Debaene¹ (BD)

Service d'anesthésie-réanimation¹ et de gastro-entérologie² du CHU de Poitiers

Introduction :

La capnographie est recommandée pour monitorer la fréquence respiratoire (FR) au cours des endoscopies digestives hautes (EDH) sous sédation. Le recueil de CO₂ expiré est souvent perturbé une fois l'endoscope introduit. Un dispositif intra-buccal constitué d'un cale-dents et d'une canule abaisse-langue amovible (Safety-Guard®, Vygon) a été récemment proposé pour résoudre cet écueil. Le but de cette étude était d'évaluer si ce dispositif permettait le recueil de la FR *via* le signal de capnographie en présence d'un endoscope.

Type de l'étude :

Etude monocentrique, prospective, randomisée, ouverte et en cross-over.

Matériel et méthodes :

Après approbation du comité d'éthique, 40 patients bénéficiant d'une EDH de plus de 20 minutes (min) ont été randomisés, en cross-over, en deux groupes ouverts. Après mis en place du cale-dents, un groupe bénéficiait de la canule durant les 10^{ères} min de l'examen et l'autre n'en bénéficiait qu'à partir de la 10^{ème} min. L'anesthésie était réalisée avec du propofol en AIVOC (cible cérébrale de 2 µg/mL). La FR clinique (FRclin), obtenue par auscultation pré-trachéale, la FR mesurée par capnographie (FRcapno), et par impédancemétrie (FRimpéd) ont été relevées simultanément toutes les 3 min. Un décompte des oscillations capnographiques a été réalisé à partir des enregistrements du CO₂ expiré. Les apnées détectées étaient confirmées ou infirmées par un examen clinique. Pour chaque méthode, la précision (biais moyen et limites de concordance) de la FR mesurée a été analysée par la méthode de Bland et Altman, en utilisant la FRclin comme méthode de référence. La sensibilité (Se), la spécificité (Sp), la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) des apnées détectées ont été calculées.

Résultats :

Le biais (moyenne des différences), la précision (± 1 DS) et les limites de concordances ($\pm 1,96$ DS) étaient de $3,6 \pm 6,9$ [-9,9 ; 17,1] cpm pour la FRcapno, de $1,5 \pm 5,4$ [-8,9 ; 12,0] cpm pour le décompte des oscillations capnographiques, et de $-0,7 \pm 5,3$ [-11,0 ; 9,6] cpm pour la FRimpéd. En présence de la canule, le biais de la FRcapno était de $3,2 \pm 6,5$ cpm, similaire à celui observé sans la canule ($4,0 \pm 7,0$ cpm). La Se, et la VPN étaient de 89,8 % et 97,9 %, et, la Sp et la VPP de 87,4 % et 56,4 %, pour la capnographie et respectivement de 14,3%, 86,7%, 96,8%, et 43,8% pour l'impédancemétrie.

Conclusion :

La précision de la FRcp observée au travers du dispositif reste inférieure à celle de l'impédancemétrie, même en présence de la canule et malgré l'amélioration observée par le décompte visuel des oscillations capnographiques. Ce dispositif permet toutefois une détection précoce des apnées, bien que de nombreuses fausses alarmes perturbent leur analyse. L'ergonomie du dispositif est en partie remise en cause.

Mesure non invasive et continue de l'hémoglobine (Hb) : Evaluation de la précision de la Co-Oxymétrie pulsée (SpHb) avant et après ajustement *in vivo*.

Benoit Giraud, Hélène Mounios, Denis Frasca, Bertrand Debaene, Olivier Mimoz

Service d'Anesthésie réanimation CHU de Poitiers ; INSERM U1070

Introduction

L'anesthésiste a besoin d'un monitoring étroit de l'Hb afin d'éviter toute erreur transfusionnelle. La Co-Oxymétrie pulsée (SpHb) permet une surveillance continue de l'Hb. Une amélioration de sa précision a été observée lorsqu'elle était ajustée de manière rétrospective sur la première valeur d'Hb au laboratoire (HbLab). Au bloc opératoire, un ajustement sur la NFS n'est pas réalisable. Comparée à HbLab, l'Hemocue® sur sang artériel (HcueArt) permet une mesure d'Hb rapide et précise autorisant un ajustement prospectif de la SpHb. Les objectifs de cette étude sont (1) d'évaluer l'influence de l'ajustement prospectif « *in vivo* » de la SpHb sur le biais et la précision et (2) de comparer les performances de la SpHb après ajustement *in vivo* aux méthodes invasives disponibles.

Matériels et Méthodes

Etude observationnelle et monocentrique incluant des patients bénéficiant d'une chirurgie à risque hémorragique. Monitoring: cathéter artériel en position radiale, capteur Masimo (R2-25, Révision G) relié à son moniteur (Masimo Radical 7, 7.8.0.1). Ajustement de la SpHb avant incision à partir de la moyenne de 3 mesures d'HcueArt. Pour chaque mesure d'Hb, la SpHb était notée et on réalisait simultanément un HemoCue® sur sang capillaire (HcueCap), un prélèvement de sang artériel analysé de manière extemporanée par HemoCue® (HcueArt) et un Co-Oxymètre déporté (Siemens RapidPoint 405, HbGDS) et secondairement par le laboratoire (Sysmex XT-2000i, HbLab). La précision des méthodes déportées par rapport à la méthode de référence (HbLab) a été évaluée selon la méthode de Bland et Altman pour mesures multiples.

Résultats

118 prélèvements ont été effectués chez 37 patients. Les valeurs d'HbLab étaient comprises entre 7,4 et 14,2 g/dL (moyenne ± DS : 11 ± 0,8) ; dont 25% <10 g/dL (Tableau).

Discussion

L'ajustement *in vivo* de la SpHb ne permet pas d'amélioration significative du biais et de la précision. Parmi les méthodes déportées au bloc opératoire, HcueArt est la méthode la plus précise.

Tableau. Biais et précision des différentes méthodes de mesure de l'hémoglobine.

	SpHb pré	SpHb in vivo	Hcue Art	Hcue Cap	HbGDS
Biais	-0,6	-0,4	0	-0,6	-0,6
précision	1,3	1,1	0,4	1,2	0,7

VALEUR PREDICTIVE DE L'EXAMEN CYTO-BACTERIOLOGIQUE TRACHEALE (ECBT) D'ADMISSION DES PATIENTS CEREBRO-LESES SUR LES PNEUMOPATHIES ACQUISES SOUS VENTILATION MECANIQUES (PAVM).

F. Pain, O. Mimoz, D. Frasca, J. Karayan, B. Debaene, C. Dahyot-Fizelier.

Service d'Anesthésie-Réanimation, CHU de Poitiers.

Introduction : Les patients cérébro-lésés développent dans 20 à 50% des cas une PAVM, aggravant leur morbi-mortalité. Les bactéries responsables sont principalement des germes communautaires de la sphère ORL évoquant une colonisation de l'arbre trachéo-bronchique pouvant devenir pathogènes secondairement. Le but de l'étude était de déterminer si la colonisation objectivée à l'ECBT d'admission (J0) était prédictive de la survenue de PAVM. L'incidence, le délai de survenue de la 1ère PAVM, les germes pathogènes et les facteurs de risque (FDR) de PAVM étaient les objectifs secondaires.

Matériel et Méthodes : Après accord du CPP et information, les patients cérébro-lésés avec une ventilation prévisible de plus de 48h, admis de mars à décembre 2012, étaient inclus. Un ECBT était réalisé à J0 et à chaque suspicion de PAVM selon les critères de l'ATS, confirmée par une culture positive $> 10^6$ ufc/ml. La colonisation était définie par un ECBTJ0 identifiant au moins un germe dominant quel que soit le seuil. Les données démographiques, de prise en charge, de gravité, de ventilation, de séjour, pronostiques et une antibiothérapie pour pneumopathie d'inhalation (PI) des 48 premières heures (inhalation patente et/ou signes cliniques de pneumopathie) étaient recueillies. Les patients étaient répartis en 2 groupes, ceux avec (PAVM+) et ceux sans PAVM (PAVM-). Les données catégorielles et continues étaient comparées par des tests non paramétriques. Les FDR de PAVM étaient recherchés par une analyse multivariée. Les résultats sont exprimés en médiane [interquartiles]. Le seuil de significativité était de $p < 0.05$.

