



JOURNÉE DE LA RECHERCHE MÉDICALE DE GRENOBLE

Judi 6 juin 2024

Livret des résumés

Recherche clinique
Recherche fondamentale
Recherche translationnelle
Recherche sur données
Hors catégorie

Renseignements :
sante-communication@univ-grenoble-alpes.fr



Sommaire

Communications orales

Recherche clinique 4

[RC01](#) DIGEST: Safety and Performance Validation of an Ingestible Medical Device for Collecting Small Intestinal Liquid in Healthy Volunteers 5

[RC02](#) Smartphone swabs as an emerging tool for toxicology testing: a proof-of-concept study in a nightclub..... 6

Recherche fondamentale..... 7

[RF01](#) Modèle microphysiologique du pancréas pour étudier le lien entre le diabète et l'adénocarcinome canalaire pancréatique..... 8

Recherche translationnelle..... 9

[RT01](#) Optical analysis of action potential generation in Na_v1.2 loss-of-function mouse models of Autism and Intellectual Disability 10

Recherche sur données 11

[RD01](#) A population pharmacokinetic model of tocilizumab in kidney transplant patients treated for chronic antibody-mediated rejection: comparison of plasma exposures between intravenous and subcutaneous schemes of administration 12

Poster walk

Recherche clinique 13

[RC03](#) Flow cytometry lyophilized-reagent tube for quantifying peripheral blood neutrophil myeloperoxidase expression in myelodysplastic neoplasms (MPO-MDS-Develop). A diagnostic accuracy study..... 14

[RC04](#) Comparaison des techniques ELISpot-T IFN- γ et VIDAS IGRA pour évaluer l'immunité cellulaire fonctionnelle de patients transplantés rénaux contre le CMV, l'EBV et le BKV..... 15

[RC05](#) Complication and outcome of resection involving the insular cortex 16

[RC06](#) Genetic etiology of fertilization failure seen in assisted reproductive technologies 17

[RC07](#) Mesure volumique du sac des anévrismes de l'aorte abdominale après réparation endovasculaire en échographie 3D : Une étude pilote ex-vivo..... 18

Recherche fondamentale..... 19

[RF02](#) The effect of nanostructuring of semi-conductor or polymer materials in neural cell cultures: implications for neural implant design..... 20

[RF03](#) HBV and HBsAg modulate the phenotypic, functional and metabolic features of DC subsets 21

[RF04](#) La nouvelle protéine axonémale ZMYND12 interagit avec TTC29 et DNAH1 et est nécessaire à la fertilité masculine et à la fonction du flagelle 22

[RF05](#) Enhancing the efficacy of ADCs in the ovarian cancer tumor micro-environment 23

[RF06](#) Clinical transfer of microbeam radiation therapy: Canine brain tumor phase I study..... 24

Recherche translationnelle..... 25

- [RT02](#) CRISPR-gene-engineered *CYBB* Knock-out PLB-985 cells, a useful model to study functional impact of X-linked Chronic Granulomatous Disease mutations – The example of the G412E X91⁺-CGD mutation.....26
- [RT03](#) Rôle de la protéine X dans la prématurité et ses conséquences sur le développement du cerveau fœtal : cas de la chorioamniotite.....27
- [RT04](#) Facteurs prédictifs de la volonté d'utiliser la télémédecine chez les patients atteints de maladies rhumatismales.....28
- [RT05](#) Autoantibodies targeting the C1s complement protease in systemic lupus erythematosus patients with active nephritis, arthritic flare and neuropsychiatric SLE29
- [RT06](#) Genetic diagnosis of 280 men with multiple morphological anomalies of the sperm flagella30

Recherche sur données 31

- [RD02](#) Agreement and comparative accuracy of stability criteria at discharge in predicting adverse events for community acquired pneumonia patients32
- [RD03](#) Infections de site opératoire après ablation de matériel d'ostéosynthèse : incidence, facteurs de risque et impact de l'antibioprophylaxie33
- [RD04](#) The Christmas adverse event syndrome: An analysis of the WHO pharmacovigilance database .34
- [RD05](#) Impact de la prise en charge immunosuppressive sur le recours aux soins chez les patients transplantés d'organes solides.35
- [RD06](#) Intelligence artificielle et données médico-administratives massives au service de la santé mentale des agriculteurs français.....36

Posters en visite libre

Recherche clinique (RC08-RC12) 37

- [RC08](#) Long-range PCRs et séquençage de nouvelle génération pour la détection de la résistance du Cytomégalovirus aux antiviraux.38
- [RC09](#) Mise au point d'une technique de séquençage du génome complet et d'analyse du polyomavirus BK (BKV)39
- [RC10](#) Mutation du gène HENMT1 : quand un phénotype peut en cacher un autre40
- [RC11](#) Arterial cord pH coupled with its own eucapnic pH improves neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy prediction.....41
- [RC12](#) Caractérisation du phénotype vasculaire rétinien chez des patients atteints de sclérodémie systémique : étude cas-contrôle (SCLEROPH).....42

Recherche fondamentale (RF07-RF08) 43

- [RF07](#) Post Stroke Sleep Apnea: Effect of Intermittent Hypoxia on Cerebrovascular Recovery.....44
- [RF08](#) Création de lignées modèles par MitoTALEN pour l'étude du rôle des altérations du génome mitochondrial dans le pronostic des LAM45

Recherche translationnelle (RT07-RT12) 46

RT07 Caractérisation de la valeur informationnelle de PROK1 comme nouveau biomarqueur de la prématurité dans un contexte infectieux	47
RT08 Development of a sdAb based radiotracer targeting murine Tissue Factor for atherothrombosis imaging	48
RT09 Intérêt du ciblage du métabolisme énergétique lié au réseau d'acides aminés dans les leucémies aiguës myéloïdes	49
RT10 L'inflammation médiée par le facteur PROK1 déstabilise la barrière endothéliale pulmonaire	50
RT11 SPHINX31, a SRPK1 inhibitor, regulates the ATR/DNA-PKcs/CHK1 replicative checkpoint to inhibit cell growth in NSCLC cells	51
RT12 Identification et caractérisation d'un nouveau variant du gène DRC1 impliqué dans les anomalies de l'axonème dans les cils et les flagelles	52

Recherche sur données (RD07-RD12)..... 53

RD07 Risque d'apnée du sommeil et utilisation du ticagrelor : étude de cohorte depuis le système national des données de sante (SNDS)	54
RD08 Evaluation de l'Index d'Holdrinet modifié comme paramètre de quantification de l'hémodilution médullaire.....	55
RD09 La planification des soins futurs dans la réadaptation respiratoire du patient atteint de Bronchopneumopathie Chronique Obstructive (BPCO).....	56
RD10 Drugs induced Raynaud's phenomenon and underlying mechanism: a mixed disproportionality/clustering analysis from the WHO pharmacovigilance database.	57
RD11 SIROCCO : Signature pronostique dans le cancer du côlon par étude des gènes à expression ectopique.....	58
RD12 From reporting to improving: how continuous quality improvement programs shape Patient Safety Culture	59

Hors catégorie (HC01-HC02)..... 60

HC01 Etude des contraintes physiques induites par les manutentions et transferts de bénéficiaires dans l'aide à domicile.	61
HC02 Présentation de l'UAR hTAG, au service des chercheurs en Biologie-Santé de Grenoble.	62

Communications orales



Recherche clinique

DIGEST: Safety and Performance Validation of an Ingestible Medical Device for Collecting Small Intestinal Liquid in Healthy Volunteers

Alexandre TRONEL^{1,4}, Joris GIAI¹, Salomé BIENNIER⁴, Anne-Sophie SILVENT², Elena BUELOW¹, Corentin LEROY², Marion PROUST², Philippe CINQUIN¹, Caroline PLAZY^{1,3}, Audrey LE GOUELLEC^{1,3}, Thomas SORANZO⁴, Marianne Hupé⁵, Nicolas MATHIEU⁵.

1. University Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, Grenoble INP, CHU Grenoble Alpes, TIMC, 38000 Grenoble, France
2. University Grenoble Alpes, Inserm, CHU Grenoble Alpes, CIC, 38000 Grenoble, France
3. Plateforme de Métabolomique GEMELI-GExiM, Institut de Biologie et Pathologie – CHU Grenoble, Université Grenoble Alpes, 38 000 Grenoble, France
4. Pelican Health, 107 avenue Aristide Briand, 38600, Fontaine, France
5. Department of Hepato-Gastroenterology and Digestive Oncology, Grenoble Alpes University Hospital, 38000 Grenoble, France)

The gut microbiome is a complex ecosystem including microorganisms and their biological components such as metabolites. This microbiome is stratified from the duodenum to the rectum with an increase of the microbial density and changes in the diversity. This ecosystem plays a major role in maintaining host's health by directly influencing metabolic and immune homeostasis. Many studies showed links between the microbiome and pathologies such as metabolic diseases or inflammatory bowel diseases. However, these works were mainly focused on faecal microbiome that is partially representative of the intestinal microbiome. The small intestinal microbiome (SIM) remains mostly uncharacterised due to the difficulties to collect it (invasive endoscopy). Pelican Health has developed a cutting-edge medical device (MD) sampling non-invasively the small intestinal liquid. To prove the safety and the performances of the MD, a proof-of-concept (POC) clinical investigation, named DIGEST, has been performed at the Grenoble Alpes CHU (NCT05477069).

The primary objective of the study was to demonstrate the safety and the performances of the MD for at least 12 out of the 15 healthy volunteers included. Safety was assessed in a binary manner as the absence of the occurrence of adverse events of grade ≥ 3 . Performance was linked to the collected volume and visual state. The secondary objectives are related to the analysis of the MD, site of collection and omics analysis. Three kinds of omics have been performed: metagenomics, culturomics and metabolomics.

No adverse event has been detected on the included subjects. The primary objective of the trial was reached. Concerning the performances, it has been evaluated that the average volume collected per module was 72 μ L. The average time for the excretion of the MD was 40h. It has been calculated that 71% of the collected modules were conform. One of the secondary objectives was to perform omics analysis on the two matrices. We conducted culturomics on two small intestinal samples. We cultured and banked more than 100 different bacterial species. The most represented phyla were *Bacillota* (60%) and *Bacteroidota* (20%). Five new bacterial species have been discovered. Non targeted and semi-targeted metabolomics on both matrices revealed metabolome differences depending on the sample origin. Intestinal samples showed less interindividual differences compare to faecal samples. For non-targeted metabolomics, 45 metabolites of interest have been targeted for quantification.

The clinical investigation proved that the MD is safe for human being. SIM samples collected by the MD are analysable using a multi-omics approach. Differences between the SIM and faecal microbiome in metabolite and microbial composition have been demonstrate. This POC clinical trial will be followed by other clinical trials to ensure the safety of the MD on a larger cohort of healthy volunteers or patients. The perspectives of this work are numerous. The use of the MD could reveal the functional differences between the two microbiomes. The potential to extend this study to clinical trials involving patients holds promise for identifying specific biomarkers linked to various pathologies. It holds immense potential for clinical applications, from diagnostics to treatment strategies.

Smartphone swabs as an emerging tool for toxicology testing: a proof-of-concept study in a nightclub

Théo Willeman^{1,2}, Justine Grunwald^{1,3}, Marc Manceau⁴, Frédéric Lapierre⁵, Lila Krebs-Drouot², Coralie Boudin⁶, Virginie Scolan^{2,6}, Hélène Eysseric-Guerin^{1,6}, Françoise Stanke-Labesque^{1,7}, and Bruno Revol^{3,7}

¹ Univ Grenoble Alpes, Laboratoire de Pharmacologie, Pharmacogénétique et Toxicologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

² Univ Grenoble Alpes, Clinique de Médecine Légale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

³ Univ Grenoble Alpes, CEIP-Addictovigilance, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

⁴ Grenoble Alpes University Hospital, Clinical Research Center, Inserm CIC1406, Grenoble, France

⁵ La Belle Electrique nightclub, Grenoble, France

⁶ Univ Grenoble Alpes, Laboratoire de Médecine Légale, Grenoble, France

⁷ Univ Grenoble Alpes, Laboratoire HP2 Inserm U1300, Grenoble, France

Introduction

The transfer and analysis of fingerprints on manipulated objects has recently been described. Smartphones have become everyday objects on which the accumulation of fingerprints is significant. In addition, a large proportion of the population regularly uses a smartphone, especially younger people. The objective of this study was to evaluate smartphones as a new matrix for toxico-epidemiology.

Méthodes

This study was conducted during two separate events (techno and trance) at an electronic music nightclub in Grenoble, France. Data on reported drug use and whether drugs were snorted directly from the surface of the smartphone were collected using an anonymous questionnaire completed voluntarily by drug users. Then, a dry swab was rubbed for 20 seconds on all sides of the smartphone. The extract was analyzed qualitative toxicological screening by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry on a Xevo TQ-XS system (Waters). The acquisition consisted of scheduled targeted screening containing 349 drugs and 166 new psychoactive substances (NPS).

Résultats

In total, 122 swabs from 122 drug users were collected. Sampling represented 6.1% of the total attendees. The acceptance of the project by and feedback from the participants were satisfying. The three main drugs identified were MDMA (n=83), cocaine (n=59), and THC (n=51). Based on declarative data, sensitivity ranged from 73% to 97.2% and specificity from 71.8% to 88.1% for MDMA, cocaine, and THC. Other substances were identified, such as phenacetine, levamisole or lidocaine (used as cocaine adulterants), ketamine, amphetamine, LSD, methamphetamine, CBD, DMT, heroin, mescaline, and several NPS (X-MMC, X-CMC, 2F-DCK, DCK, 2-CB, 5-MAPB, and methylone). Numerous medications were also identified, such as antidepressants, anxiolytics, hypnotics, and painkillers. Different use patterns were identified between the two events, such as polydrug use. The distribution of drug associations was different for the two events.

Conclusion/Discussion

This proof-of-concept study on 122 subjects shows that smartphone swab analysis could provide a useful and complementary tool for drug testing, especially for harm-reduction programs and toxico-epidemiology studies, with acceptable test performance, despite declarative data. It was possible to identify drugs of abuse, NPS, and medications, along with metabolites of certain substances. The advantages of this method are the use of a dry swab, a quick sampling procedure, and widely accessible tandem-mass spectrometry. Stability studies need to be conducted for better interpretation of the results.

Communications orales



**Recherche
fondamentale**

Modèle microphysiologique du pancréas pour étudier le lien entre le diabète et l'adénocarcinome canalaire pancréatique

CAULLET Pierre, CLEMENT Flora, BALAKIREV Maxim, GIDROL Xavier
IRIG, UA13 BGE, BIOMICS, CEA, Inserm, 38000 Grenoble, France
pierre.caullet@cea.fr, +33(0)668435634

Introduction

Le pancréas est un organe multifonctionnel chargé de réguler la glycémie et d'assister dans la digestion. Ses tâches sont réparties entre les îlots de Langerhans, qui régulent la glycémie, et les structures acineuses qui produisent des enzymes digestives transportées vers le duodénum par des canaux épithéliaux.

Le cancer du pancréas est actuellement la 7^e cause de décès par cancer, et devrait devenir la deuxième d'ici 2030. Parmi les différents cancers affectant cet organe, l'adénocarcinome canalaire pancréatique (PDAC) représente environ 90% des cas. Son pronostic est sombre, avec un taux de survie à cinq ans de 10%. Cela est principalement dû à son diagnostic tardif en raison de l'absence de symptômes précoces et du manque de biomarqueurs disponibles.

L'initiation tumorale dans le cas du PDAC est peu connue. De nombreuses études épidémiologiques montrent un lien étroit avec le diabète, qui pourrait être à la fois un facteur de risque et un symptôme du cancer pancréatique, mais cette relation est actuellement mal comprise. Les stades précoces de la transformation tumorale sont rarement observés chez l'homme et les modèles animaux et de culture cellulaire 2D actuels ne parviennent pas à reproduire la complexité anatomique du pancréas. C'est pourquoi, en utilisant un modèle microphysiologique humain, nous cherchons à comprendre le lien étroit entre ces deux pathologies.

Méthodes

Notre étude utilise des cultures de cellules canalaire pancréatique et d'îlots de Langerhans. Ces deux types cellulaires sont réunis dans un modèle microphysiologique. Des structures canalaire exocrines sont formées dans un hydrogel de collagène de type I contenant les îlots, reproduisant ainsi la fonction endocrine du pancréas. Pour modéliser le diabète, les îlots sont exposés à des concentrations élevées de glucose et d'acides gras avant leur incorporation dans le modèle. Par imagerie, nous pouvons suivre le développement de ces deux compartiments sur plusieurs jours. Le modèle peut être récupéré pour effectuer des analyses supplémentaires de la présence de marqueurs d'intérêt, par exemple par qRT-PCR.

Résultats

Nous avons mis au point un modèle microphysiologique pancréatique innovant. D'une part, nous sommes capables de créer des structures tubulaires dans un hydrogel. D'autre part, les conditions de co-culture des îlots de Langerhans et des cellules canalaire épithéliales ont été optimisées, permettant leurs survies respectives. La récupération de l'ensemble de l'hydrogel avec le canal est possible et nous permet d'isoler les cellules pour des analyses supplémentaires. De plus, nous avons réussi à impacter la fonctionnalité des îlots, nous fournissant un modèle diabétique.

Conclusion/Discussion

Cette étude ouvre de nouvelles perspectives dans la recherche sur le cancer du pancréas en fournissant un modèle *in vitro* plus proche de la physiologie humaine. Les résultats obtenus suggèrent que notre modèle pourrait être une plateforme pour étudier les mécanismes sous-jacents du cancer pancréatique et du diabète, ainsi que pour découvrir de nouveaux biomarqueurs et évaluer de nouvelles thérapies. Ces avancées pourraient ultimement conduire à une amélioration significative des stratégies de prévention, de diagnostic et de traitement, offrant ainsi de l'espoir aux patients touchés par le cancer du pancréas.

Communications orales



Recherche translationnelle

Optical analysis of action potential generation in Nav1.2 loss-of-function mouse models of Autism and Intellectual Disability

*Fatima Abbas, Laila Ananda Blömer, Marco Canepati
Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy)*

The voltage-gated Na⁺ channel (VGNC) Nav1.2 is the principal Na⁺ channel expressed in the axon initial segment (AIS) of pyramidal neurons, responsible for the generation and propagation of the action potential (AP). This critical role highlights, in addition to the significance of this ion channel for neuronal excitability, its relevance to various neurological disorders, such as Autism and Intellectual Disability, which arise from spontaneous mutations in the SCN2A gene and subsequent loss-of-Nav1.2 function. Within an ongoing ANR-funded project, using ultrafast imaging techniques that we developed at the LIPhy in Grenoble, we can investigate the process of AP generation in the axon initial segment (AIS) in two different murine models of autism, namely the heterozygote Nav1.2 knock-out (*Scn2a*^{+/-}) and the knock-in (*Scn2a*^{+/*L1314P*}), both associated with a large loss of function. Specifically, the *Scn2a*^{+/*L1314P*} model replicates a point mutation discovered in a human case and inducing features of autistic-like behavior in the mouse, including defects in communication and ultrasonic localization. We performed ultrafast (50-100 μs time resolution) recordings of Na⁺, Ca²⁺ and membrane potential (V_m) during the AP generation in the AIS of layer-5 neocortical pyramidal neurons from *Scn2a*^{+/-} and *Scn2a*^{+/*L1314P*} mice and compared these recordings with those obtained in wild-type (*Scn2a*^{+/+}) mice. In this analysis, carried out during the 4th and 5th postnatal week when the models display maximally autistic-like phenotypes, we observed notable differences not only between the two models against the *Scn2a*^{+/+} mouse, but also between the *Scn2a*^{+/-} model and the *Scn2a*^{+/*L1314P*} model. Specifically, only the *Scn2a*^{+/-} mouse exhibits a reduced Na⁺ influx in the proximal part of the AIS during the AP generation as expected from a lower number of Nav1.2 channels. In contrast, there is a significant change in the shape of the axonal AP in *Scn2a*^{+/*L1314P*} mouse, suggesting a redistribution of Nav1.2 channels rather than a clear decrease in their number. In summary, our findings shed light on physiological changes observed in *Scn2a*^{+/-} and *Scn2a*^{+/*L1314P*} mouse models of SCN2A gene mutations and can be considered as a first step towards correlating the behavioral dysfunction with the cellular mechanism of AP generation. This also highlights the potential of our technique for guiding targeted therapeutic assessments in the field of channelopathy research.

Communications orales



Recherche sur données

A population pharmacokinetic model of tocilizumab in kidney transplant patients treated for chronic antibody-mediated rejection: comparison of plasma exposures between intravenous and subcutaneous schemes of administration

Capucine Arrivé^{1,2}, Caroline Bazzoli³, Thomas Jouve⁴, Johan Noble⁴, Lionel Rostaing⁴, and Françoise Stanke-Labesque^{1,2}, Zoubir Djerada⁵

1 Laboratory of Pharmacology, Pharmacogenetics and Toxicology, Grenoble Alpes University Hospital, Grenoble, France; 2 Univ. Grenoble Alpes, HP2 INSERM U1300, F-38041 Grenoble, France; 3 Univ. Grenoble Alpes, TIMC, F-38041 Grenoble, France; 4 Department of Nephrology, Dialysis, Apheresis and Transplantation, Grenoble Alpes University Hospital, Grenoble, France; 5 Department of Pharmacology, University of Reims Champagne-Ardenne, HERVI EA 3801, Reims University Hospital, Reims, France

Laboratoire de Pharmacologie, Pharmacogénétique et Toxicologie, CHU Grenoble Alpes. Institut de Biologie et de Pathologie-Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble Alpes.
Tel : +33 (0)4 76 76 54 92.

Introduction

Tocilizumab prevents the clinical worsening of chronic antibody-mediated rejection (CAMR) in kidney-transplant recipients. Following a global shortage of intravenous (IV) tocilizumab in 2022, all patients were switched from a monthly IV administration of 8 mg/kg to a subcutaneous (SC) weekly injection of 162 mg. The study aimed to carry out virtual population simulations to compare the plasma exposures (areas under the curve (AUC)) of tocilizumab between the two schemes of administration after building a population pharmacokinetic model and identifying the covariates that could contribute to the pharmacokinetic variability of tocilizumab.

Methods

This retrospective monocentric study included 43 kidney-transplant patients (202 tocilizumab concentrations) with CAMR who received salvage treatment with IV or SC tocilizumab administration between December 2020 and January 2023. A population pharmacokinetic model was developed using nonlinear mixed effects modelling on Monolix Software. Model validation was based on fit and bootstrapping goodness. Simulations were performed with the final model to assess the SC and IV tocilizumab AUC 0-28 days (M1), 46-84 days (M3), 140-168 days (M6) and 308-336 days (M12). Bioequivalence was defined by the 90th confidence interval of SC/IV AUC geometric mean ratios (GMR) between 0.80 and 1.25.

Results

A two-compartment model with parallel linear and nonlinear elimination best described the concentration-time data. Significant covariates for tocilizumab clearance were the patient body weight, the albumin-to-creatinine ratio and the presence of inflammation (CRP > 5mg/L). The GMR and their 90th confidence interval were 0.421 [0.420-0.423], 0.958 [0.955-0.961], 1.107 [1.104-1.110] and 1.148 [1.145-1.151] at M1, M3, M6 and M12 respectively. However, at steady state, the GMR ranged from 0.5 and 4.6.

Conclusion/Discussion

From the 3rd month of treatment, the SC and IV tocilizumab administration schemes provided an average bioequivalent pharmacokinetic exposure at population level but not at individual level. Body weight, inflammation and ACR should be considered to personalize the dose of tocilizumab in CAMR patients.

Poster walk



Recherche clinique

Flow cytometry lyophilized-reagent tube for quantifying peripheral blood neutrophil myeloperoxidase expression in myelodysplastic neoplasms (MPO-MDS-Develop). A diagnostic accuracy study.

Charlotte Planta,^{1,6} **Laura Scheffen**,¹ **Marie-Christine Jacob**,^{1,2} **Gautier Szymanski**,³ **Simon Chevalier**,³ **Sylvie Tondeur**,³ **Bénédicte Bulabois**,³ **Mathieu Meunier**,^{2,4} **Christine Lefebvre**,³ **Nicolas Gonnet**,⁵ **Frédéric Garban**,^{4,6} **Lysiane Molina**,⁴ **Claire Paradis**,¹ **Arnaud Seigneurin**,^{6,7} **Chantal Dumestre-Perard**,^{1,8} **Raymond Merle**,⁹ **José Labarère**,^{6,10} **Sophie Park**,^{2,4} **Tatiana Raskovalova**.^{1,2}

1. Laboratoire d'immunologie, Univ. Grenoble Alpes, Grenoble University Hospital, Grenoble, France; 2. Institute for Advanced Biosciences (IAB), INSERM U1209, CNRS UMR 5309, Univ. Grenoble Alpes, France; 3. Laboratoire d'Hématologie Biologique, Grenoble University Hospital, Grenoble, France; 4. Clinique Universitaire d'Hématologie, Grenoble University Hospital, Grenoble, France; 5. CIC 1406, INSERM, Grenoble University Hospital, Grenoble, France; 6. Univ. Grenoble Alpes, TIMC, UMR 5525, CNRS, Grenoble, France; 7. Registre du Cancer de l'Isère, Grenoble, France; 8. Univ. Grenoble Alpes, UMR 5075, CNRS, CEA, IBS, Grenoble, France; 9. Département Universitaire des Patients, Univ. Grenoble Alpes, Grenoble, France; 10. Clinical epidemiology unit, Grenoble University Hospital, Grenoble, France.

Background — Flow cytometric analysis of peripheral blood neutrophil myeloperoxidase expression accurately rules out myelodysplastic neoplasms (MDS) but may lack reliability and efficiency due to practical limitations of laboratory-developed liquid reagent-based tests.

Objective — To estimate the level of agreement and comparative discriminatory accuracy between a single-use customized lyophilized cocktail within a flow cytometry tube (BD Lyotube Stain 468™) and its laboratory-developed liquid reagent counterpart.

Methods — We conducted a cross-sectional diagnostic accuracy study of two index tests in 103 consecutive adult patients referred for suspected MDS, at a single university hospital. The reference diagnosis was adjudicated by two cytomorphologists who were blinded to index test results, based on cytomorphological evaluation of bone marrow aspirate.

Results — Cytomorphological evaluation of bone marrow aspirate confirmed MDS in 37 patients (prevalence, 36%), unconfirmed MDS in 63 patients (61%), and was uninterpretable in three patients (2.9%). Median intra-individual RCV were 30.9% (interquartile range [IQR], 27.7–34.9) for BD Lyotube Stain 468™ and 31.2% (IQR, 28.8–34.5) for laboratory-developed liquid reagent-based test, with intra-class correlation coefficient quantifying absolute agreement equal to 0.94 (95% CI, 0.91–0.96). The areas under the receiver operating characteristics curves were 0.83 (95% CI, 0.74–0.90) and 0.82 (95% CI, 0.73–0.89), respectively ($P = .59$). Using a pre-specified threshold of 30.0% for RCV, sensitivity estimates were 89% (95% CI, 75–97) and 95% (95% CI, 82–99) ($P = .50$).

Conclusions — BD Lyotube Stain 468™ performs as well as its laboratory-developed liquid reagent counterpart for quantifying myeloperoxidase expression by peripheral blood neutrophils. Its diagnostic accuracy attributes warrant further validation before advocating its adoption for ruling out MDS in routine.

Trial registration: ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04399018.

Comparaison des techniques ELISpot-T IFN- γ et VIDAS IGRA pour évaluer l'immunité cellulaire fonctionnelle de patients transplantés rénaux contre le CMV, l'EBV et le BKV.

TRUFFOT Aurélie¹, FUSILLIER Lucie¹, JOUVE Thomas², LUPO Julien¹, MORAND Patrice¹, NOBLE Johan², GERMI Raphaële¹

1. Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Inserm, CHU Grenoble Alpes IAB, 38000 Grenoble, France

2. Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CEA, IRIG IBS, 38000 Grenoble, France

Introduction : L'ajustement du traitement immunosuppresseur chez les patients transplantés est crucial pour éviter des réactivations virales en cas de surdosage ou des rejets en cas de sous-dosage. Le clinicien dispose du suivi thérapeutique pharmacologique des immunosuppresseurs et du suivi des charges virales par PCR. Cependant cela reste insuffisant, d'où la nécessité de trouver de nouveaux biomarqueurs pour déterminer le niveau d'immunité antivirale des patients.