Résultats : 76 patients (âge 46 ans [31-60] ; SAPS II 47 [41-52] ; Glasgow 7 [5-10] ; durée de séjour 23 j [12-31]) étaient inclus pour traumatisme crânien (TC) (59%), hémorragie sous arachnoïdienne (HSA) (14%), ou pour une autre cause (hématome intra parenchymateux, postopératoire, neurologie aigue) (26%). La médiane de survenue des PAVM était de 7j [4-10] et l'incidence globale de 54% avec par sous-population, 67% des TC, 54% des HSA, et 25% pour les autres causes. Les 2 groupes étaient comparables. La colonisation à J0 n'était pas prédictive de survenue de PAVM (Se = 73% ; Sp = 14% ; VPP = 50% ; VPN=20%). Les germes identifiés lors des PAVM étaient à 92% sensibles à l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC-S). Les FDR de PAVM retrouvés étaient l'alcoolisme (OR=7,8 ; IC95 [1,4-46,2]) et l'inhalation (OR=9,3 ; IC95 [1,8-51,0]), le facteur diminuant leur risque de survenue était une antibiothérapie précoce pour PI (OR=0.5 ; IC95 [0.0001-0.83]). La durée de ventilation était significativement plus courte dans le groupe PAVM- (11j [5-21] vs 22 j[16-31]). La mortalité n'était pas différente entre les 2 groupes (19%).

Conclusion : La colonisation de l'ECBTJ0 n'est pas prédictive du développement d'une PAVM. Trois PAVM sur 4 surviennent au delà de 7 jours et 4/5ème des germes retrouvés sont AMC-S. L'indication de l'AMC chez les cérébro-lésés devrait probablement être élargie même pour des PAVM survenant après 7 jours.

TRACE MNESIQUE DE L'INTERVENTION MEDICO-PSYCHOLOGIQUE REALISEE AUX URGENCES DANS LE CADRE D'UNE INTOXICATION MEDICAMENTEUSE VOLONTAIRE ET ADHESION A LA PRISE EN CHARGE ULTERIEURE.

Lionel Lyes SI AHMED (LS), Michel DELCOUSTAL (MD)

Centre Hospitalier Henri Laborit, Pôle de recherche et de psychologie médicale, Unité d'Accueil Médico-Psychologique (UAMP).

Introduction :

Les services d'urgences sont devenus peu à peu un des lieux du soin médico-psychologique. Au cours de ces vingt dernières années, on a observé une progression constante du nombre de demandes d'évaluation médico-psychologique dans les services d'urgences des hôpitaux généraux. Chaque année, environ 180 000 tentatives de suicides transitent par les services d'urgences français. De nombreux travaux ont montré l'importance de la création d'une alliance thérapeutique dès le premier entretien médico-psychologique réalisé aux urgences, notamment avec les patient suicidants.

Objectifs :

L'objectif principal de cette étude est la mise en évidence d'une altération de la trace mnésique de l'intervention médico-psychologique réalisée aux urgences chez certains patients suicidants ayant réalisé une intoxication médicamenteuse volontaire (IMV). L'objectif secondaire est la mise en évidence d'une moindre adhésion à la prise en charge médico-psychologique ultérieure chez les suicidants qui présentent une trace mnésique altérée.

Méthode :

Trente-sept patients ont été inclus dans une étude prospective descriptive réalisée aux urgences du CHU de Poitiers entre le 15 mars et le 15 juin 2013. L'évaluation de la trace mnésique a été recueillie à l'aide d'un questionnaire standardisé par contact téléphonique entre le 7ème et le 12ème jour suivant l'IMV. L'évaluation de l'adhésion à la prise en charge médico-psychologique ultérieure a été réalisée à l'aide d'un questionnaire standardisé par contact téléphonique avec le référent des soins psychiques du patient à 2 mois de l'IMV, sur des critères d'alliance thérapeutique et d'observance médicamenteuse.

Résultats :

Un quart des patients présentent une trace mnésique altérée de l'intervention médico-psychologique réalisée dans les suites de leur IMV. L'altération de la trace mnésique est associée à l'intentionnalité suicidaire au moment du passage à l'acte et à la surveillance par scope aux urgences. Un état dépressif ($p=0.062$) ainsi qu'une intoxication aux benzodiazépines ($p=0.079$) sont retrouvés chez la plupart des patients présentant une trace mnésique altérée. Près de la moitié des patients présentent une faible adhésion à la prise en charge médico-psychologique ultérieure. L'adhésion n'est pas associée à une altération de la trace mnésique ni à aucune autre des caractéristiques étudiées.

Conclusion :

L'altération du souvenir de la prise en charge médico-psychologique réalisée aux urgences dans les suites d'un passage à l'acte suicidaire ne semble pas avoir de répercussion sur l'adhésion à une prise en charge ultérieure dans notre étude. Néanmoins, elle paraît témoigner chez ces patients ayant réalisé des gestes suicidaires graves, d'une durée d'hospitalisation insuffisante n'ayant pas permis l'assimilation du travail psychothérapeutique de crise réalisé aux urgences. Ces résultats nous incitent à une plus grande collaboration entre somaticiens et psychiatres afin que ces patients vulnérables puissent bénéficier de la prise en charge la plus adaptée à leur problématique.

Etude de concordance des résultats de natremie, kaliémie, hémoglobine issus des automates délocalisés de gazométrie et des laboratoire de référence, dans les conditions de pratique clinique de réanimation.

AUVET Adrien (1,2), ESPITALIER Fabien (2), GENDROT Chantal (3), ELAROUSSI Djilali (2), , LAFFON Marc (2), DEQUIN Pierre-François (1), GUILLON Antoine (1).

(1) Service de Réanimation Médicale. (2) Département d'anesthésie-réanimation.

(3) Service de biochimie et biologie moléculaire Bretonneau CHRU de Tours.

CHRU de Tours Université F. Rabelais, F-37000 TOURS, France.

Introduction : L'anémie, les dysnatrémies et dyskaliémies sont des urgences diagnostiques et thérapeutiques. Leur diagnostic impose un délai incompressible d'acheminement, d'analyse et de récupérations des résultats des prélèvements sanguins. Les automates de gazométrie délocalisés au sein des services de réanimation (point of care testing POCT) permettent une analyse rapide de paramètres autres que les gaz du sang (GDS) tel que la natrémie (Na), la kaliémie (K) et l'hémoglobinémie (Hb). La fiabilité de ces paramètres analysés par les automates de gazométrie est peu évaluée en pratique courante.
Matériel et méthodes : Etude prospective observationnelle dans 2 services de réanimation (Rea1 : 37 lits, 55 GDS/j ; Rea2 : 10 lits, 7 GDS/j) et 1 bloc opératoire de chirurgie cardiaque (Bloc). Pour des prélèvements simultanés sur cathéter artériel, comparaison des résultats d'analyses du laboratoire et par POCT (ABL 800® Radiometer Copenhague Danemark). Les conditions pré-analytiques du Bloc étaient considérées idéales, servant de contrôle positif. La comparaison des résultats a été réalisée selon la méthode de Bland et Altman, et par test de Kruskal Wallis/Dunn.

Résultats : 491 prélèvements chez 162 patients ont été analysés dans 3 centres différents. Les volumes prélevés dans Rea1 étaient significativement inférieurs à Bloc et Rea2, et les délais d'analyses POCT significativement plus longs. La différence d'hémoglobinémie mesurée entre Bloc et Rea2 n'était pas significativement différente.

sites	Rea1 n=260	Rea2 n=178	Bloc n=53
Délai POCT (minutes)	27 ± 2 *	6 ± 5 *	3 ± 2
Délai LABO (minutes)	120 ± 47	85 ± 33	101 ± 62
Volume prélevé (ml)	0.7 ± 0.1 *	1.3 ± 0.5 *	0.9 ± 0.2
Na (mmol.L ⁻¹)	0 [-3 ; 3]	ND	0 [-3 ; 3]
K (mmol.L ⁻¹)	0,1 [-0,1 ; 0,4]	ND	-0,1 [-0,1 ; 0,4]
Hb (g.L ⁻¹)	-19 [-64 ; 27] *	-7 [-27 ; 17]	-3 [-6 ; 1]

Tableau : Résultats exprimés en moyenne ± écart type ou biais [limite de concordance inférieure ; limite de concordance supérieure]. Point of care testing (POCT) ; laboratoire (LABO). Délais, volumes, et différence d'Hb de Rea1 et Rea2 comparés à Bloc (* p<0.05).