Plusieurs tests IGRA (Interféron gamma release assay) ont été développés, permettant d'évaluer l'immunité cellulaire fonctionnelle. Ils sont basés sur la quantification de l'interféron gamma (IFN- γ), une cytokine produite par les lymphocytes T après une stimulation spécifique par un peptide spécifique ou par un lysat viral. Le test IGRA développé par BioMérieux combine une stimulation directement dans le sang total et un test ELISA sur VIDAS, pour quantifier l'IFN- γ . Les tests ELISpot-T IFN- γ (Enzyme-Linked Immunospot Assay) sont quant à eux basés sur la détection des cellules productrices d'IFN- γ après stimulation des cellules mononuclées sanguines périphériques (PBMC) par un peptide spécifique. L'évaluation de ces techniques est nécessaire afin de déterminer leur place dans le suivi des patients transplantés.

Les objectifs de ce travail étaient : 1/ De comparer la technique IGRA sur VIDAS (BioMérieux) et la technique ELISpot-T IFN- γ (maison) en utilisant différents peptides spécifiques du Cytomégalo virus (CMV), de l'Epstein Barr virus et du polyomavirus BK chez des patients transplantés rénaux ; 2/ D'évaluer la corrélation entre la réponse immunitaire obtenue avec le lysat CMV (BioMérieux) et les peptides spécifiques pp-65 et IE-1 (JPT).

Méthodes : 10 greffés rénaux ont été inclus. Pour l'ELISpot, 250 000 PBMC ont été activées avec un peptide spécifique, puis le nombre de cellules sécrétant de l'IFN- γ (nombre de spot) est compté. Parallèlement, 200 μ L de sang total ont été activés avec les mêmes peptides spécifiques puis un test ELISA a permis de quantifier le taux d'IFN- γ sur VIDAS. Le temps de stimulation dans ces 2 techniques était de 22h et 16h, respectivement.

Résultats : La meilleure corrélation entre le nombre de spots en ELISpot et le RFV (index) du VIDAS était obtenue pour le peptide pp65 ($R^2=0,5$, $p=0,001$) et pour le mélange de peptides pan-EBV ($R^2=0,78$, $p<0,001$). Aucune corrélation entre ces deux techniques était retrouvée pour le mélange de peptides pan-BKV ($R^2=0,14$, $p=0,286$). La réponse obtenue avec le lysat CMV (BioMérieux) était mieux corrélée avec celle du peptide IE-1 ($R^2=0,77$, $p<0,001$) et du pool pp65+IE ($R^2=0,71$, $p=0,002$) en ELISpot, et avec le pool pp65+IE-1 ($R^2=0,73$, $p=0,015$) pour la technique VIDAS.

Conclusion/Discussion : Le test ELISpot-T IFN- γ semble être corrélé au test ELISA sur VIDAS. Ce dernier reste dépendant de la numération cellulaire du patient. L'activation par le lysat donne des résultats similaires à l'activation avec le pool peptidique.

Complication and outcome of resection involving the insular cortex

Alexis Robin, Clotilde Palumbo, Amaury De Barros, Mazen Kallel, Dominique Hoffmann, Lorella Minotti, Philippe Kahane, Stéphan Chabardes
Département de Neurologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France
UGA, Inserm, U1216, CHU Grenoble Alpes, Grenoble Institut Neurosciences, Grenoble, France

Introduction

La chirurgie des épilepsies insulaires a suscité un grand intérêt depuis de nombreuses décennies, mais elle a été considérée comme trop risquée en raison de comorbidités significatives et de résultats peu satisfaisants sur le plan épileptique. Cependant, grâce aux progrès technologiques et chirurgicaux, l'intérêt pour cette chirurgie connaît un renouveau. On distingue généralement deux types d'épilepsie insulaire : une forme insulaire "pure" avec une zone épileptogène limitée au cortex insulaire, et une forme insulaire "plus" qui implique en plus du cortex insulaire, les lobes frontaux, temporaux et/ou pariétaux. Malheureusement, les données et les séries de patients ayant subi ce type de résection sont rares et mélangent souvent ces deux formes d'épilepsie, ce qui limite notre capacité à extrapoler les bénéfices et risques chirurgicaux de chacune.

Méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective, réalisée au CHU Grenoble Alpes, portant sur l'ensemble des patients ayant bénéficié d'une chirurgie de l'épilepsie avec résection incluant le cortex insulaire entre 2004 et 2024. Deux groupes ont été comparés : le groupe "insulaire pure", où la résection de la zone épileptogène se limitait au cortex insulaire et le groupe "insulaire plus", où la résection concernait le cortex insulaire associé à un autre lobe (temporal, frontal et/ou pariétal). L'objectif principal était de comparer les résultats chirurgicaux sur le plan épileptologique lors du dernier suivi, selon la classification d'Engel. Nous avons également examiné les complications opératoires immédiates et à long terme, ainsi que l'impact de différents facteurs radiologiques et anatomopathologiques.

Résultats

Quarante-quatre patients ont été inclus, parmi lesquels 18 femmes (41%), avec un âge moyen de 29 ans et une durée moyenne de l'épilepsie de 15 ans. L'exérèse chirurgicale se limitait à l'insula chez 18 patients (groupe Ins, 41%) et a été plus étendue chez 26 patients (groupe Ins+, 59%). Au dernier suivi, avec une durée de suivi moyenne de 5,5 ans, 67% des patients du groupe Ins ont été classés Engel I (Engel IA : 33%) ; tandis que dans le groupe Ins+, 46% des patients ont été classés Engel I (Engel IA : 35%). Des complications post-chirurgicales immédiates ont été observées chez 8 patients (44%) dans le groupe Ins et chez 13 patients (50%) dans le groupe Ins+, principalement sous forme de déficit moteur, de troubles aphasiques et de quadranopsies. Aucun patient du groupe Ins n'a présenté de complications post-chirurgicales à long terme, tandis que 5 patients (19%) du groupe Ins+ ont conservé à long terme un déficit moteur (n=3), un trouble aphasique (n=1) et une quadranopsie (n=1). Parmi ces cinq patients, trois avaient subi une résection large impliquant trois lobes.

Conclusion/Discussion

Ces résultats montrent que la chirurgie insulaire pure peut apporter un bénéfice substantiel sur les crises au prix d'une faible morbidité à long terme, mais qu'elle semble en revanche moins efficace et plus risquée dans les formes plus étendues. Une sélection minutieuse des patients et une évaluation approfondie de la balance bénéfices-risques sont essentielles pour optimiser la prise en charge des patients avec une épilepsie impliquant le lobe insulaire.

Genetic etiology of fertilization failure seen in assisted reproductive technologies

Sharanya Sen^{2,3}, Adam Tanoukhi^{2,3}, Celia Tebbakh^{2,3}, Zine-Eddine Kherraf^{2,3},
Sélîma Fourati Ben Mustapha¹, Asma Hamouda^{2,3}, Raoudha Zouari¹, Pierre F. Ray^{2,3}

¹ Polyclinique les Jasmins, Centre d'Aide Médicale à la Procréation, Centre Urbain Nord, Tunis, Tunisia.

² CHU Grenoble Alpes, UM de Génétique Chromosomique, 38000 Grenoble, France.

³ Univ. Grenoble Alpes, INSERM U1209, CNRS UMR 5309, Institute for Advanced Biosciences, Team Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility, 38000 Grenoble, France.

Introduction

Fertilization failure (FF) is a rare and severe cause of infertility. It can occur due to both female or male factors. FF phenotype in males presents as sperm with no obvious morphological anomalies, that are unable to fertilize the female oocyte naturally or even through assisted reproductive technologies (ART). FF is often unpredictable before performing ART and is only evident after carrying out procedures such as *in-vitro* fertilization (IVF) or intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI), which remain unsuccessful. Although the etiology behind fertilization failure is not well defined, the availability of high throughput sequencing techniques has allowed the observation of several genetic causes. Whole genome sequencing (WGS) and whole exome sequencing (WES) has helped reveal several genes mutation, such as in *PLCZ1* and *IQCN*, which cause FF. *PLCZ1* is a phospholipase C sperm-specific protein, required for oocyte activation during fertilization. It allows the resuming of meiosis in the oocyte blocked at the second meiotic division. Here, we report variations in two genes – Profilin 3 (*PFN3*) and Actin-related protein 3 (*ACTRT3*), two interacting protein partners that have high and specific expression in spermatids. *PFN3* helps in actin polymerization, plays a role in acroplaxome-manchette complex and acrosome formation. *ACTRT3* plays a structural role in cytoskeletal organization and acrosome biogenesis.

Methods

An FF cohort of 19 patients from France and Tunisia having at least two ICSI cycles with <5% fertilization and no obvious anomaly of sperm, were selected. WES analysis was performed for the screening of variants within the cohort, followed by targeted Sanger sequencing to confirm the variations. Immunofluorescence was performed to check for the presence and localization of *PFN3*, *ACTRT3* and *PLCZ1*.

Results

Biallelic variants were identified in published genes for FF, *PLCZ1* for 2 patients and *IQCN* for 3 other patients. Interestingly, in an unpublished gene – *PFN3*, variants were seen in 3 patients – two brothers from France with a missense (c.297C>G; p.Cys99Trp), and another unrelated Tunisian patient with a 20bp deletion (c.295_314del; p.Cys99ArgfsTer47). A splice donor variant in *ACTRT3*, an interacting partner of *PFN3*, was also seen in another unrelated Tunisian patient (c.200+1G>T). Immunofluorescence performed on *PFN3* variant patient samples against *PLCZ1* showed absent protein in 90% sperm. The 10% of sperm that had *PLCZ1* showed a mislocalization of the protein in the rear end of the head, indicating the possible cause to the fertilization failure. Anti-*PFN3* and *ACTRT3* immunofluorescence is yet to be performed. We hypothesize that the absence of one protein leading to loss of the other.

Conclusion/Discussion

This is the first report of variants in genes *PFN3* and *ACTRT3* in humans, causing male infertility. These genes are associated with fertilization failure in the patients having no obvious sperm morphological defects, and FF is probably occurring due to the mislocalization of *PLCZ1*. Interestingly, both the genes interact with each other and are potentially responsible for structural organization and acrosome formation during sperm development. Further work is required to better understand the exact functions of these proteins.

Mesure volumique du sac des anévrismes de l'aorte abdominale après réparation endovasculaire en échographie 3D : Une étude pilote ex-vivo.

DUBOIS Gwendal, LHERITIER Vincent, SPEAR Rafaëlle, ACHITI Alexandru, PERNOD Gilles, BLAISE Sophie, SEINTURIER Christophe

*Laboratoire d'Exploration Vasculaire CHU Grenoble Alpes
Hôpital Michallon
Bd de la Chantourne, 38700 La Tronche*

Introduction : Le rôle de la surveillance par imagerie après une endoprothèse aortique (EVAR) est d'identifier les éventuelles endofuites, la croissance du sac, la migration de l'endo-prothèse ou la défaillance de l'endo-prothèse. Le volume du sac anévrismal après EVAR semble être un bon indicateur de suivi. La tomодensitométrie est l'examen de référence pour l'imagerie de suivi après une EVAR et permet de mesurer des volumes. Des innovations en échographie permettent à ce jour de faire de la tomographie ultrasonore en trois dimensions (3D) avec laquelle il est possible de mesurer des volumes. L'objectif de cette étude pilote était de développer une méthode de mesure du volume du sac anévrismal à l'aide de l'échographie 3D sur un fantôme ex vivo.

Méthodes : Cette étude ex vivo a porté sur un fantôme, composé d'un segment d'aorte anévrismal imprimé en 3D en acide polylactique et inclus dans de la gélatine. Nous avons utilisé pour cela un échographe équipé d'un système d'échographie 3D main levée avec tracking magnétique. Nous avons développé une méthode de mesure du volume en échographie 3D à partir de ce fantôme imprimé en 3D. Le volume était obtenu après une acquisition d'un volume échographie par un balayage manuel.

Résultats : Nous avons trouvé une méthode de mesure du volume du sac grâce à la méthode de l'intégration des disques sur deux plans différents dans le volume acquis. Le résultat obtenu en échographie était concordant avec le volume réel du sac.

Conclusion/Discussion : Les résultats de notre étude indiquent une faisabilité et une bonne concordance de la méthode de mesure du volume du sac anévrismal en échographie 3D. Ces résultats sont d'une grande importance car ils suggèrent l'échographie 3D peut être envisagée comme méthode de mesure alternative au scanner pour la mesure du volume du sac anévrismal. Ces résultats prometteurs nous encouragent à réaliser une étude portant sur la mesure de la concordance, la reproductibilité et la répétabilité des mesures du volume sur un fantôme ex vivo par rapport au volume scanographique (gold standard).

Poster walk



Recherche fondamentale

The effect of nanostructuring of semi-conductor or polymer materials in neural cell cultures: implications for neural implant design

Fannie Darlot, Jean-Marie Mayaudon, Vijayalakshmi Rajendran, Lionel Rousseau, Maria-Thereza Perez, Gaëlle Piret
Laboratoire Braintech
2280 rue de la piscine, Bât B, 38400 Saint-Martin d'Hères

Introduction

Nanowires can be used in a broad range of bio-applications among which are neural implants for brain computer interface or neuroprostheses. We have shown that neurons from the Central Nervous System thrive when cultured on vertical arrays of semi-conductor nanowires (NWs), whereas the growth of glial cells on such arrays is limited compared to when cultured on flat substrates. However, semi-conductor nanowires present challenges in terms of integration in neural implants, such as their integration in a flexible substrate and their resistance to corrosion.

Méthodes

We have analyzed the interaction of neuronal cells with NWs made from insulator polymers that are usually used for neural implants. For this purpose, we performed retinal and cortical cell cultures on SU8 and parylene-C polymer NWs.

Résultats

Four μm long SU-8 NWs positively influenced cell adhesion and neurite network formation compared to 1 μm long SU-8 NWs and flat SU-8 substrates. However, flat parylene-C was found to be the best polymer. Although we anticipate that parylene-C NWs might improve cell behavior, it has not yet been possible to obtain parylene-C NWs longer than 2 μm .

Conclusion/Discussion

Taken together, these results suggest that arrays of nanowires are promising nanomaterials for designing neural interfaces and that the type of material and shape/dimensions of such nanomaterials play an important role.