Discussion : Nous avons observé une bonne concordance des résultats de Na et de K. En revanche, d'importantes différences étaient observées pour l'hémoglobinémie de Rea1. Le Bloc présentait des conditions d'analyse idéales : proximité de l'automate dédié au bloc opératoire, permettant une analyse rapide avec une homogénéisation idéale d'un volume de sang suffisant. Il est possible que des conditions pré analytiques difficiles à respecter de Rea1 soient responsables de ce résultat discordant: nombres d'analyses en POCT générant un délai important, homogénéisation manuelle de prélèvements de petites quantités.

Conclusion : Les valeurs de Na et K obtenues par les automates délocalisés semblent pouvoir être interprétées. Une analyse rapide d'un volume de sang suffisamment homogénéisé permet l'obtention d'une Hb fiable. De nouvelles conditions d'analyses (système d'homogénéisation automatisé, raccourcissement des délais) sont en cours d'évaluation dans Rea1.

Heterogeneity in the definition of mechanical ventilation duration and ventilator-free days

L. Contentin, S. Ehrmann & B. Giraudeau

UMR-S 738 ; INSERM CIC 202 ; Université François-Rabelais de Tours, PRES Centre-Val de Loire Université; CHRU de Tours, Service de Réanimation polyvalente

Rationale: Duration of invasive mechanical ventilation and ventilator-free days are commonly assessed outcomes in randomized clinical trials. Calculating these outcomes is complicated by patients who need several ventilation periods and/or die. We reviewed how duration of invasive mechanical ventilation and ventilator-free days are defined and how the heterogeneity in definition affects individual patient data.

Material and Methods: We searched MEDLINE via PubMed with the keywords “mechanical ventilation” OR “ventilator free days” for reports of randomized controlled trials of adults in intensive care units published between January 01, 2000 and December 31, 2011 in 10 general and intensive care journals with a high impact factor. We excluded: reports of cross-over trials, cluster randomized trials, reports of trials for which the mean observed mechanical ventilation duration was < 48 hr, reports that evaluated non-invasive ventilation, and reports of post-hoc analyses or intermediate analyses.

Measurements and Main Results: Among 128 identified reports, 104 (81%) used duration of mechanical ventilation as an outcome and 12 (11%) provided a definition (9 distinct definitions). Ventilator-free days were an outcome in 55 reports (43%); 34 (61%) provided a definition (12 distinct definitions). As an example, applying these different definitions to a patient who died before day 28 could lead to values as different as 4 to 12 days for duration of mechanical ventilation and 0 to 4 days for ventilator-free days. Observed heterogeneity to calculate the mechanical ventilation duration and ventilator-free days was due to: first, the measurement period of interest, specifying both the beginning event (randomization vs. intubation) and the end point day. Second, because a non-negligible proportion of intensive care unit patients require several mechanical ventilation episodes, the definition must specify whether any mechanical ventilation episode is taken into account (for the duration of mechanical ventilation calculation) and whether inter-mechanical ventilation episode periods are considered (for ventilator-free days calculation). Third, authors need to specify what is considered a successful extubation. Finally, for ventilator-free days, the definition should specify how dead patients are considered. *Discussion:* For each trial, at the level of a trial, heterogeneity in definitions does not challenge the results. Indeed, internal validity is not questioned, provided the same definition is applied to the different groups. Nevertheless, if the assessed intervention does not allow for blinding, internal validity may be challenged because of the subjective nature of these outcomes. Moreover, if outcomes are *a posteriori* defined (rather than in the protocol), one cannot exclude a data oriented choice of definition (a form of selective reporting bias). However, the heterogeneity in definitions or even the absence of definition raises several concerns regarding external validity. Lack of a consensus definition for these outcomes has at least 3 consequences: (i) when planning a new trial, variables required for the sample size calculation are usually derived from previous studies, which suppose that the same outcome was assessed, (ii) meta-analyses aim to pool results from several independent studies, which implies that the same outcome was assessed in these studies. As far as we know, this point is rarely discussed, and heterogeneity in outcome definitions may affect the conclusions of meta-analyses.

Conclusions: Duration of mechanical ventilation and ventilator-free days outcomes are rarely precisely defined in reports of trials of adults in intensive care units, and definitions show great heterogeneity, thus calling for an international expert-based work to define these outcomes. Standardization of these definitions is necessary to compare trial results and may also be developed for other “free-days” such as “vasopressor free-days”.

AMIKACINE NEBULISEE A FORTE DOSE : ETUDE CLINIQUE DE PHARMACOCINETIQUE EVALUANT L'EFFET DE L'HUMIDIFICATION DU CIRCUIT DE VENTILATION ARTIFICIELLE

Ehrmann S (1); Darrouzain F (2); Boulain T (3); Garot D (1); Masseret E (1); Petitcollin A (2); Legras A

(1); Mercier E (1); Badin J (1); Guillon A (1); Ternant D (2); Vecellio L (4); Perrotin D (1); Paintaud G (2); Dequin PF (1);

(1) Réanimation Polyvalente, CHRU de Tours, Tours; (2) Pharmacologie-

Toxicologie, CHRU de Tours, Tours; (3) Réanimation Polyvalente, CHR -

Hôpital de la Source, Orléans; (4) Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires – Inserm U1100/EA6305,

Université François Rabelais-Faculté de Médecine de Tours, Tours.

Introduction : La nébulisation d'antibiotiques, en complément d'un traitement intraveineux, est susceptible d'augmenter leur concentration au site de l'infection pulmonaire et donc potentiellement d'améliorer le devenir des patients. Chez le patient de réanimation, la dose de 25 mg/kg d'amikacine nébulisée est bien tolérée ; des doses de 50-60 mg/kg ont été nébulisées avec succès à des animaux ou des volontaires sains. Ces doses plus élevées, bien que potentiellement gages d'une efficacité supérieure, sont associées à des durées de nébulisation longues, source de difficultés techniques et de complications potentielles. L'objectif de l'étude était d'évaluer la faisabilité et la sécurité de la nébulisation de 60 mg/kg d'amikacine chez le patient de réanimation atteint de pneumonie nosocomiale et soumis à la ventilation artificielle invasive, en présence ou non d'un humidificateur chauffant.

Type de l'étude : Etude clinique prospective expérimentale médicamenteuse multicentrique

Matériels et Méthodes : Les patients, sous ventilation artificielle invasive, étaient inclus en cas de suspicion de pneumonie nosocomiale. En plus d'une antibiothérapie intraveineuse par bêta-lactamine, les patients recevaient 20 mg/kg d'amikacine intraveineuse à l'inclusion puis 60 mg/kg nébulisés quotidiennement durant 3 jours (solution à 250 mg/mL dans un prototype de nébuliseur pneumatique n'interférant pas avec la ventilation artificielle / circuit non humidifié durant une première phase d'étude puis humidifié). Les concentrations sériques d'amikacine ont été mesurées dans 10 échantillons prélevés au cours des 24 h suivant chaque administration pour analyse pharmacocinétique non compartimentale. Les données de sécurité et d'efficacité ont été relevées jusqu'au 10^{ème} jour y compris en cas d'exclusion de l'étude (effet indésirable ou pneumonie non confirmée par un prélèvement bactériologique).

Résultats : Vingt-deux patients ont été inclus après consentement éclairé écrit. 6 patients ont été exclus (5 non confirmations bactériologiques ; 1 insuffisance rénale aiguë). 16 patients avec au moins 2 administrations d'amikacine ont été analysés (âge médian de 59 ans [25^{ème} -75^{ème} percentile : 51 – 72], 2 femmes, poids 75 kg [63-78], indice de masse corporelle 26 kg/m² [24-28] ; créatininémie 62 µmol/L [51-73]). 32 nébulisations ont été analysées (4,5 g [4,1-4,9] nébulisées en 2h15 [1h31-2h48]) : l'aire sous la courbe des concentrations sériques d'amikacine était de 27 mg.h/L (13-46), nettement inférieure à celle observée après la perfusion intraveineuse (396 mg.h/L [225-447]) : p < 0,01 apparié. La biodisponibilité était de 2,8% [2,1-4,8], non significativement différente entre les phases avec et sans humidification du circuit de ventilation. En l'absence d'humidification, deux patients ont présenté une obstruction de sonde d'intubation, possiblement en rapport avec la nébulisation. Les faibles concentrations sériques observées, témoignant possiblement de concentrations alvéolaires relativement faibles mettent à l'abri d'une potentielle toxicité systémique et laissent donc ouverte la possibilité d'une augmentation de dose avec le système de nébulisation utilisé. Contrairement aux données de la littérature, l'humidification ne réduisait pas le dépôt de l'amikacine nébulisée en solution fortement concentrée dans cette étude.

Conclusion : La nébulisation de 60 mg/kg d'amikacine est techniquement réalisable chez le patient intubé. L'humidification active peut être envisagée compte tenu des durées de nébulisation longues car elle ne modifie pas la biodisponibilité dans les conditions de l'étude.

EROSOLISATION ANTIBIOTIQUE IN SITU : ETUDE D'UN DISPOSITIF INNOVANT CHEZ LE GROS ANIMAL VENTILE

Ehrmann S (1); Guillon A (1); Petitcollin A (2); Heuzé-Vourc'h N (3); Barc C (4); Darrouzain F (2); Ternant D (2); Cormier B (5); Lanotte P (6); Sarradin P (4); Perrotin D (1); Paintaud G (2); Dequin PF (1);

(1) Réanimation Polyvalente, CHRU de Tours, Tours; (2) Pharmacologie-Toxicologie, CHRU de Tours, Tours; (3) Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires. INSERM U1100/EA6305, Université François Rabelais-Faculté de Médecine de Tours, Tours; (4) Plateforme d'Infectiologie Expérimentale, INRA Val de Loire, Nouzilly; (5) Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU de Tours, Tours; (6) Bactériologie, CHRU de Tours, Tours.

Introduction : La nébulisation d'antibiotiques permet d'obtenir de fortes concentrations au site de l'infection pulmonaire tout en limitant la toxicité systémique. Sa mise en œuvre, relativement simple en ventilation spontanée, est techniquement plus compliquée au cours de la ventilation artificielle (dépôt d'aérosol dans le circuit de ventilation) ; la durée de nébulisation, parfois longue, constitue une difficulté supplémentaire. L'objectif de cette étude était d'évaluer et de comparer à la nébulisation standard, un dispositif innovant d'aérosolisation *in situ*, placé à l'extrémité de la sonde d'intubation, permettant potentiellement de délivrer une quantité importante de médicament en un temps court tout en évitant le dépôt inspiratoire de médicament dans le circuit.

Type de l'étude : étude expérimentale animale

Matériels et Méthodes : Dix porcelets âgés de 3-6 semaines ont été inclus. Chaque animal recevait une perfusion intraveineuse de 20 mg/kg d'amikacine suivie, après une semaine de *wash out*, d'une administration intra-pulmonaire (animal intubé et ventilé) : aérosolisation *in situ* sous contrôle endoscopique à l'aide du dispositif MicroSprayer® Aerosolizer Model IA-1B (Penn-Century Inc., Philadelphie, Etats-Unis) 30 mg/kg (n=5) ou nébulisation standard sur la ligne inspiratoire (Aeroneb Pro®, Aerogen, Galway, Irlande) 60 mg/kg (n=5). Au cours des 24h suivant chaque administration, 10 prélèvements sanguins étaient réalisés pour analyse pharmacocinétique. Les animaux étaient sacrifiés (exsanguination) la semaine suivante, après une troisième administration d'amikacine (IV n=3 ; aérosolisation *in situ* n=4 ; nébulisation n=3), et des prélèvements pulmonaires réalisés pour doser et détecter par immunohistochimie l'antibiotique dans le parenchyme pulmonaire.

Résultats : Les doses d'amikacine administrées étaient respectivement de 694 mg [610;827] en 60 min [60;60], 1020 mg [949;1237] en 3 min [3;3] et 1956 mg [1722;2415] en 73 min [55;85] pour la voie intraveineuse, l'aérosolisation *in situ* et la nébulisation ($p < 0,01$ pour la comparaison des durées d'administration intra-pulmonaires). L'aire sous la courbe des concentrations sériques d'amikacine par rapport au temps (AUC) était significativement plus élevée après perfusion intra-veineuse (184 mg.h/L [166;199]) comparée à l'aérosolisation *in situ* (55 mg.h/L [15;86], $p < 0,002$) et à la nébulisation (63 mg.h/L [37;80], $p < 0,001$). Les fractions absorbées par rapport à la voie intraveineuses n'étaient pas significativement différentes entre les deux techniques (22% [4,9;36] après aérosolisation *in situ* vs. 11% [7,1;11] après nébulisation, $p = 0,84$). La concentration intra-parenchymateuse d'amikacine était de 7,7 [5,9;12] mg/kg de tissu pulmonaire après perfusion intra-veineuse, de 10 [4,0;161] mg/kg après aérosolisation *in situ* et de 184 [49;296] mg/kg après nébulisation. L'hétérogénéité du dépôt pulmonaire, particulièrement importante après aérosolisation *in situ* (étendue des concentrations de 3 à 3000 mg/Kg selon les lobes pulmonaires) a été confirmée par l'immunomarquage. Le contrôle endoscopique du positionnement intra-trachéal du MicroSprayer® permet d'exclure un phénomène positionnel à l'origine de l'hétérogénéité de dépôt observée. L'injection à vitesse relativement élevée de particules de taille importante ($\approx 30 \mu\text{m}$) constitue une différence notable par rapport à la nébulisation standard susceptible d'être à l'origine des différences observées.

Conclusion : Au prix d'une grande hétérogénéité dans le dépôt pulmonaire, la technique d'aérosolisation *in situ* permet de délivrer une quantité importante de médicament en un temps très court, tout en conservant l'avantage d'une exposition systémique faible, comparable à celle observée au cours d'une nébulisation classique. La nébulisation permet d'obtenir des concentrations intra-parenchymateuses plus élevées et homogènes, au prix d'une administration beaucoup plus lente.

La craniectomie décompressive dans l'encephalite herpétique sévère est-elle une option thérapeutique envisageable?

Y Jouan (1); L Grammatico-Guillon (2); F Espitalier (3); D Perrotin (1); A Guillon (1);

(1) Service de Réanimation Médicale, CHU de Tours; (2) Service d'Information Médicale, d'Épidémiologie et d'Économie de la Santé, CHU de Tours; (3) Département D'Anesthésie-Réanimation, CHU de Tours.

Introduction

Plusieurs auteurs rapportent des cas d'Encéphalites Herpétiques (EH) gravissimes liés à une Hypertension Intra Crânienne (HTIC) avec engagement ayant conduit à proposer une Craniectomie Décompressive (CD) de sauvetage. Cependant, il n'existe aucune preuve ou recommandation pour appuyer cette attitude. La particularité et la rareté de cette situation empêchent toute perspective d'essai randomisé. Nous proposons donc, à travers l'analyse rétrospective des EH graves hospitalisées dans notre centre de 2008 à 2012, de mieux cerner les situations qui peuvent conduire à discuter une CD.