HBV and HBsAg modulate the phenotypic, functional and metabolic features of DC subsets

Lucile Dumolard, Théophile Gerster, Thomas Decaens, Patrice Marche, Zuzana Macek Jilkova, Caroline Aspod
Institut pour l'Avancée des Biosciences (IAB), Université Grenoble Alpes (UGA), Service d'hépto-gastro-entérologie, CHU Grenoble Alpes, Etablissement Français du Sang (EFS)

Introduction

Hepatitis B is a liver infection caused by the Hepatitis B virus (HBV), which is responsible for liver damage. Infected individuals who fail to control the viral infection develop chronic hepatitis B (CHB) and are at risk to develop life-threatening liver diseases such as cirrhosis or liver cancer. Current antiviral drugs do not achieve HBV functional cure, but immunotherapeutic approaches aiming at modulating the host's immune system to restore a functional antiviral immunity are promising. Dendritic cells (DCs) play important roles in the immune response against HBV, but they are functionally impaired in CHB patients. However, the underlying molecular mechanisms involved in HBV-induced DCs dysfunctions have yet to be elucidated. In this context, we explored DC subset modulations by HBV and Hepatitis B surface antigen (HBsAg).

Methods

Blood-derived DCs (cDC1s, cDC2s and pDCs) purified from healthy donors were exposed to HBV or viral antigen (HBsAg) and stimulated with different toll-like receptors (TLRs) (PolyI:C, R848, IMQ, CpG_A and CpG_C). Their activation, phenotype and functions were analysed through multiparametric flow cytometry and Luminex multiplex assays. The global metabolic profile of DCs in response to HBV and HBsAg was studied by flow cytometry using SCENITH (Single Cell ENergetIc metabolism by profilIng Translation inhibition) technique.

Results

We found that HBV modulates cytokine and chemokine secretion profile of DCs in response to TLR stimulation. Notably, we identified for the first time that HBV-exposed DCs secrete high levels of fractalkine (CX3CL1), which is a chemokine responsible for attracting T cells, NK cells and monocytes to the site of infection. HBsAg exposure favors DC activation while drastically altering TRAIL expression in response to TLR stimulation. It highly influences DC secretome, notably seen with increased secretions of cytokines and chemokines involved in immune tolerance (IL-10, RANTES, MDC, TARC). Besides, both HBV and HBsAg seem to dampen the metabolism of DC subsets as highlighted by a decrease in global protein synthesis.

Conclusion

Altogether, HBV and HBsAg exhibit a modest impact on DC activation but strongly reshape cytokine and chemokine secretion profiles by DCs and dampen DC global metabolism. Such modulation of the functional and metabolic features of DCs by HBV and its viral component HBsAg may impair the subsequent antiviral immune responses and contribute to the progression of the disease towards chronicity.

This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 847939, ANRS and EFS.

La nouvelle protéine axonémale ZMYND12 interagit avec TTC29 et DNAH1 et est nécessaire à la fertilité masculine et à la fonction du flagelle

Denis Dacheux, Guillaume Martinez, Christine E. Broster Reix, Julie Beurois, Patrick Lorès, Magamba Tounkara, Jean-William Dupuy, Derrick R. Robinson, Corinne Loeuillet, Emeline Lambert, Zeina Wehbe, Amir Amiri-Yekta, Abbas Daneshpour, Seyedeh-Hanieh Hosseini, Raoudha Zouari, Sélima Fourati Ben Mustapha, Lazhar Halouani, Xiaohui Jiang, Ying Shen, Chunyu Liu, Nicolas Thierry-Mieg, Amandine Septier, Marie Bidart, Véronique Satre, Caroline Cazin, Zine-Eddine Kherraf, Christophe Arnoult, Pierre F. Ray, Aminata Touré, Mélanie Bonhivers, Charles Coutton.

-Univ. Bordeaux, CNRS, MFP, UMR 5234, F-33000 Bordeaux, France
-Bordeaux INP, Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité, UMR 5234, F-33000 Bordeaux, France
-These authors contributed equally to this work
-CHU Grenoble Alpes, UM de Génétique Chromosomique, 38000 Grenoble, France
-Institute for Advanced Biosciences, INSERM U1209, CNRS UMR 5309, Univ. Grenoble Alpes, Team Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility, 38000 Grenoble, France
-Institut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR 8104, Université Paris Cité, 75014 Paris, France
-Univ. Bordeaux, Plateforme Protéome, F-33000, Bordeaux, France
-Department of Genetics, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran-Iran
-Department of Andrology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran-Iran
-Polyclinique les Jasmins, Centre d'Aide Médicale à la Procréation, Centre Urbain Nord, Tunis, Tunisia
-Human Sperm Bank, West China Second University Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China
-NHC Key Laboratory of Chronobiology, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China
-Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education, China
-Obstetrics and Gynecology Hospital, Fudan University, Shanghai, China
-Univ. Grenoble Alpes, CNRS, UMR5525, TIMC, 38000 Grenoble, France
-CHU Grenoble Alpes, Laboratoire de Génétique Moléculaire: Maladies Héritaires et Oncologie, Grenoble, France
-CHU de Grenoble, UM GI-DPI, Grenoble, 38000, France
-Institute for Advanced Biosciences, INSERM U 1209, CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Team Physiology and Pathophysiology of Sperm cells 38000 Grenoble, France

L'infertilité masculine est une condition courante et complexe qui présente un vaste éventail de phénotypes hétérogènes. Bien qu'environ 50 % des cas soient estimés avoir une composante génétique, la cause sous-jacente reste souvent indéterminée. Dans cette étude, grâce au séquençage complet de l'exome de 168 hommes infertiles présentant une asthénotératozoospermie due à des anomalies sévères du flagelle des spermatozoïdes, nous avons identifié des variants homozygotes de ZMYND12 chez quatre patients non apparentés. Des immunofluorescences ont révélé des localisations altérées des protéines DNAH1, DNALI1, WDR66 et TTC29 dans les spermatozoïdes des patients. La localisation axonémale de l'orthologue de ZMYND12, TbTAX-1, a été confirmée en utilisant le modèle *Trypanosoma brucei*. Le knock-down par ARN interférent de TbTAX-1 a affecté de manière dramatique la motilité flagellaire, avec un phénotype similaire à celui des spermatozoïdes des hommes porteurs de variants homozygotes de ZMYND12. La co-immunoprécipitation et la microscopie d'expansion ultrastructurale chez *T. brucei* ont révélé que TbTAX-1 forme un complexe avec TTC29. La protéomique comparative avec des échantillons de *Trypanosoma* et de souris *Ttc29* KO a identifié un troisième membre de ce complexe : DNAH1. Les données présentées révèlent que ZMYND12 fait partie du même complexe axonémal que TTC29 et DNAH1, crucial pour la fonction et l'assemblage du flagelle chez l'homme et *Trypanosoma*. ZMYND12 est donc un nouveau gène associé à l'asthénotératozoospermie, dont les variants bi-alléliques causent des malformations sévères du flagelle et une infertilité masculine primaire.

Enhancing the efficacy of ADCs in the ovarian cancer tumor micro-environment

Mélanie Boudaud¹, Alizée Jacquard¹, Frédéric Sergent¹, Sara Karroum¹, Nicolas Lemaitre¹, Mohamed Benharouga¹, Steve Conlan², Nadia Alfaidy¹

¹UMR 1292 INSERM/CEA/UGA, Team Mechanism of Angiogenesis in Biological Barriers (MAB2)
Biology and Biotechnology for Health Laboratory (IRIG)

²Swansea University, Team Reproductive Biology and Gynecological Oncology (RBGO)
Institute of Life Science 2

Introduction

Ovarian cancer (OC) remains the fifth most common cause of cancer death in women. Even if different treatments that include surgery, chemotherapy and targeted therapies are already available on the market, around 70 percent of patients diagnosed with OC will experience a recurrence. This number stress the urgent need to develop new therapies, such the one based on the antibody-drug conjugates (ADC) technology.

Recently, our collaborators from Swansea University (UK) developed an ADC strategy that targets the Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE), a protein that is highly expressed in OC. Being involved in signaling pathways, such as inflammation and angiogenesis, RAGE protein appears as a promising target in this cancer. RAGE-ADC therapy is aimed to improve the therapeutic index of antineoplastic agents by restricting delivery to target tumor cells.

While targeting tumor cells in OC is essential, it appears also relevant to consider its tumor microenvironment (TME). We have recently demonstrated that prokineticin2 (PROK2) a member of the PROK family was highly expressed in the TME of OC and may control OC tumor growth through the inhibition of adipocyte differentiation, a TME component known to feed tumor cells.

This project aims, at **i)** characterizing the mechanism by which PROK2 controls the cross-talk between tumor cells and adipocytes, **ii)** determining the potential effect of PROK2 on RAGE expression by tumor cells and **iii)** characterizing the effects of PROK2 receptor antagonist (PC1) and RAGE-ADC on the overall OC tumorigenesis, *in vitro* and *in vivo*.

Methods

Differentiation of 3T3 into adipocytes cells was established and effect of PROK2 on this process was characterized using PC1 antagonist. The characterization of RAGE in the murine cancer cell line ID8, and the effect of PROK2 on its expression were determined using 2D and 3D culture systems.

The efficacy of RAGE-ADC treatment will be tested solely or in combination with PROK2. The latter was recently established in the lab through injection of ID8-Luciferase cells in C57BL/6 female.

Results

Recent data obtained by the team demonstrated that PROK2 was elevated in the circulation of a cohort of OC patients, and that PROKR1 was highly expressed in the TME. In addition, the team also demonstrated that the treatment of mice bearing OC tumors with PC1, an antagonist of PROKR1, or with PROK2, exhibited exacerbation and inhibition of tumor growth. Here, we demonstrate that PROK2 negatively controls adipocyte differentiation and that this effect was reversed by PC1 treatment. In addition, treatment of ID8 cells by PROK2 induced a reduction in the expression of RAGE.

Conclusion/Discussion

Altogether, these findings strongly suggest that PROK2 may act through PROKR1 expressed on adipocytes to reduce their differentiation, which may contribute to a decrease in tumor feeding by adipocytes. Moreover, PROK2 may also reduce tumor growth by directly acting on the expression of RAGE protein. Ongoing experiments are in progress to decipher the mechanism by which PROK2 regulates OC tumorigenesis both *in vitro* and *in vivo* and to test the combinatory effects of RAGE-ADC and PROK2.

Clinical transfer of microbeam radiation therapy: Canine brain tumor phase I study

L. Eling^{1,2*}, J.F. Adam^{1,2}, J. Balosso^{1,2}, S. Calvet³, G. Chapel⁴, R. Drevon-Gaud³, I. Flandin², M. Gaudin⁵, L. Giraud⁵, S. Kefs², S. Keshmiri¹, J.A. Laissue⁶, P. Pellicoli⁷, C. Verry² and R. Serduc^{1,2}

¹Univ Grenoble Alpes, INSERM UA7 Synchrotron Radiation for Biomedicine, Saint-Martin-d'Hères, France;

²Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, Maquis du Grésivaudan, La Tronche, France; ³ARGOS, Clinique Vétérinaire de l'Esplanade, Grenoble, France; ⁴Clinical Oncology Unit, VetAgro Sup Campus Vétérinaire, Marcy l'Etoile, France; ⁵OnlyVet, Saint Priest, France; ⁶University of Bern, Bern, Switzerland;

⁷European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble, France

*Corresponding author: Laura Eling, Biologie B, 2280 Rue de la Piscine, 38400 Saint-Martin-d'Hères

Introduction: The benefits of spatially-fractionated radiation therapy have been maximized through synchrotron Microbeam Radiation Therapy (MRT). MRT has repeatedly proven its superiority compared with conventional RT in increasing the therapeutic ratio of brain tumor treatment in preclinical research. In 2021 the clinical transfer phase of MRT has started: the first dog brain tumor patient was treated under clinical conditions to determine the safety and feasibility of MRT in view of the imminent clinical transfer. As a primary endpoint, the tolerance of normal brain tissues to MRT was evaluated, while the efficacy in reducing tumor volume was considered as a secondary endpoint.

Methods: The 6 year-old male French bulldog received a single-session of 3D-conformal, image-guided MRT for brain tumor treatment (suspected glioma). Ultra-high dose rate synchrotron x-rays, spatially fractionated into arrays of microbeams (50 µm-wide, 400 µm-spaced), were delivered through 5 conformal incidences. The PTV received a minimal cumulated valley dose (diffusing between microbeams) of 2.8 Gy, corresponding to 25 Gy peak dose (within microbeams) per incidence. The dog underwent monthly MRI, veterinary controls and owner evaluations.

Results: Clinical follow-up until euthanasia did not indicate radiotoxicity induced by MRT. During the first 3 months after MRT, quality of life (QoL) improved from 4/10 to 8.5/10. A considerable reduction of tumor-induced seizures was noted after the treatment; complete absence of seizures was reached from 2 weeks to 6 months post MRT. Convulsive seizures only reoccurred from 6 months on, induced by the tumor relapse. MRI revealed minimalization of the mass effect and normalization of the ventricular volume. At 1 month after the MRT exposure, the tumor volume reduced by 67.4% and by 87.4% at 3 months (see fig. 1). Recurring tumor volume was only noted at 6 months post MRT (61.4% reduced tumor volume compared with the initial volume). The dog was euthanized 293 days post MRT (353 days post diagnosis) due to tumor-associated seizure activity and degrading well-being.

Conclusions: This is the first neuro-oncologic veterinary trial of 3D-conformal synchrotron MRT for spontaneous intracranial tumors in large pet animals. Follow-up of 5 further pet dogs irradiated with 4 Gy cumulated MRT valley dose through 5 ports is currently ongoing. For comparison, 10 dogs have been treated at the hospital with conventional radiotherapy and are currently monitored for tumor volume evolution, animal well-being and survival. Our study reveals that microbeam irradiation does not induce acute to late radiotoxicity in normal brain tissues and proves that MRT is a safe tool for brain tumor treatment in dogs. MRT improves quality of life and animal survival and leads to a remarkable tumor volume reduction despite relatively low valley dose delivery. The foreseen MRT valley dose escalation study will certainly further ameliorate the clinical outcome in the canine patients. This trial is an essential last step towards the clinical transfer of MRT in the near future for the treatment of deep-seated human brain tumors.

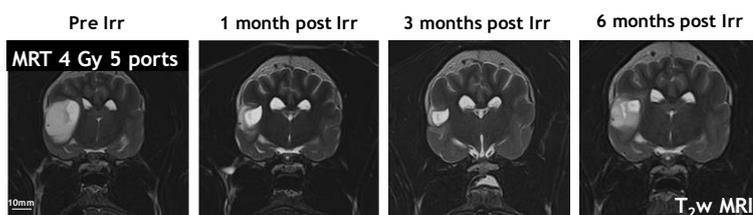


Figure 1: Tumor volume reduction at 1 and 3 months post MRT, compared with the initial tumor volume (Pre Irr). At 6 months, tumor recurrence

Poster walk



Recherche translationnelle

CRISPR-gene-engineered *CYBB* Knock-out PLB-985 cells, a useful model to study functional impact of X-linked Chronic Granulomatous Disease mutations – The example of the G412E X91⁺-CGD mutation

Sylvain Beaumel, Lucile Verbrugge, Perrine Rochas, Michelle Mollin, Bénédicte Vigne, Morgane Fournier, Caroline Plazy, Franck Fieschi, Marie José Stasia
Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, SB2TE, Pôle Biologie, Grenoble, France and Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CEA, UMR5075, Institut de Biologie Structurale, Grenoble, France.