Patients et Méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique de 2008 à 2012. Les patients ont été sélectionnés à partir de la base de données PMSI avec les codes CIM-10 « méningo encéphalite herpétique », « méningite virale » et « encéphalite virale ». Les patients présentant les critères suivant ont finalement été inclus : âgés de plus de 18 ans, PCR positive à Herpès simplex virus dans le LCR, admission en réanimation/USC. Les résultats sont donnés en médiane [valeur minimale ; valeur maximale].

Résultats

Sur la période étudiée, 498 patients adultes ont été hospitalisés pour méningite ou encéphalite virale, dont 26 pour EH et finalement 14 ont été hospitalisés en réanimation. Parmi ceux-ci 3 ont finalement été amenés à être craniectomisés (CD).

	Non CD (n=11)	CD (n=3)
Caractéristiques à l'admission		
Age (années)	48 [22;82]	58 [31;59]
Délai 1ers symptômes-aciclovir (jours)	6 [1;10]	5 [4;7]
Glasgow Coma Scale à l'admission	10 [6;15]	7 [6;7]
SOFA à 24h	2 [0;6]	6 [4;7]
Crise convulsives (n=)	3/11	1/3
Ventilation mécanique (n=)	10/11	3/3
Engagement cérébral (n=)	0/11	3/3
Evolution		
Décès (n=)	1/11	1/3
Durée de ventilation mécanique (jours)	15 [1;40]	17 [10;19]
Durée de séjour en réanimation/USC (jours)	10 [2;44]	23 [10;25]
Glasgow Outcome Scale (1=mort, 5=pas de séquelle)	4 [1;5]	3 [1;5]

Discussion

Le tropisme du virus de l'Herpès pour les régions temporales entraîne une régionalisation des lésions pouvant conduire à un effet de masse avec engagement temporal. L'HTIC survenant dans ces conditions est donc physiopathologiquement plus proche de celle survenant dans les AVC ischémiques sylviens malins, où le bénéfice de la CD a été prouvé, que dans les traumatisés crâniens, où l'œdème est diffus et la CD inefficace. C'est sur ce rationnel qu'il nous semble pertinent de considérer la CD de sauvetage dans l'EH avec engagement temporal. Les patients craniectomisés étaient parmi les plus graves, et à risque de décès très rapide par engagement cérébral. Cependant leur devenir est superposable au reste de la cohorte.

Conclusion

La question de la CD chez des patients avec engagement temporal et HTIC non contrôlée sous traitement médical est donc pertinente et peut être posée dans ses situations.

Effect of nebulizer device set on measurement of tidal volume and pressure ventilator during two mode of ventilation.

E Mercier, S Leguellec, P Diot, L Vecellio,

EA 6305/INSERM U1100, Université François Rabelais, Tours
Email emercier@med.univ-tours.fr

Mots clés : BPCO et contrôle ventilatoire

Rationale:

Numerous factors affect aerosolized drug delivery during invasive ventilation. However, there is few data concerning measurement of tidal volume and pressures on the ventilator and similarly on the lung during a nebulization.

Aim:

To evaluate the effect of aerosol devices in two modes of mechanical ventilation on the measurement of tidal volume and pressures on the adult and infant test lung.

Methods:

A Servo 300 and a Galileo ventilator were set for Volume assisted Control (VAC) and Pressure Control (PC) and were connected to a Michigan test lung. Albuterol sulfate inhalation solution was nebulized with 5 aerosol devices: MistyNeb and Sidestream jet nebulizer, Aeroneb Pro vibrating aperture plate nebulizer, Ring nebulizer and AMGH ultrasonic nebulizer. *Tidal volumes were set respectively at 450 ml and 180 ml for the adult and infant test lung. Frequency was 15/min in adult and 20/min in infant.* Tidal volumes, peak pressure, PEEP were measured on the ventilator and on the test lung before and during nebulization.

Results:

Graph 1 shows the pressure curves by test devices and ventilation modes.

Jet nebulizers: During VAC, there was no significant difference on the pressure measurement on the ventilator and the test lung before and during nebulization. The tidal volume measurement increased to 28% in adult and 45% in infant. In PC, tidal volume was not modified and pressure measurements were increased during nebulization.

Ultrasonic nebulizer: During VAC, measurements of pressure and tidal volume were similar with or without nebulizer. During VP, the tidal volume measurement was decreased at 32% in adult and 13% in infant.

Aeroneb Pro and Ring nebulizer: tidal volume and pressure measurements were comparable before and during nebulization.

Conclusion:

Aerosol device influenced significantly pressure or volume measurement during mechanical ventilation. These variations of pressure or volume could be dangerous for the patients and incite to choice the optimal ventilation mode for an aerosol device.

Pressure and volumes measurement were not affected by use of Aeroneb Pro and Ring nebulizers during mechanical ventilation and allow a safe clinical practice.

Lung concentrations in a rat model after an aerosol of teicoplanin: A pharmacokinetic study.

E Mercier (1), F Darrouzain (2), Jerome Montharu (1), Antoine Guillon (1), Patrice Diot (1), Gilles Paintaud (3), Laurent Vecellio (1).

(1) Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires, INSERM UMR 1100/EA6305, Tours. (2) CHRU de Tours, Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie, Tours. (3) CNRS UMR 7292
emercier@univ-tours.fr

Rationale

The use of intravenous (IV) glycopeptides in patient with ventilated associated pneumonia is associated with renal toxicity. Aerosol allows high lung concentration and low systemic concentration.

Objective:

To assay lung and serum concentrations after a single dose of teicoplanin aerosol in rat.

Methods:

Teicoplanin (0.05 mg/g) was administered in 80 males rats (Sprague Dawley) by IV or aerosol route. A microsyringer was used for aerosol administration. Teicoplanin was measured in lung and serum by fluorescence polarization immunoassay at 15 minutes, H1, H3, H6 and H24.

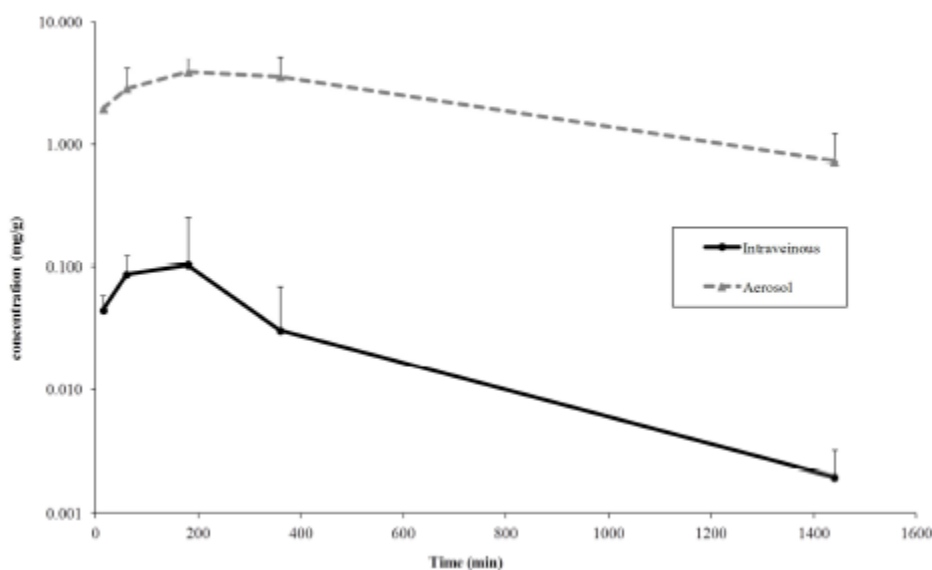
Results:

Mean serum teicoplanin at 15 minutes was 3 times greater with IV than aerosol. Mean lung teicoplanin during 24 hours was 50 x greater with aerosol than IV. Aerosol teicoplanin was clinically well tolerated.

Conclusions:

Delivered of aerosolized teicoplanin achieved higher lung concentration than IV route and achieved equal serum concentration compared to IV route.

A single dose had allowed high concentration of teicoplanin during 24 hours.