Introduction

Chronic granulomatous disease (CGD) is a rare primary immune disorder caused by mutations in one of the five subunits of the NADPH oxidase complex expressed in phagocytes. Two-thirds of CGD cases are caused by mutations in *CYBB* that encodes NOX2 or gp91^{phox}. Some rare X91⁺-CGD point mutations lead to a loss of function but with a normal expression of the mutated NOX2 protein. It is therefore necessary to ensure that this mutation is indeed responsible for the loss of activity in order to make a safe diagnosis for genetic counselling and to rule out a possible polymorphism.

Methods

We previously used the X-CGD PLB-985 cell model of M.C. Dinauer (Univ Washington, US) obtained by homologous recombination in the original PLB-985 human myeloid cell line, in order to study the functional impact of such mutations. Although the PLB-985 cell line was originally described by K.A. Tucker et al. in 1987 as a distinct cell line isolated from a patient with acute nonlymphocytic leukemia, it is actually identified as a subclone of the HL-60 cells. In order to use a cellular model that meets the quality standard for the functional study of X91⁺-CGD mutations in CGD diagnosis, we developed our own human cellular model of X-CGD using the Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats associated Cas9 protein (CRISPR-Cas9) technology (all-in-one Cas9 Smart NucleaseTM Plasmid Expression System) in a certified PLB-985 cell line from DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures.

Results

In this way we not only created two new models of X-CGD neutrophil like with two well-characterized mutations in *CYBB* (*CYBB*^{KO} PLB-985 cells) but we also decipher the deleterious functional impact of the G412E mutation at the origin of a severe X91⁺-CGD form in a patient, by directed mutagenesis and stable transfection in these KO PLB-985 models. Indeed, we demonstrated that the G412E mutation in NOX2 (*CYBB* gene) prohibits access of the electron donor NADPH to its binding site explaining the absence of superoxide production in the neutrophils of the X91⁺-CGD patient.

Conclusion/Discussion

The main use of the *CYBB*^{KO} PLB-985 cells in our laboratory is to study the functional impact of X91⁺-CGD mutations. In this way, genetic counseling within this family can be carried out without any problems. In addition, this cell model is also useful to highlight essential functional regions of NOX2 as demonstrated by the functional impact of the G412E mutation in the NADPH binding site of NOX2.

Beaumel S et al. *Clin Exp Immunol.* 2023 Apr 25;212(2):156-165. doi: 10.1093/cei/uxad028.

Rôle de la protéine X dans la prématurité et ses conséquences sur le développement du cerveau fœtal : cas de la chorioamniotite

Margaux Digonnet¹, Morgane Desseux¹, Frédéric Sergent¹, Mohamed Benharouga¹, Tiphaine BARJAT¹, Guillaume Sébire², Nadia Alfaïdy¹

¹Laboratoire Biosanté, UMR 1292, CEA de Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38054, Grenoble, France

²Research Institute of McGill University Health Centre, Division of Child Neurology, Montreal, QC, Canada

Introduction : La chorioamniotite (CA) est une infection de l'unité utéroplacentaire par des pathogènes tels que le streptocoque du groupe B (GBS) ou Escherichia coli. Elle est la première cause de prématurité (< 37 SA) et est responsable de 50% des atteintes neurologiques chez le nouveau-né.

La famille de protéines X est composée de deux ligands que l'on nommera X1 et X2 et de leurs récepteurs XR1 et XR2. Les membres de cette famille sont exprimés dans de nombreux tissus, dont le cerveau et le placenta et joueraient un rôle dans la quiescence de la cavité intra-utérine au cours du troisième trimestre de la grossesse. Des données préliminaires récentes de notre groupe ont démontrés, dans un modèle de CA chez la rate gravide, que l'expression de ces protéines était modifiée lors de la CA suggérant une implication directe dans le mécanisme de la prématurité. En l'absence de biomarqueurs et de traitements curatifs de la CA, nous émettons l'hypothèse que l'un ou les deux membres de cette famille seraient directement impliqués dans l'étiologie de la CA et ses conséquences sur le développement du cerveau fœtal.

Objectifs : Notre projet vise à caractériser le statut des membres X1 et X2 dans l'inflammation induite par la CA et de démontrer leurs rôles ainsi que celui de leurs récepteurs dans cette forme de la prématurité. Aussi, le projet vise à caractériser l'impact de la modulation de leur signalisation sur l'issue de la grossesse et ses conséquences au sur cerveau fœtal.

Méthodes : Des femelles OF1 gestantes ont reçu des mini-pompes délivrant le ligand X1 ou X2 (ou du sérum physiologique) à jour 15,5 de leur gestation (GD) puis ont été injectées avec deux doses de LPS (500µg/kg) ou du PBS à jour 16,5 GD et 12h après. La gestation de ces femelles gestantes a été monitorée durant les 20h suivants la première injection de LPS. Les placentas et cerveaux des fœtus ont été prélevés, pesés et soit congelés ou fixés en paraffine pour des analyses au niveau de la protéine et de l'ARNm.

Résultats : Nous avons observé une mise-bas prématurée chez les souris traitées au LPS. Les souris ayant reçu la protéine X2 ont mis bas plus tôt que celles injectées au LPS. L'inverse s'est produit pour celles ayant reçu la protéine X1. Ces dernières n'ont pas mis-bas dans les vingt heures qui ont suivi l'injection du LPS.

Nous avons également observé une diminution du poids des fœtus lorsque la mère a été traitée avec du LPS et cette diminution est plus marquée quand les souris ont eu la protéine X2 avant le LPS. A l'inverse, nous avons observé une augmentation du poids des fœtus traités avec la protéine X1 avant l'injection du LPS, comparé au groupe traités avec le LPS seul.

L'analyse préliminaire des cerveaux des fœtus issus de ces groupes, suggère que la protéine X1 et X2 assure une protection du stress oxydatif, mais que seule la protéine X1 permettrait un rétablissement du niveau énergétique du cerveau.

Conclusions/Discussion : L'ensemble de ces résultats suggère fortement que les protéines X1 et X2 seraient différemment impliquées dans l'étiologie de la prématurité, dans un contexte infectieux et que ces protéines peuvent être considérées dans les stratégies thérapeutiques de la CA. Les études sont en cours dans notre laboratoire pour caractériser les mécanismes sous-jacents à leurs rôles dans le placenta et le cerveau fœtal.

Facteurs prédictifs de la volonté d'utiliser la télémédecine chez les patients atteints de maladies rhumatismales

Pascal Petit¹, Felix Muehlensiepen^{1,2}, Johannes Knitza^{1,3}, Martin Welcker⁴, Nicolas Vuillerme^{1,5}

1. Univ. Grenoble Alpes, AGEIS, 38000 Grenoble, France

2. Center for Health Services Research, Faculty of Health Sciences Brandenburg, Brandenburg Medical School Theodor Fontane, Rüdersdorf bei Berlin, Germany

3. Department of Internal Medicine 3, Friedrich-Alexander-University Erlangen-Nürnberg and Universitätsklinikum Erlangen, Erlangen, Germany

4. Medizinisches Versorgungszentrum für Rheumatologie Dr M Welcker GmbH, Planegg, Germany

5. Institut Universitaire de France, Paris, France

Introduction : D'après l'OMS, la télémédecine est bénéfique pour le dépistage, le diagnostic, la prise en charge, le traitement et le suivi à long terme des patients. Cependant, pour que les solutions de télémédecine soient accessibles à tous et partout, il est nécessaire d'identifier les obstacles et les facilitateurs à leur mise en œuvre et à leur utilisation effective et efficace. L'intelligence artificielle (IA), aujourd'hui au cœur de la médecine du futur, n'a de cesse d'augmenter ses capacités de prédiction notamment pour améliorer la qualité des soins. Notre étude visait à utiliser des modèles d'apprentissage automatique (machine learning, ML) pour identifier les facteurs prédictifs de la volonté d'utiliser la télémédecine chez des patients atteints de maladies rhumatismales.

Méthodes : Nous avons effectué une analyse secondaire des données d'une enquête transversale nationale que nous avons menée en Allemagne en 2018. Au total, 12 algorithmes de ML ont été comparés : régression logistique, régression lasso, régression ridge, machine à vecteurs de support, k-voisins les plus proches, Naive Bayes, AdaBoost, forêt aléatoire (random forest), extreme gradient boosting (XGBoost) et réseaux neuronaux (deep learning). L'aire sous la courbe ROC (AUROC) a été utilisée pour comparer les 12 algorithmes de ML. Pour l'algorithme le plus performant, l'importance des facteurs prédictifs a été déterminée via l'explication additive de Shapley. Lorsqu'un facteur prédictif orientait le modèle vers la volonté d'utiliser la télémédecine, il était considéré comme facteur promoteur et sinon comme facteur dissuadeur.

Résultats : Deux-cent-quatre-vingt-quatorze patients atteints de maladies rhumatismales ont été inclus, dont 39,5% s'exprimaient prêts à utiliser la télémédecine. L'algorithme XGBoost a donné les meilleurs résultats : sensibilité de 70%, spécificité de 91% et valeur prédictive positive de 84%. Ne pas souhaiter que des solutions de télémédecine leur soient proposées par un rhumatologue, se considérer en mauvais état de santé et être âgé de 60 à 69 ans étaient les principaux facteurs dissuadeurs. Avoir accès à internet à la maison et souhaiter que des solutions de télémédecine soient proposées par un rhumatologue étaient les principaux facteurs promoteurs.

Conclusion/Discussion : Ce travail montre l'impact positif de l'IA sur la pratique médicale en tant qu'outil d'aide à la décision pour une prise en charge de télémédecine des patients atteints de maladies rhumatismales plus personnalisée, efficace et efficiente. Nos analyses soulignent le rôle central des professionnels de santé dans l'implémentation de la télémédecine et de la transformation numérique des soins en santé. Nos résultats suggèrent qu'enrichir les connaissances et les compétences des professionnels de santé en matière de télémédecine peut contribuer à remédier à la pénurie grandissante de main-d'œuvre tout en garantissant la qualité des soins apportés à tous les patients sur l'ensemble du territoire et leur accompagnement tout au long de leur parcours de santé. Ces résultats soutiennent les objectifs du Plan d'action régional pour la santé numérique 2023-2030 de l'OMS/Europe et de la Commission européenne, visant notamment à promouvoir la couverture sanitaire universelle et à améliorer la santé et le bien-être grâce aux solutions de santé numérique.

Autoantibodies targeting the C1s complement protease in systemic lupus erythematosus patients with active nephritis, arthritic flare and neuropsychiatric SLE

Jeanne Vigne¹, Nolwenn Haut¹, Giovanna Clavarino^{1,2}, Françoise Sarrot-Reynauld³, Noémie Jourde-Chiche⁴, Leendert A. Trouw⁵, Federica Defendi², Nicole Thielens¹, Christine Gaboriaud¹, Véronique Rossi¹, Chantal Dumestre-Pérard^{1,2}

¹Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CEA, IBS, F-38000 Grenoble, France.

²Laboratoire d'Immunologie, Pôle de Biologie, CHU Grenoble Alpes, CS 10217, 38043 Grenoble Cedex 9, France.

³Service de Médecine Interne, CHU Grenoble Alpes, CS 10217, 38043 Grenoble Cedex 9, France.

⁴Aix-Marseille Univ, AP-HM Centre de Néphrologie et transplantation rénale, Centre Hospitalier Universitaire de la Conception, Marseille, France.

⁵Department of Immunology, Leiden University Medical Center, Leiden 2300 RC, The Netherlands.

Background and aims

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease, characterized by the presence of circulating autoantibodies (Abs) directed against self-antigens. Autoantibodies against several complement protein such as C1q have been reported to contribute to the SLE pathogenesis. To date, only few studies have reported the presence of autoantibodies targeting C1s complement protease in SLE patients' sera. This study aimed to assess anti-C1s Abs relevance in SLE patients and to evaluate Abs specificities toward C1s fragments.

Methods

Anti-C1s Abs were measured in 188 SLE patients' sera by ELISA using activated plasma C1s. SLE was quiescent in 66 of these patients, while it was active in 122 patients (39 with active nephritis, 39 with arthritic flare and 44 with neuropsychiatric SLE). For anti-C1s Abs positive sera, the antibody specificity was further investigated using C1s fragments.

Results

Of the 188 SLE patients, 22% (41/188) presented positive anti-C1s Abs, 90% (37/41) of them with active disease. A significant difference was observed between anti-C1s Abs levels in quiescent and active SLE ($p=0.005$). Interestingly, titers of anti-C1s Abs were significantly higher in SLE patients with active nephritis than in patients with arthritic flare ($p<0.0001$) or with neuropsychiatric exacerbation ($p<0.0001$). Moreover, anti-C1s Abs titers were positively correlated to the SLEDAI ($p<0.0001$, $r=0.35$) and negatively correlated to C1s protein levels ($p=0.0005$, $r=-0.26$).

Regarding anti-C1s Abs specificities, 8% targeted the C1s catalytic fragment (CCP1-CCP2-SP domain), 54% the C1s N-terminal fragment (CUB1-EGF-CUB2-CCP1) and 14% both fragments. These results highlight that anti-C1s Abs from SLE patients recognize preferentially the N-terminal part of C1s.

Conclusions

Anti-C1s Abs might be interesting new biomarkers for the diagnosis and follow-up of patients with SLE, especially for active nephritis, one of the most frequent and serious complications in SLE. Further investigations are needed to explore the functional impact of anti-C1s Abs from SLE patients on C1s protease ligands/substrates.

Genetic diagnosis of 280 men with multiple morphological anomalies of the sperm flagella

Asma Hamouda^{2,3}, Raoudha Zouari¹, Sharanya Sen^{2,3}, Zine-Eddine Kherraf^{2,3}, Sélima Fourati Ben Mustapha¹, Pierre F. Ray^{2,3},

¹ Polyclinique les Jasmins, Centre d'Aide Médicale à la Procréation, Centre Urbain Nord, Tunis, Tunisia.