Transplantation

COMPUTER MODELING OF RENAL CORTICAL OXYGEN LEVEL - EFFECTS OF PERFUSION AND TEMPERATURE

Vivien Aubert, Thierrey Hauet, Patrick Hannaert

INSERM U1082-IRTOMIT (CHU de Poitiers)

Introduction. Ischemia-reperfusion injury (IRI) is particularly severe in kidney transplantation, entailing inflammation, fibrosis, graft dysfunction and poor outcome. Kidney IRI events grow characterized but their dynamic intricacy hampers global understanding and therapeutical improvements. Biologically-based modeling & simulation is a powerful means to integrate relevant knowledge, to explore hypotheses and to make testable predictions. At the IRTOMIT laboratory, we are developing a kidney cell-tissue model of IRI inflammatory and fibrogenic responses. Here, we present a dynamic model of cortical oxygenation, validation and use to explore quantitatively the influence of perfusion and temperature.

Methods. We use NetLogo, a free multi-agent modeling & simulation tool (v5.0.3, Windows7). *Modeling:* Bibliographical search (>300 refs extracted) was performed for histological and biochemical parameters (rat species, 37°C, physiological/standard conditions). The model is an idealized 10 μ “2D” cortical slice subdivided into 32x32 patches of the following type: *capillary* (79 peritubular capillaries, PTC, 12 μ average \emptyset), *epithelial* (10 μ thick, 12/tube section) or *luminal* (4/tube section), both forming 53 tubules (40 μ \emptyset), or *interstitial*. *Perfusion:* Tubular & capillary flow rates calculated from RBF (flow units: FU=mL.min⁻¹.g.kw⁻¹), hematocrit Ht, filtration fraction FF, GFR, nephron number N. Perfusion=flow-dependent O₂ renewal in PTC & luminal patches. *Diffusion:* interpatches O₂ diffusion is based on Fick’s law; time-step 1ms. Hemoglobin Hb (standard rat MCHC 33g/dL, P₅₀ 27mmHg, n_H 2.6) in the PTC compartment; dynamic O₂ binding/release by Hb calculated according to Gutteriez, *Resp Phys*1986. *Consumption:* hyperbolic O₂ consumption M_{O2} (M_{max}=5.1mM/min ; K_m=5.8 μ M). Model inputs: RBF[0-10FU], PTC & tubules PO₂ [0-100mmHg]. Model output: average tissue PO₂.

Results: R1. With [Ht=0.45, FF=0.3, O₂ diffusivity D=2.8e⁻⁵ cm²/s, RBF=6.0 FU, M_{O2}=5.1mM/min], model PO₂ is responsive to (i) RBF in the [0.1-1.0] range (20mmHg/[mL/min]; unresponsive if >1 FU), (ii) input PO₂(PTC) & PO₂(tub): tubule contribution to PO₂=79% (vs 18% for PTC), (iii) to M_{O2} (0.6mmHg/[mM/min]).

R2. Using standard parameters and 45 mmHg input PO₂ (PTC’s and tubules, eg. Schurek et Johns, *Kidney Int* 1997), model PO₂ was 42-43 mmHg (vs 42mmHg, Priyadarshi et al 2002); finally, within 2-3 mmHg, model captured the difference of PO₂ in WKY and SHR rats (Welch et al, *Kidney Int* 2001).

R3. Tissue O₂ half-life (RBF=>0 “ischemia”) was 5.7sec with Hb (vs. 5.8sec, Whitehouse et al. *AJP*2006), whereas it was 1.1 sec without Hb.

R4. For simulation of low T(4°C) ratio vs 37°C for DO₂, O₂ solubility and M_{O2} were 0.6, 2.0, and 0.15 resp. (P₅₀(Hb) ratio was 0.2): at 4°C, [half-life and PO₂] were [18sec & 44.9mmHg] and [14sec & 44.9mmHg], with and without Hb resp.

Conclusion: Based upon extensive bibliographical analysis and data extraction, we have constructed and validated a realistic, working model of cortical oxygenation of the rat kidney. This stabilized version already exhibits qualitative and quantitative relevance, especially in relation to oxygen delivery and temperature effects. Before addressing IR inflammatory-fibrogenic responses and instantiate human and porcine versions, (i) we are currently refining the model by implementing distal tubules, Na transport-O₂ consumption, ATP level and cell viability, (ii) adapt the model so that it can simulate reperfusion and/or washing procedures, and (iii) represent cortex-to-medulla structures (eg. S3 and OSOM being particularly prone to IR-induced necrosis).

Evaluation de l'utilisation potentielle des cellules souches issues du liquide amniotique en transplantation rénale.

E. Baulier^{1,2}, F. Favreau^{1,2}, A. Le Corf^{2,3}, C. Jayle^{1,2}, F. Schneider², J.-M. Goujon^{1,2}, A. G. Turhan^{2,3,4} & T. Hauet^{1,2,5}.

¹ Inserm U1082, Poitiers, F-86000, France, Université de Poitiers, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Poitiers

² CHU de Poitiers, Poitiers

³ Inserm U935, Poitiers, F-86000 & Villejuif

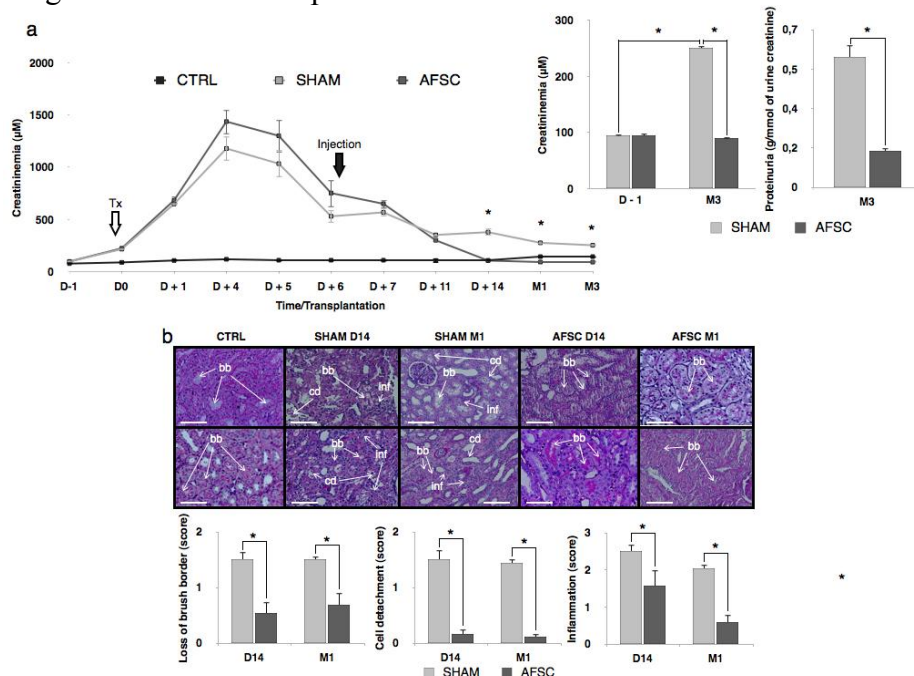
⁴ Inserm U935, Estem Pluripotent Stem Cell Core Facility & Ingestem Infrastructure, Université Paris Sud XI, Villejuif

⁵ INRA, UE1372 GenESI, Plateforme Ibis, Surgères

Introduction : It is well known that ischemia/reperfusion (IR) injuries strongly impact the success of human organ transplantation. Generation of interstitial fibrosis and tubular atrophy are the main deleterious phenomena involved. Stem cells are a promising therapeutic tool already developed in various ischemic diseases. Amniotic fluid stem cells (AFSC), a subpopulation of multipotent cells identified in amniotic fluid, are known to secrete growth factors and anti inflammatory cytokines.

Matériel et méthode : To determine the efficiency and the safety of AFSC infusion in a preclinical porcine model of renal autotransplantation specifically triggering IR injuries, we injected autologous AFSC in renal artery 6 days after transplantation.

Résultats : AFSC injection improved glomerular and tubular functions with full renal function recovery, and abrogated fibrosis development at 3 months.



Conclusion : In conclusion, our preclinical porcine model supports the beneficial effect of AFSC-based cell therapy on damages caused by IR in kidney transplantation. Our preclinical porcine model strongly supports the feasibility of AFSC-based therapy following kidney transplantation to improve function recovery of grafts from DCD. In conclusion, our preclinical porcine model supports the beneficial effect of AFSC-based cell therapy on damages caused by IR in kidney transplantation. Our preclinical porcine model strongly supports the feasibility of AFSC-based therapy following kidney transplantation to improve function recovery of grafts from DCD.

IMPACT DE L'ISCHEMIE FROIDE SUR LE GREFFON HEPATIQUE SELON LE TYPE DE DONNEUR

Danion J † ¶, Thuillier R †, Tomasi J † f, Kerforne T † §, Pinsard M † §, Hauet T †.

†INSERM1082, ¶Service de Chirurgie Viscérale et Digestive, fDépartement de Chirurgie Cardio-Thoracique, §Service d'Anesthésie-Réanimation CHU Poitiers

Introduction

L'activité de transplantation hépatique (TH) est confrontée au problème de la pénurie de greffon liée au manque de donneur. Une issue possible est l'extension du pool de greffons aux donneurs décédés après arrêt cardiaque, dont la caractéristique principale est d'avoir subi une ischémie chaude durant la période séparant l'arrêt cardiaque de la mise en place de mesures de préservation, classiquement par circulation régionale normo thermique. L'utilisation de ces greffons dits « marginaux », dont résultats moins bons en terme de survie du greffon, et de survie globale est assujettie à notre niveau de compréhension de la physiologie et physiopathologie des donneurs. C'est en ayant la capacité de définir en profondeur leur réponse au stress de la préservation en ischémie froide jusqu'au niveau des voies de signalisation cellulaire qu'il sera possible de proposer des réponses thérapeutiques adaptées qui permettront de proposer un nombre plus important de greffon acceptables pour une TH. L'objectif de ce projet est de définir les différences de comportement du greffon hépatique durant la conservation en ischémie froide entre les 3 types de donneurs : donneur en mort encéphalique (ME), donneur décédé après arrêt cardiaque (DDAC), et donneur apparenté vivant (groupe Contrôle) dans une étude pré-clinique analytique sur modèle porcin.

Méthode

Un effectif de 18 porcs Large White de 35-40kg a été utilisé afin de reproduire les conditions de prélèvement au sein des trois groupes : ME, DDAC et Contrôle, n=6 par groupe. Une conservation en ischémie froide à 4°C dans une solution Histidine-Tryptophane-Ketoglutarate a été appliquée permettant de réaliser des biopsies régulières, directement congelées ou plongées dans du formaldéhyde, sur une période de 24h. L'échantillothèque constituée permettait une analyse histologique au prélèvement (T0), à 8 heures de conservation (T8) et 24 heures de conservation (T24). Une étude de la production d'ATP à tous les temps de prélèvement au sein des trois groupes a été réalisée. L'analyse protéomique par Western blot a concerné T0 et T24, grâce aux marqueurs HIF-1 α et iNOS pour la réponse au stress hypoxique, MCP-1 comme signal d'inflammation et p67 en tant que marqueur de stress oxydatif.

Résultats

Dans notre étude nous ne retrouvons pas de différence significative entre les trois types de donneur concernant le contenu en ATP à T0. En histologie il se dégage des différences en début de conservation qui ne sont pas retrouvées en fin de conservation. L'analyse protéomique met en évidence une expression significativement diminuée de HIF-1 α et p67 dans le groupe DDAC à T0, et augmentée pour p67 dans le groupe ME par rapport au groupe Contrôle. Concernant MCP-1, on retrouve une baisse significative entre T0 et T24 pour les groupes DDAC et Contrôle. Le taux reste stable dans le groupe ME. On note une tendance à l'expression plus marquée d'iNOS à T0 dans le groupe ME. Celle-ci est nulle en fin de conservation dans les deux autres groupes DDAC et Contrôle, alors qu'elle reste présente de manière importante dans le groupe ME.

Conclusion

Au niveau histologique, en accord avec la littérature, les greffons présentent les signes de souffrance cellulaire dans les groupes ME et DDAC, et il est retrouvé l'impact fort de l'ischémie froide avec une augmentation des lésions dans les trois groupes ne permettant plus de les distinguer en fin de

conservation. Concernant les données issues de l'étude de la production d'ATP, les résultats en début de conservation correspondent aux données de la littérature, avec une baisse initiale et importante liée à la chute du métabolisme induite par le refroidissement. En protéomique on retrouve la notion d'inflammation caractérisant le greffon issu d'un donneur en ME, qui est moindre dans le groupe DDAC. Concernant l'hypoxie subie par le greffon, le DDAC présente les caractéristiques d'un tissu bien oxygéné, avec un niveau d'expression de HIF-1 α diminué par rapport au greffon issu de donneur en ME. A propos de l'impact de l'ischémie froide, on remarque que celui ci est prépondérant concernant les marqueurs d'hypoxie HIF-1 α et de stress oxydatif p67, en effaçant les différences significatives présentes entre les groupes en début de conservation. En revanche, les marqueurs d'inflammation iNOS et MCP-1, élevés dans le groupe ME à T0, dévoilent la caractéristique intéressante de voir leur expression diminuée en fin de conservation pour les groupe DDAC et Contrôle, mais de rester présente dans le groupe ME à T24.

RÔLE DE LA RÉPONSE AU MAUVAIS REPLIEMENT PROTÉIQUE AU COURS DE L'ISCHÉMIE-REPERFUSION

Sylvain Le Pape (SLP)¹, Nicolas Chatauret (NC)^{1,2}, Nathalie Quellard (NQ)³, Beatrice Fernandez (BF)³, Randal J. Kaufman (RK)⁶, David Ron (DR)⁷, Thierry Hauet (TH)^{1,2,4,5}, Raphaël Thuillier (RT)^{1,2,4}

¹ Inserm U1082 ; Faculté de Médecine et Pharmacie ; Université de Poitiers ; Poitiers, F86000, France

² CHU de Poitiers, Dept de Biochimie, Poitiers, F86000, France

³ CHU de Poitiers, Dept d'Anatomopathologie, Poitiers, F86000, France

⁴ COPE: Consortium for Organ Preservation in Europe, Oxford, United Kingdom

⁵ INRA, Plate-forme IBiSA, Unité de Transplantation Expérimentale, GEPA, Dpt de Génétique Animale, Domaine du Magneraud, Surgères, F-17700 France

⁶ University of Michigan, Departments of Biological Chemistry and Internal Medicine, Ann Arbor, Michigan

⁷ University of Cambridge Metabolic Research Laboratories and NIHR Cambridge Biomedical Research Centre, Cambridge CB2 0QQ, England, UK

Introduction :

Les protéines sécrétées se replient et mûrissent dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE). Lors d'un stress, le RE est dépassé par le nombre de protéines affluant dans sa lumière et ne peut plus les replier correctement; il déclenche ainsi la réponse au mauvais repliement protéique (UPR) afin de rétablir la protéostase. Cependant, si le stress n'est pas résolu, l'UPR déclenche l'apoptose. Cette réponse est composée de trois voies : IRE1 α -XBP1, PERK-eIF2 α , et ATF6. Nous avons étudié cette réponse au sein des cellules endothéliales, premières cellules lésées au cours de l'ischémie-reperfusion (IR) qui est une étape inévitable de toute transplantation d'organe solide. La compréhension de ce syndrome est cruciale de par l'évolution de la démographie des donneurs d'organe qui sont de plus en plus sensibles aux lésions d'IR. Ainsi, l'optimisation de cette période de conservation permettra d'améliorer la survie des greffons.

Matériel et méthode :

Des cellules endothéliales d'aorte humaine (HAEC) et des fibroblastes murins embryonnaires (MEF) sauvages (WT) ou invalidés (KO) pour les gènes IRE1 α , PERK, ATF6 ont été soumis à différentes durées d'hypoxie hypothermique (milieu de culture ou solution de préservation UW, 4°C, 0% d'O₂) et de réoxygénation normothermique (milieu de culture, 37°C, 21% d'O₂). Les cellules ont été traitées pharmacologiquement (inhibiteur de l'activité endoribonucléasique d'IRE1 α , STF083010, 60 μ M; inhibiteur de la déphosphorylation d'eIF2 α , Salubrinal, 75 μ M; inhibiteur des site-1 et site-2 proteases, AEBSF, 300nM) ou par siRNAs ciblant IRE1 α , XBP1, PERK, ATF4 ou ATF6. Les cellules ont ensuite été analysées par RT-qPCR, Western-Blot (WB) et leur viabilité a été testée (XTT).