² CHU Grenoble Alpes, UM de Génétique Chromosomique, 38000 Grenoble, France.

³ Univ. Grenoble Alpes, INSERM U1209, CNRS UMR 5309, Institute for Advanced Biosciences, Team Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility, 38000 Grenoble, France.

Introduction

Evidence accumulated over the last 10 years demonstrated that mutations in genes involved in flagellum biogenesis, function and maintenance could disrupt these processes and lead to severe flagellar defects and asthenozoospermia. The main phenotype called MMAF for Multiple Morphological Anomalies of the sperm Flagella has been widely studied and is particularly frequent among North African infertile men. MMAF is characterized by a mosaic of morphological abnormalities, including coiled, bent, irregular, short or/and absent flagella. Intra cytoplasmic sperm injection (ICSI) is usually proposed to MMAF patients with generally good success rates.

Méthodes

Retrospective study carried out on 280 infertile men recruited from different countries from 2008 to 2023.

All recruited patients had a typical MMAF phenotype.

All patients had a standardized sperm analysis and whole exome sequencing (WES) was carried out on DNA extracted from saliva. Genetic data analysis was performed in Grenoble using an in-house bioinformatics pipeline. Most patients underwent at least one ICSI attempt.

Résultats

A patient was considered MMAF when his sperm analysis presented a total motility <10% with at least three of the following flagellar abnormalities present in >5% of the spermatozoa: absent, short, coiled or bent and irregular shape.

A genetic diagnosis (presence of a homozygous deleterious variant) was obtained for 96 subjects (52%). Variants in 29 different genes were identified, the most frequent genes being DNAH1 (n=20), CFAP251 (n=18), CFAP44 (n=13), CFAP43 (n=14), CFAP44, FSIP2 (n=10), CFAP91 (n=9), QRICH2 (n=7), TTC29 (n=5), ARMC2 (n=5), TTC21A (n=4).

We compared sperm parameters according to the mutated gene (genes associated with at least 3 patients) and no particular gene was found associated with more severe anomalies.

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome was also correlated with the genetic diagnosis of the patients and compared to a matched control group.

Conclusion/Discussion

After a closer analysis of the sperm parameters, we found that no particular gene was found associated with more severe anomalies. However, the significance of these results remains to be proven/established with a greater number of subjects.

The correlation between the genotype and the ICSI results provides some interesting information.

Poster walk



Recherche sur données

Agreement and comparative accuracy of stability criteria at discharge in predicting adverse events for community acquired pneumonia patients

DANJOU Anne, Bouisse Magali, Blaise Sophie, Toffart Anne-Claire, Schwebel Carole, Labarère José
Laboratoire TIMC
Pavillon TAILLEFER, Allée des Alpes, 38700 La Tronche

Introduction — Various definitions of clinical stability have been developed for assessing the appropriateness and safety of discharge for patients hospitalized with community-acquired pneumonia. Objectives of this study were to quantify the level of agreement for five published definitions of clinical stability and to estimate their discriminatory accuracy in predicting post-discharge adverse events.

Methods — Retrospective analysis of individual participant data from a cohort study. 1,038 consecutive adult patients (median age, 77 years) who were discharged alive from pneumonia hospitalizations, in France were included. The primary outcome measure was a composite of unplanned readmission or death within 30 days of hospital discharge, whichever occurred the first.

Results — The prevalence of unstable criteria in the 24 hours prior to discharge was 4.5% for temperature $>37.8^{\circ}\text{C}$, 14% for heart rate $>100/\text{min}$, 1.0% for respiratory rate $>24/\text{min}$, 2.6% for systolic blood pressure $<90\text{ mmHg}$, 3.3% for oxygen saturation $<90\%$, 5.4% for inability to maintain oral intake, and 6.4% for altered mental status. The percentages of unstable patients ranged from 13% to 41% across definitions (Kappa coefficient, 0.47, 95% confidence interval, 0.44 to 0.50). Overall, 140 patients (13%) experienced 30-day post-discharge adverse events, including 108 unplanned readmissions (10%) and 32 deaths (3.1%). Clinical instability was associated with 1.3- to 2.0-fold increase in the odds of post-discharge adverse events depending on the definition, with c-statistic ranging from 0.54 to 0.59 ($P = 0.31$).

Conclusion — Clinical instability is associated with higher odds of 30-day post-discharge adverse event, for all but one published definition. This study supports the validity of definitions that combine vital signs, mental status, and ability to maintain oral intake in the 24 hours prior to discharge for identifying patients who are at higher risk for post-discharge adverse events.

Infections de site opératoire après ablation de matériel d'ostéosynthèse : incidence, facteurs de risque et impact de l'antibioprophylaxie

Gallouche M^{1,2}, Gléréan C¹, Heuzé M¹, Boudissa M^{3,4}, Rubens Duval B⁵, Pavese P⁶, Landelle C^{1,2}

¹Service d'hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes

²Université Grenoble Alpes/CNRS, Grenoble INP, MESP TIM-C UMR 5525

³Service de chirurgie orthopédique et traumatologique Nord, CHU Grenoble Alpes

⁴Université Grenoble Alpes/CNRS, Grenoble INP, GMCAO TIM-C UMR 5525

⁵Service de chirurgie orthopédique et traumatologique Sud, CHU Grenoble Alpes

⁶Service de maladies infectieuses, CHU Grenoble Alpes

Introduction : L'ablation de matériel après ostéosynthèse (AMO) chez l'adulte est une intervention très courante en orthopédie. Peu de données sont disponibles sur les taux d'infections de site opératoire (ISO) après AMO. L'antibioprophylaxie n'est pas recommandée pour ce type d'intervention. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'incidence des ISO après AMO. Les autres objectifs étaient d'identifier les facteurs de risque associés et d'évaluer l'impact de l'antibioprophylaxie préopératoire.

Méthodes : Cette étude descriptive rétrospective a été conduite sur les patients ayant bénéficié d'une AMO avec ou sans repose de matériel entre mars 2017 et mars 2022, au CHU Grenoble Alpes. Les données ont été collectées à partir des dossiers médicaux informatisés. Une analyse univariée puis multivariée des facteurs de risque d'ISO a été réalisée.

Résultats : Un total de 4109 patients a été inclus et 40 d'entre eux ont développé une ISO (0,97%). La principale bactérie isolée était le *Staphylococcus aureus* (32,23%). Les facteurs significativement associés à un risque plus faible d'ISO après AMO étaient une intervention dans le site Sud en comparaison au site Nord (Odds Ratio ajusté [ORa] = 0,30 ; intervalle de confiance à 95% [IC95%, 0,14-0,65]) et un index de Charlson de 1 ou 2 en comparaison à un index de 0 (ORa=0,38 [IC95%, 0,15-0,97]). Un antécédent d'hypertension artérielle (ORa=3,97 [IC95%, 1,56-10,10]) et une antibioprophylaxie préopératoire dans le cas d'une AMO avec repose de matériel (ORa=2,58 [IC95%, 1,03-6,43]) étaient significativement associés avec un plus haut risque de développer une ISO. L'administration d'une antibioprophylaxie en cas d'AMO sans repose de matériel allait dans le sens d'un risque d'ISO plus faible mais l'association n'était pas significative (ORa=0,45 [IC95%, 0,06-3,50]).

Conclusion : Dans notre cohorte, le taux d'incidence des ISO après AMO était inférieur à 1%, ce qui est relativement faible par rapport à de précédentes études. L'impact de l'antibioprophylaxie préopératoire semble dépendre du type d'intervention : elle est associée à un risque d'ISO plus faible en cas d'AMO sans repose de matériel, mais ce résultat n'est pas significatif ; elle est associée significativement à un risque accru d'ISO en cas de repose de matériel simultanée. Ces résultats sont cohérents avec les données existantes, la mise en place de matériel étant un facteur de risque connu d'ISO. Des données supplémentaires sont nécessaires pour confirmer l'intérêt de l'antibioprophylaxie en l'absence de repose de matériel.

The Christmas adverse event syndrome: An analysis of the WHO pharmacovigilance database

A Hlavaty ^{a,c}, M Roustit ^{b,c}, M Manceau ^b, C Jean Luc ^{a,c}, C Khouria ^{a,b,c}.

a. Univ. Grenoble Alpes, Pharmacovigilance Unit, Grenoble Alpes University Hospital, F-38000 Grenoble, France

b. Univ. Grenoble Alpes, Inserm CIC1406, Grenoble Alpes University Hospital, Grenoble, France.

c. Univ. Grenoble Alpes, Inserm U1300, HP2, Grenoble, France.

Introduction: We hypothesized that during the Christmas season the safety profile and the toxicity of some drugs may be exacerbated. We therefore assessed and characterized changes in drug safety profiles over the Christmas period.

Méthodes: We performed a retrospective longitudinal analysis of adverse events reported in the World Health Organization (WHO) pharmacovigilance database between April 1st 2017 to March 31st 2023. We extracted cases reported by the 5 main contributors' countries of the WHO pharmacovigilance database with a Christmas tradition: USA, France, Germany, Italy and UK. We analyzed 4,999,459 individual case safety reports from USA (n = 3,498,961), France (n = 419,018), Germany (n = 398,763), Italy (n = 251,641) and UK (n = 431,076), reported between April 1st 2017 to March 31st 2023. Main outcome measures: Monthly reports of adverse events were analyzed. Time trend, seasonal effect a Christmas effect (December—January) were explored.

Résultats: We found 91 adverse events significantly more frequently reported during the Christmas period, independently after controlling for winter effect and general tendency. The main type of adverse events were psychiatric disorders, infections and skin and subcutaneous disorders. The highest numbers of attributable cases to Christmas were found for drug dependence, emotional distress, and drug withdrawal syndrome. The most involved drugs were oxycodone in psychiatric disorders (n = 47,527), docetaxel in skin disorders (n = 9440) and social circumstances (n = 1940), olmesartan in gastrointestinal disorders (n = 1263), fentanyl in cardiac disorders (n = 929), adalimumab in infections (n = 11,316) and immune system disorders (n = 3781), and collagenase clostridium histolyticum in reproductive system disorders (n = 318).

Conclusion/Discussion: Our study shows that a range of drugs adverse events are more frequently reported at Christmas compared to other periods of the year, notably psychiatric disorders, infections, and skin disorders.

Impact de la prise en charge immunosuppressive sur le recours aux soins chez les patients transplantés d'organes solides.

Léa LIAIGRE¹, Pierrick BEDOUCH^{1,2}, Sébastien CHANOINE^{1,2}

¹ CHU Grenoble Alpes, Pôle Pharmacie, F-38000 Grenoble, France

² CNRS, TIMC UMR5525, MESP, Université Grenoble Alpes, F-38041 Grenoble, France

Introduction : La transplantation d'organe solide (TOS) est la dernière option thérapeutique pour certaines maladies chroniques. Son succès à long terme dépend d'une gestion efficace de l'immunosuppression (IS). Un déséquilibre peut entraîner un rejet et diverses complications, ce qui a un impact sur le pronostic du patient. En 2022, la cohorte de patients TOS représentait 51 860 patients vivants en France. L'étude de grands échantillons en vie réelle est désormais possible grâce au développement des entrepôts de données de santé (EDS). En intégrant un grand nombre de données relatives aux soins de santé provenant de diverses sources, les EDS fournissent une plateforme pour l'analyse des données qui peut soutenir la prise de décision éclairée dans les organismes de soins de santé. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'impact des différents types de prise en charge immunosuppressive sur le recours aux soins des patients TOS.

Méthode : Une étude épidémiologique rétrospective a été menée sur les patients TOS du CHU Grenoble Alpes (CHUGA) entre le 01/01/2015 et le 31/12/2022 grâce à l'EDS PREDIMED. Les groupes de patients ont été définis en fonction du nombre de médicaments immunosuppresseurs (IS) pris. Afin de prendre en compte les facteurs de confusion potentiels entre les 3 groupes, un score de propension (PS) généralisé a été utilisé. Les données manquantes ont été gérées par imputation multiple. Le critère de jugement principal était le délai avant la première hospitalisation non programmée (HNP) lors du suivi post-transplantation à trois ans, calculé grâce à un modèle de Cox exprimé sous la forme d'un rapport de risque (HR) et de son intervalle de confiance à 95 % (95%CI). L'impact des différentes prises en charge immunosuppressive selon le type de recours aux soins (infection, rejet, insuffisance rénale aigue) ainsi que la récurrence des recours ont été calculés grâce à un modèle de Fine & Gray et de Prentice, William et Peterson respectivement.

Résultats : 1339 patients ont été inclus. Trois groupes ont été identifiés : bi (n=403), tri (n=770) et quadrithérapie (n=166) immunosuppressive. Le recours à la quadrithérapie étaient associée à une réduction du délai avant la première hospitalisation non programmée (HR, 2,69 ; 95% CI, 1,77-4,1 ; p <0,001, temps = 925j vs. trithérapie HR, 1,4 ; 95% CI, 0,99-1,97 ; p =0,05, temps = 1018j). L'augmentation du nombre d'IS était associée à un risque accru d'infection et de rejet, ainsi qu'à une récurrence accrue des événements.

Discussion-conclusion : Ces résultats soulignent l'importance d'une prise en charge immunosuppressive optimisée pour limiter le risque d'infection et de rejet à moyen terme. Cependant, l'importance clinique de la réduction du délai avant la première HNP est limitée. Le couplage de PREDIMED au Système National des Données de Santé permettra d'avoir accès aux données hors CHUGA et de confirmer ces résultats.

Intelligence artificielle et données médico-administratives massives au service de la santé mentale des agriculteurs français

Pascal Petit¹, Vincent Bonneterre^{2,3}, Nicolas Vuillerme^{1,4}

1. Univ. Grenoble Alpes, AGEIS, 38000 Grenoble, France

2. Univ. Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, TIMC (équipe EPSP), 38000 Grenoble, France

3. CHUGA, Centre Régional de Pathologies Professionnelles et Environnementales

4. Institut Universitaire de France, Paris, France

Introduction

Les avancées de l'intelligence artificielle (IA) et de l'analyse des données massives et complexes ouvrent de nouvelles perspectives en santé publique. Elles permettent d'analyser de vastes ensembles de données pour identifier, notamment, les facteurs de risque de maladies comme les troubles de santé mentale, Grande Cause Nationale 2025. En particulier, les questions de santé mentale et suicide chez les agriculteurs sont un sujet de préoccupation. Une étude que nous avons menée (*Petit et al. 2023, Lancet Reg Health Eur*) a révélé que les niveaux de risques de dépression différaient selon les activités agricoles. Pour aller plus loin, nous avons réalisé une analyse complémentaire pour identifier, parmi les données disponibles, les principaux prédicteurs de la dépression des chefs d'exploitation agricole.