Résultats :

Les analyses par WB et RT-qPCR ont montré que l'UPR était activée durant l'hypoxie avec une cinétique spécifique à chaque voie. Nous avons observé par WB que l'inhibition pharmacologique d'IRE1 α activait la voie dépendante de PERK permettant l'amélioration de la survie cellulaire. La combinaison de cette inhibition avec des siRNA ciblant IRE1 α et XBP1 a permis de suggérer un rôle protecteur de XBP1u, la forme non-épissée de XBP1. Nous avons confirmé le rôle décisif d'IRE1 α dans la survie face à l'IR à l'aide des MEF KO pour IRE1 α .

Conclusion :

L'UPR est activée au cours de l'IR et la voie IRE1 α -XBP1 joue un rôle décisif dans la survie cellulaire, notamment XBP1u, face à l'IR représentant une cible thérapeutique d'intérêt afin d'améliorer la conservation d'organe.

L'ISCHEMIE-REPERFUSION ENTRAINE UNE INHIBITION DE L'EXPRESSION DU RECEPTEUR P2Y11 ET UNE RESISTANCE A L'ATP DANS LA CELLULE DENDRITIQUE HUMAINE

Chadet S¹, Salmon-Gandonnière C¹, Ivanes F^{1,2}, Babuty D², Velge-Roussel F¹, Roger S³ et Angoulvant D^{1,2}

1, EA 4245 Cellules Dendritiques, Immunomodulation et Greffes ; Université François-Rabelais de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France

2, Service de cardiologie, Hôpital Trousseau, 37044 Tours, France

3, UMR Inserm 1069 Nutrition, Croissance et Cancer ; Université François-Rabelais de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France

RESUME :

Introduction : Le phénomène d'ischémie-reperfusion (I/R) myocardique est une situation clinique rencontrée dans différentes conditions physiopathologiques telles que la transplantation, la chirurgie cardiaque et l'infarctus du myocarde reperfusé. Après la phase d'ischémie, la restauration du flux sanguin induit des lésions de reperfusion, qui s'ajoutent à celles de l'ischémie. Les lésions de reperfusion sont, en partie, le résultat d'une réponse immuno-inflammatoire dans laquelle le rôle des cellules dendritiques a été suggéré. Cependant, l'effet de l'I/R et des alarmines sur l'activation et l'orientation des cellules dendritiques reste à élucider. Notre objectif est d'étudier l'effet de l'I/R sur la signalisation purinergique chez les cellules dendritiques activées par l'alarmine ATP (Adénosine 5' triphosphates).

Matériel et méthodes : Nous utilisons un modèle expérimental *in vitro* pour l'étude des cellules dendritiques humaines différenciées à partir de monocytes CD14. Les cellules sont cultivées en condition ischémique (milieu PBS ; 1% O₂) ou en condition contrôle (milieu de culture ; 21% O₂) durant 1 heure ou 5 heures. Ces cellules sont ensuite soumises à une reperfusion, en présence ou en absence d'ATP. Le rôle du récepteur P2Y11 est étudié dans le niveau d'activation des cellules dendritiques et dans la prolifération des lymphocytes T CD4.

Résultats : Alors que l'I/R simulée *in vitro* ne semble pas jouer de rôle majeur dans le phénotype des cellules dendritiques, l'alarmine ATP extracellulaire induit une maturation dose-dépendante de ces cellules. De manière intéressante, l'effet de l'ATP est inhibé chez les cellules dendritiques stressées par une I/R, suggérant une activité diminuée d'un récepteur purinergique (diminution de 45% après 5h d'I/R). En effet, le récepteur P2Y11 semble être moins fonctionnel chez les cellules dendritiques stressées, à l'origine d'une activation et d'une capacité allo-stimulatrice plus faible (diminution de 43%).

Conclusions : Nos résultats montrent que la signalisation purinergique se trouve modifiée en situation d'I/R chez la cellule dendritique. Nous avons montré une inhibition de l'expression du récepteur purinergique P2Y11 induite par l'ischémie. Cette inhibition s'oppose à l'apparition d'un profil inflammatoire des DCs, suggérant un rôle immuno-activateur de ce récepteur. Les résultats de cette étude révèlent donc le récepteur P2Y11 comme une cible thérapeutique potentielle.

URINE METABOLOMIC PROFILING IDENTIFIES TIME DEPENDENT EFFECTS OF CALCINEURIN INHIBITORS AND REFLECTS EARLY GRAFT FUNCTION IN KIDNEY TRANSPLANT PATIENTS

¹MUHREZ K, ²NADAL-DESBARAT L, ²BLASCO H, ²DIEME B, ¹HALIMI JM, ¹LE GUELLEC C.

(1)- EA4245, Université F. rabelais, Tours ; (2)- INSERM U930, Université F. Rabelais, Tours

Introduction: Cyclosporine and tacrolimus are calcineurin inhibitors (CNI), which reduce the incidence of graft rejection but may also induce nephrotoxicity contributing to the development of renal dysfunction. The main marker of renal function currently used is the creatinine clearance but it has a number of limitations. We evaluated whether urine metabolomics may be used to discover new biomarkers predictive of kidney function.

Type of study: Prospective, non-interventional, clinical study.

Patients and methods: Morning urines samples of 38 kidney transplant patients were collected at 7 days (D7), 3 months (M3) and 12 months (M12) after transplantation. ¹H-NMR (proton nuclear magnetic resonance) was used to express the global biochemical signature in each sample. The urinary metabolic profiles were analyzed to study (1) the evolution of the urinary metabolome over time (D7 vs M3 and M12), (2) its dependency on the type of CNI used (Tacrolimus vs Cyclosporine) and (3) its relationship with renal function at D7 by comparing the metabolomic profiles between patients with immediate (IGF) or delayed graft function (DGF), and at M3 and M12 by comparing the profiles in patients with good (e-DFG \geq 60 ml/min) or poor (e-DFG $<$ 60 ml/min) renal function. Data were analyzed by multivariate orthogonal partial least-squares discriminant analysis (OPLS-DA) using the software SIMCA-P12.

Results: Among the 38 patients, 25 were treated with tacrolimus (Tac) and 13 with cyclosporine A (CsA). We showed that it was possible to discriminate urine samples studied at different times, within the same treatment group. Then some discriminating metabolites were identified. In the Tac group, Lactate and Glycine concentrations were significantly higher, and Acetate, Acetoacetate, Citrate, and N-methyl Nicotinic Acide concentrations were lower in urines of D7 as compared to those of later periods (M3 or M12). In the CsA group, discriminant metabolite was Taurine (more abundant at D7) and Alanine, Acetate, Acetoacetate, Di-methyl Amine, Di-hydroxy acetone, and Creatinine more abundant at M3 or M12. Discrimination, although less pronounced, was also obtained by comparing the two CNI at each sampling time.

To study the relationship with renal function at D7, we compared both (IGF) and (DGF) group; 11 patients were analysed in the first group and 27 patients in the second group, a specific profile was found depending on renal function in the early stages (D7). While it is difficult to compare between the patients' profiles in good and poor renal function groups at M3 and at M12.

Then we tried to find the relationship between urine samples at D7 and the renal function at M3 and also at M12, thus we classified the patients at D7 in two groups; good and poor renal function according to their renal function at M3 and then at M12. We obtained a model which is unable to show discrimination between tested groups.

Conclusion : Our data demonstrate that untargeted metabolomics with ¹H-NMR is a robust procedure to analyse urine content of renal transplant patients and is suitable for the study of pathophysiological disturbances that undergo kidney transplant patients over time. This approach could be an important aid to the development of biomarkers for the monitoring of these patients.