Méthodes

L'algorithme de machine learning XGBoost a été utilisé pour identifier les prédicteurs de la dépression à partir des données médico-administratives de la Mutualité Sociale Agricole. Les données couvraient l'ensemble des chefs d'exploitation agricole français sur la période 2002-2016 (n=1088561 ; 31% de femmes). Les dispensations d'antidépresseurs (ATD) ont été utilisées comme proxy de la dépression traitée. Pour chaque sexe (tous sexes confondus, femme, homme) et activité agricole (n=26), un modèle spécifique a été construit, soit un total de 72 modèles. Les hyperparamètres optimaux de chaque modèle ont été déterminés par optimisation bayésienne. L'efficacité des modèles a été évaluée par validation croisée. Un total de 157 prédicteurs a été considéré. L'importance des prédicteurs a été déterminée avec la méthode d'explication additive de Shapley, une approche d'IA explicable. Lorsqu'un prédicteur orientait le modèle vers la dispensation d'ATD, il était considéré comme facteur de risque et sinon comme facteur protecteur.

Résultats

Le prédicteur le plus important était l'année travaillée (proxy de facteurs externes, hors de contrôle de l'agriculteur, comme les conditions météorologiques), surtout l'année 2016. 2016 était un facteur de risque pour 50% des activités, notamment pour le maraîchage, l'arboriculture fruitière, les cultures céréalières, la viticulture, l'élevage bovin-lait, et l'élevage de volailles et de lapins. Contextuellement, 2016 a été une année très difficile pour l'agriculture en raison de conditions météorologiques extrêmes et d'une crise financière qui ont entraîné une perte importante de la production végétale et viticole, ainsi qu'une forte baisse des prix dans la production animale, notamment pour le lait et la volaille. Les autres facteurs de risque identifiés étaient le fait d'être une femme, d'avoir des employés, d'avoir des comorbidités préexistantes et d'exercer une activité secondaire parallèlement à une activité agricole principale. L'âge et le fait d'avoir une unique ferme constituaient des facteurs protecteurs.

Conclusion/Discussion

Ce travail illustre l'intérêt de l'utilisation et du traitement des données massives par IA à des fins de santé publique. Nos résultats soulignent la nécessité d'actions ciblées et adaptées qui tiennent compte des différences de pratiques agricoles et de sexe. L'approche présentée dans ce travail pourrait être implémentée en routine pour fournir des informations en temps réel qui contribueraient à un système de surveillance et de prévention de la dépression des agriculteurs. L'approche peut également être appliquée/généralisée à d'autres populations à risque et d'autres maladies.

Posters en visite libre



**Recherche clinique
(RC08-RC12)**

Long-range PCRs et séquençage de nouvelle génération pour la détection de la résistance du Cytomégalovirus aux antiviraux.

Julien Andreani*¹, Aurélie Truffot*¹, Hugo Jardin¹, Valentin Tilloy², Matilda Lespinasse¹, Marie Usal¹, Patrice Morand¹, Sébastien Hantz², Sophie Alain², Raphaële Germe¹
*co-auteurs

1. Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Inserm, CHU Grenoble Alpes IAB, 38000 Grenoble, France

2. Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges, Limoges, France; INSERM, RESINFIT

Introduction Le Cytomégalovirus (CMV) est un virus ubiquitaire à ADN double brin de la famille des *Herpesviridae*. Sa prévalence est évaluée entre 40 et 50% en France. Les infections à CMV sont très surveillées chez les patients transplantés d'organes solides ou de cellules souches hématopoïétiques par la quantification de la charge virale qui permet une initiation précoce des antiviraux. Des échecs thérapeutiques peuvent être observés, principalement dus à un sous dosage des antiviraux ou à une mutation des protéines virales cibles des antiviraux (ADN polymérase, phosphotransférase et complexe terminase), objectivée par séquençage des gènes correspondants : UL54, UL97+/-UL27 et UL56/UL89/UL51. L'objectif de notre travail était de développer et de valider une PCR long-range pour chacun de ces gènes, combinée à une analyse de séquençage nouvelle génération (NGS) avec la technologie Oxford Nanopore. Cette technologie qui permet de mieux différencier les doubles populations et de suivre les évolutions génotypiques d'une souche n'a, à ce jour, jamais été décrite.

Méthodes Huit couples d'amorces ont permis d'amplifier 8 long fragments correspondant à l'ensemble des gènes des UL54, UL97, UL56, UL89, UL51 et UL27 qui ont ensuite été séquencés dans une même analyse de NGS. L'alignement de séquence était réalisé avec minimap2 du protocole Artic et l'appel de variants avec ClairS-TO. La performance de la technique et du pipeline bio-informatique associé a été évaluée par comparaisons aux résultats obtenus par le centre national de référence (CNR) du CMV (Limoges, France) avec une technique de séquençage classique (Sanger) à partir d'échantillons cliniques et de mélanges de bacmides.

Résultats La spécificité de cette technologie a été démontrée par l'absence d'amplification du génome d'autres *Herpesviridae* et sa sensibilité par l'amplification et le séquençage d'échantillons de charges virales allant jusqu'à 1500 UI/mL. Elle permet de détecter des mutations jusqu'à une fréquence de 2,5% (variants minoritaires) avec une couverture satisfaisante (>1000 reads). L'ensemble des résultats obtenus sur les échantillons cliniques et les mélanges de bacmides étaient cohérents avec ceux obtenus par le CNR CMV. Cette technologie présente l'avantage de déterminer si les SNPs (polymorphismes d'un seul nucléotide) détectés appartiennent à la même population virale ou à des populations virales différentes en regardant les reads qui les portent.

Conclusion/Discussion Nous avons développé une technologie associant des PCR long-range et un séquençage NGS capable de séquencer, dans une même analyse, les gènes entiers UL54, UL97, UL27, UL89, UL56, et UL51.

Le développement de ce séquençage NGS offre la possibilité de détecter précocement les mutations de faible fréquence et d'éviter le développement ultérieur de souches de CMV résistantes.

Mise au point d'une technique de séquençage du génome complet et d'analyse du polyomavirus BK (BKV)

*Hamoudi Marwan, Andréani Julien, Morand Patrice, Truffot Aurélie, Germe Raphaële
Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CEA, IRIG IBS, 38000 Grenoble, France*

Introduction

La transplantation rénale et la prise d'immunosuppresseurs exposent le patient au risque d'infection, notamment au polyomavirus BK (BKV). Le BKV est un virus nu, à ADN circulaire double-brin, appartenant à la famille des *polyomaviridae*. Son génome fait environ 5,1 kb, il code pour six protéines et comporte également une région régulatrice non codante (NCCR). Il existe quatre génotypes, basés sur la séquence de la protéine de capsid VP1. La séroprévalence est estimée à 90 % après l'âge de 10 ans. La recherche d'ADN viral montre que 30 à 50% des patients transplantés rénaux présentent une répllication urinaire du BKV. Dans 10 à 20 % des cas, l'ADN est retrouvé dans le sang (virémie), ce qui peut conduire à une néphrite tubulo-interstitielle aiguë (5 à 10% des cas) voire la perte du greffon (20 à 30% des cas). Cette répllication accrue serait associée à un remodelage génomique du NCCR. Aucun traitement n'est disponible actuellement. L'objectif de notre travail est de réaliser un séquençage complet du génome du BKV afin de décrire la prévalence du génome du BKV dans la population de transplantés rénaux du CHUGA et de comparer les génomes de BKV du donneur/du receveur. Le séquençage complet pourra également nous aider à identifier des marqueurs moléculaires ou mutations pouvant favoriser une répllication virale.

Méthodes

La technique a été mise au point sur 12 échantillons urinaires, prélevés à plusieurs mois d'intervalles chez 6 patients différents. L'ADN total (viral et cellulaire) est extrait de reliquats d'échantillons urinaires de patients du CHUGA ayant une charge virale BKV positive. Ensuite, une amplification aléatoire en cercle roulant des ADN est faite, puis le métagénome est séquencé par la technique d'*Oxford Nanopore Technologies*.

Résultats

Le logiciel *MiniMap2* est utilisé pour l'alignement des séquences de BKV sur le génome de référence (NC_001538.1). La recherche de polymorphismes et de mutations (substitutions, insertions et délétions) est réalisée par le logiciel *LoFreq*. Une moyenne de 7400 séquences du BKV a pu être obtenue (écart-type (ET) = 3000), sur 121000 séquences au total (ET = 20000), ce qui représente en moyenne 6% des séquences totales. La couverture et la profondeur sur le génome de référence sont de bonne qualité avec 100% du génome couvert et une profondeur moyenne de 1000. Les séquences consensus obtenues permettent d'identifier les génotypes. Néanmoins, les résultats de séquençage d'échantillons de charge virale inférieure à 4,0 log copies/mL sont pour le moment difficilement exploitables.

Discussion/Conclusion

Des comparaisons des génomes sont en cours afin de mettre en évidence des SNPs (*Single Nucleotide polymorphisms*) pouvant être un facteur de risque d'une répllication du virus et afin d'estimer la présence de double population virale. Les mutations et réarrangements de la région NCCR seront étudiés plus précisément, après amplification spécifique de cette zone par PCR. La technique sera prochainement adaptée à l'analyse d'échantillons sanguins et aux échantillons de charges virales plus faibles.

Le séquençage du génome BKV pourra être mené sur une large cohorte de patients transplantés rénaux du CHUGA.

Mutation du gène HENMT1 : quand un phénotype peut en cacher un autre.

Zeina Wehbe^{1†}, Anne-Laure Barbotin^{2†}, Angèle Boursier², Marie Bidart^{1,3}, Véronique Satre^{1,4}, Christophe Arnoult¹, Pierre F. Ray^{1,5}, Zine-Eddine Kherraf^{1,5}, Guillaume Martinez^{1,4‡}, Charles Coutton^{1,4‡}

¹Team Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility, Institute for Advanced Biosciences, University Grenoble Alpes, INSERM U1209, CNRS UMR 5309, 38000 Grenoble, France.

²CHU Lille, Institut de Biologie de la Reproduction-Spermiologie-CECOS, 59000 Lille, France.

³CHU Grenoble Alpes, Laboratoire de Génétique Moléculaire : Maladies Héritaires et Oncologie, 38000 Grenoble, France.

⁴CHU Grenoble Alpes, UM de Génétique Chromosomique, 38000 Grenoble, France.

⁵CHU de Grenoble, UM GI-DPI, 38000 Grenoble, France.

Les petits ARN interagissant avec PIWI (piRNA) jouent un rôle important dans la régulation des éléments transposables par un mécanisme analogue à l'interférence par ARN. Ils sont essentiels à différentes étapes du développement des cellules germinales mâles, ce qui rend leur fonction critique pour la spermatogénèse. Les altérations de la voie piRNA entraînent irrémédiablement de défauts sévères de la spermatogénèse et peuvent être ainsi responsables d'infertilité masculine. Nous avons précédemment rapporté deux patients infertiles présentant une azoospermie en lien avec des mutations du gène *HENMT1*. *HENMT1* est responsable de la stabilisation des piRNA en ajoutant un groupe 2'-O-méthyl à leur extrémité 3'. Cette modification permet aux piRNA méthylés d'être chargés sur les protéines PIWI pour reconnaître leurs cibles, initiant ainsi une série d'événements conduisant à l'inactivation des transposons.

Dans ce travail, nous rapportons une nouvelle mutation du gène *HENMT1* qui entraîne la perte complète de la protéine. De façon surprenante, des spermatozoïdes ont pu être retrouvés dans l'éjaculat du patient avec un spectre phénotypique allant de l'oligoasthénozoospermie, la nécrospermie à la globozoospermie. Malgré plusieurs tentatives par injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI), aucune naissance n'a pu être obtenue en lien avec une absence totale de développement embryonnaire après l'implantation. Une mobilité et une morphologie altérées des spermatozoïdes ont respectivement été observées par CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) et microscopie électronique. Nos investigations par plusieurs techniques d'immunofluorescence et de coloration ont également révélées des défauts majeurs de compaction de l'ADN nucléaire, une absence de transition des histones vers les protamines et des anomalies d'apposition des marques épigénétiques.

Au final, nos résultats confirment le rôle crucial de *HENMT1* dans la voie piRNA et son rôle critique sur la bonne conformation de la chromatine dans les cellules germinales masculines. Surtout, nous avons pu mettre en évidence un continuum phénotypique allant de l'azoospermie à la tératozoospermie en lien avec les mutations *HENMT1*. Cependant, la présence de spermatozoïdes n'est pas suffisante pour entrevoir des chances de grossesses par ICSI en raison des défauts majeurs de l'ADN nucléaire.

Arterial cord pH coupled with its own eucapnic pH improves neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy prediction

RACINET C, GAUCI PA, OUELLET P, HOFFMANN P

RHEOP Grenoble, France et Université de la Côte d'Azur, Nice, France

Introduction: The classical use of "pH<7.00 and/or a base deficiency ≥ 12 mmol/L" as markers of the risk of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE), recalling various criticisms of using these markers in favor of neonatal eucapnic pH, which seems to be a better biological marker of this risk but needs more robust results. The purpose of our study is to compare the cord pH with its variants utilizing new methodologic approaches in order to select a biological method for defining at best neonatal metabolic acidosis and hence best predicting HIE.

Methods: Fifty-five cases of acidemia with pH<7.00 were collected from a cohort of the Nice University Hospital with eight cases of HIE. We compared the receiver operating characteristics curves (ROC) established from the positive likelihood ratio (+LR) for each case of: umbilical cord artery pH (pHa), neonatal eucapnic pH (pH euc-n) in isolation (not matched to pHa), and matched pHa to its own pH euc-n.

Results: The areas under the ROC (AUC) are identical for pHa and pH euc-n, but the matched pair pHa-pH euc-n appear superior but non-significant because of the small number of HIE in our cohort. However, using the partial AUC for a sensitivity greater than 75% , then the bootstrap method, indicates the significant superiority ($p<0.01$) of the matched pair approach.

Conclusion: The originality of this study lies in the use of two methodologic approaches: (1) standardized partial analysis of the AUCs of the pHa curve and that of pHa matched to its own pH euc-n, and (2) bootstrap statistical technique, that allowed us to conclude that the combined use of pH measured at the cord coupled with its eucapnic correction is better ($p<0.01$) for diagnosis of metabolic acidosis and best predicting the risk of HIE then that of eventual subsequent cerebral palsy.

Caractérisation du phénotype vasculaire rétinien chez des patients atteints de sclérodémie systémique : étude cas-contrôle (SCLEROPH)

Louis Chadeyras, Nicolas Pradier, Michel Paques, Stephen Hogg, Sébastien Martin, Mathilde Hacquard, Bernard Imbert, Christophe Seinturier, Tom McGillivray, Emanuele Trucco, Sébastien Bailly, Sophie Blaise, Christophe Chiquet
Laboratoire : INSERM & CIC des Quinze-Vingts

Objectifs - Caractériser les paramètres morphologiques des vaisseaux rétiens chez les patients atteints de sclérodémie systémique (SSc) en utilisant l'imagerie multimodale par OCT-Angiographie (OCT-A), l'analyse du phénotype vasculaire à l'aide du logiciel VAMPIRE et l'imagerie ultrastructurelle en optique adaptative.

Méthodes - Cette étude cas-témoins a inclus 57 patients (114 yeux) atteints de sclérodémie systémique et 50 sujets contrôles. Tous les patients atteints de sclérodémie ont bénéficié d'une capillaroscopie du pli de l'ongle (grossissement x80, Perimed, Järfälla, Suède) et d'un suivi dans le service de médecine vasculaire. Les caractéristiques vasculaires rétiennes ont été analysées à l'aide d'une combinaison de 3 techniques d'imagerie : images du fond d'œil en couleur (45 degrés, CR-2 Canon, Canon™, Europa, Amstelveen, Pays-Bas) analysées par le logiciel VAMPIRE (*Vessel Assessment and Measurement Platform for Images of the REtina*), OCT-A, et images du fond d'œil obtenues à l'aide d'une caméra à optique adaptative (AO, caméra rtx1, Imagine Eyes®). Chaque patient atteint de SSc a été apparié à un sujet contrôle pour l'âge, la réfraction objective et la présence d'une hypertension artérielle systémique.

Résultats - 50 patients atteints de SSc (100 yeux) ont été appariés à 50 patients témoins (50 yeux). Le groupe SSc se distinguait significativement du groupe témoin par un score d'Oxford plus élevé et un Break-Up-Time plus court. L'analyse VAMPIRE a mis en évidence une augmentation du *Central Retinal Artery Equivalent* (CRAE, $p=0,01$) et du *Central Retinal Vein Equivalent* (CRVE, $p=0,02$). La tortuosité artérielle était significativement plus élevée ($p=0,02$) tandis que la dimension fractale totale (FDt) et la Dimension Fractale artériolaire (FDa) étaient plus faibles ($p=0,01$) chez les patients sclérodermiques. Le Wall to Lumen Ratio (WLR) était significativement plus bas dans le groupe SSc que dans le groupe témoin ($p=0,01$). Les deux groupes étaient similaires en ce qui concerne le Wall Cross-Sectional Artery (WCSA). L'analyse OCT-A et l'analyse qualitative de la macula n'ont retrouvé aucune anomalie significative.

Conclusion - Les anomalies vasculaires rétiennes chez les patients sclérodermiques sont infracliniques : augmentation du diamètre des vaisseaux rétiens et modifications de l'architecture des vaisseaux rétiens (augmentation de la tortuosité artérielle, diminution de la dimension fractale et du WLR). Leur signification à long terme est inconnue. Des études longitudinales sont requises pour évaluer le rôle potentiel de ces biomarqueurs rétiens dans le suivi de la maladie.

Posters en visite libre



**Recherche
fondamentale
(RF07-RF08)**

Post Stroke Sleep Apnea: Effect of Intermittent Hypoxia on Cerebrovascular Recovery

EL AMINE Bayan^{1,2}, LEMASSON Benjamin², FAUVELLE Florence², COLLOMB Nora², ROME Claire^{2*}, BRIANCON-MARJOLLET Anne^{1*}

¹ Univ. Grenoble Alpes, INSERM, HP2 Laboratory

² Univ. Grenoble Alpes, INSERM, Grenoble Institut of Neurosciences

* Contributed equally to this work

Introduction Ischemic stroke is the sudden death of brain cells due to lack of oxygen caused by blockage of blood flow. Stroke affects 15 million people/year worldwide and is associated with accelerated decline in cognitive function. The cerebrovascular recovery process is long and can be complicated by certain comorbidities, including obstructive sleep apnea syndrome (OSAS). This syndrome affects nearly 50% of post-stroke patients. We conducted a preclinical study in rats to decipher the pathophysiological mechanisms of the stroke-SAS interaction.

Methods Rats were submitted to an experimental stroke model with malonate injection (2ul,3M) followed by exposure to 4, 7, 14, 28 and 56 days to either Intermittent hypoxia (MH group) or normoxia (MN group). We characterized brain lesion size) and microvascular plasticity (vascular permeability, blood volume fraction, vessel size index, vascular density) using in vivo microvascular 4.7T-MRI. PBS was injected in sham groups exposed to intermittent hypoxia or Normoxia (SH and SN). BVF and VSI imaging was performed using a steady-state approach with a multi gradient-echo spin-echo sequence before and 2 min after intravenous (IV) injection of ultra-small superparamagnetic iron particles. Vascular density (per mm²) was derived from the ratio $[\Delta R_2 / (\Delta R_2^*)^{2/3}]$. Blood brain barrier leakage was assessed using T₁W images before and after IV injection of Gd-DOTA. We also assessed apparent coefficient of diffusion, (ADC) which measure the intercellular movement of water and reflects both necrosis and edema. For metabolomics analysis, plasma was collected 3 days before the malonate injection, then at D04, D14, D28, and D56 after stroke, analyzed by untargeted nuclear magnetic resonance spectroscopy.

Results We exposed a total of 90 rats (45 normoxic and 45 hypoxic) to various durations of intermittent hypoxia after stroke. First, we verified that malonate induced a lesion that underwent rapid diminution during the initial two weeks of the recovery period. As expected, malonate also induced necrosis, decreased oxygenation and increased BBB permeability within the lesion. Second, intermittent hypoxia exhibited no significant alteration in the downsizing of the lesion following stroke. It also did not change necrosis or tissue oxygenation. MRI images showed that IH increased BBB permeability in the MH group compared to MN group at D04 (p=0.0009) but not at other time points. Finally, the vessel size index and the blood volume fraction were significantly higher in MH group than MN group at D04 and D28 (p= 0.02 and p=0.05 respectively). Third, non-targeted metabolomics on plasma samples showed that IH decreased the level of alanine and betaine at D04 and increased the level of B-hydroxybuturate at D28.

Conclusion Thus, our results suggest that IH moderately affects brain vasculature and plasma metabolomics -especially metabolites involved in energy production- after 4 to 28 days of IH, in a time-dependent manner.

To further characterize IH impact on the post-stroke brain, we are now performing immunohistology and qPCR on brain sections, as well as metabolomics on brain samples.

Création de lignées modèles par MitoTALEN pour l'étude du rôle des altérations du génome mitochondrial dans le pronostic des LAM

N. Zinniger¹, B. Lac¹, F. Boussouar¹, S. Barral¹, C. Oddou¹, S. Berthier², C. Chabert¹, C. Lo Presti^{1,2}, S. Khochbin¹, P. Mossuz^{1,2}, J. Mondet^{1,2}

¹UGA, Inserm U1209, CNRS 5309, IAB, La Tronche.

²IBP, CHU Grenoble Alpes, La Tronche.

Introduction : Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) se caractérisent par une prolifération maligne incontrôlée de progéniteurs myéloïdes immatures bloqués à un stade précoce de différenciation. La classification pronostique de l'European LeukemiaNet (ELN2022) est réalisée au diagnostic de LAM et permet d'adapter la stratégie thérapeutique. Malgré les avancées thérapeutiques, le pronostic des LAM reste défavorable du fait de la persistance de cellules leucémiques résistantes au traitement induisant la rechute. De nombreuses études ont montré le rôle des modifications fonctionnelles des mitochondries dans l'adaptation des cellules tumorales au stress métabolique et à la chimiothérapie. De plus, nous avons récemment montré le rôle pronostique, indépendant et complémentaire de l'ELN2022, des mutations du génome mitochondrial et nous avons d'ores et déjà développé un score pronostique (MitoLEUK) basé uniquement sur la présence/absence d'anomalies du génome mitochondrial (ADNmt). Cependant, aucun modèle cellulaire spécifique n'existe à ce jour pour l'étude de l'impact pronostique et fonctionnel de ces altérations du génome mitochondrial dans les LAM.

Objectif : Développer un modèle cellulaire pour l'étude de l'impact fonctionnel et pronostique des variants mitochondriaux dans les LAM.

Matériel et méthode : Création de lignées modèles réalisée par méthode de génie génétique MitoTALEN sur lignées cellulaires de LAM. La construction TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease) cible une séquence spécifique de l'ADNmt à modifier, tandis qu'une séquence MTS (Mitochondrial Targeting Sequence) permet d'orienter le complexe protéique dans la mitochondrie. La mutation cible est obtenue suite à un mécanisme de réparation de type homologue (présentation d'un brin donneur) induite par la coupure TALEN.

Résultats : La technologie comprend une séquence de reconnaissance de l'ADN composée d'une succession de modules spécifiques à chaque base nucléotidique et construite avec le kit : Platinum Gate TALEN kit (Addgene). La séquence MTS COX8A ajoutée par technologie Gibson® permet de cibler la mitochondrie ; celle-ci est fusionnée à mScarlet et mTurquoise2 sur les brins sens et anti-sens de l'ADNmt respectivement. L'exclusion nucléaire, la localisation mitochondriale ainsi que la co-localisation des constructions sens et anti-sens ont été validées par microscopie à fluorescence. Une étude de la reprogrammation métabolique sur lignées modèles MitoTALEN générées est en cours par : oxygraphie (consommation d'oxygène des différents complexes), SCENITH™ (détermination des dépendances métaboliques) et RMN (étude métabolomique), ceci en absence puis présence de chimiothérapie.

Conclusion : Nous avons développé une technique originale d'édition génétique de la mitochondrie afin d'obtenir des lignées cellulaires modèles en vue d'élucider le rôle des anomalies du génome mitochondrial dans les phénomènes de reprogrammation métabolique impliqués dans la chimiorésistance des LAM.

Posters en visite libre



Recherche translationnelle (RT07-RT12)

Caractérisation de la valeur informationnelle de PROK1 comme nouveau biomarqueur de la prématurité dans un contexte infectieux

Morgane DESSEUX, Margaux Digonnet, Pascale Hoffmann, Didier Riethmuller, Nicolas Lemaitre, Mohamed Benharouga, Tiphaine BARJAT, Nadia ALFAIDY
Laboratoire Biosanté, UMR 1292
CEA de Grenoble, 17 rue des Martyrs, F-38054, Grenoble cedex 9, France

Introduction

Avec 15 millions d'enfants touchés dans le monde chaque année, la prématurité (PTB) concerne tous les accouchements survenant avant 37 semaines d'aménorrhée (SA). Dans 40% des cas, ces accouchements sont associés à des infections bactériennes qui engendrent des troubles du développement chez les enfants. Il n'existe à ce jour aucun biomarqueur précoce permettant de prédire la PTB, ni de traitement susceptible de la retarder. Dans le cadre de la recherche d'un nouveau biomarqueur, notre équipe a analysé une cohorte de sang de patientes (cohorte ANGIOPRED) qui ont été prélevées pendant leur grossesse (n=204, 4 prélèvements à 20, 24, 32 et 36 SA). Cette étude a démontré que les niveaux circulants de la prokinéticine 1 (PROK1) étaient significativement augmentés dès 24 SA chez les femmes allant accoucher prématurément, suggérant que cette protéine pourrait constituer un nouveau biomarqueur pertinent pour identifier les femmes à risque de PTB. PROK1 appartient à la famille des prokinéticines et est largement impliquée dans différents processus inflammatoires et angiogéniques. Cette famille comprend deux ligands PROK1 et PROK2 qui se fixent avec des affinités similaires sur leurs récepteurs PROKR1 et PROKR2.

Méthodes

Les niveaux de PROK1 sont mesurés par ELISA dans de nouvelles cohortes (sang, tissu, liquide amniotique) pour confirmer l'augmentation observée dans la cohorte ANGIOPRED. En parallèle, l'infection observée dans la PTB est mimée *in vitro* par un traitement au LPS (lipopolysaccharides), composant de la paroi externe des bactéries à Gram négatif. Les effets du LPS sont évalués en absence ou en présence de modulateurs de l'action de PROK1 (protéine recombinante, antagonistes de ses récepteurs). Ces expériences sont réalisées dans 2 modèles : la culture 2D de lignées cellulaires, ainsi que la culture organotypique 3D d'explant de placentas (PL) et de membranes fœtales (MF) collectés au CHU Grenoble Alpes (NCT05188066).

Résultats

L'analyse d'une cohorte de liquide amniotique, obtenue dans le cadre d'une collaboration avec le Pr R.Romero (Detroit Medical Center-USA), nous a permis de démontrer que les niveaux de PROK1 étaient significativement augmentés chez les patientes PTB. Le traitement au LPS de la lignée HTR du placenta, et d'explant de PL et de MF, a montré une dérégulation importante des facteurs inflammatoires IL-6, IL-1 β et TNF- α . Le traitement au LPS a causé une augmentation de l'expression de PROK1 et une diminution de celle de ces récepteurs, PROKR1 et PROKR2.

Conclusion/Discussion

Nos premiers résultats confortent l'hypothèse selon laquelle, PROK1 est un nouveau biomarqueur de la prématurité. La validation de sa valeur pronostique est en cours dans des cohortes plus larges.

Nos résultats *in vitro* valident la mise en place du modèle d'infection au LPS dans une lignée cellulaire et dans les explants de PL et MF. Ils valident la mise en place d'une réponse inflammatoire médiée par le LPS et démontrent que ce traitement régule l'expression de PROK1 et de ses récepteurs. Le mécanisme sous-jacent est en cours de caractérisation afin de démontrer si la dérégulation de PROK1 est la cause ou la conséquence de la PTB.

Development of a sdAb based radiotracer targeting murine Tissue Factor for atherothrombosis imaging

Laurent S Dumas¹, Charlotte Lombardi¹, Timo W. M. De Groof², Florian Raes¹, Mitra Ahmadi¹, Seyve Landry³, Sandrine Bacot¹, Clemence André¹, Marlène Debiossat¹, Raphael Marlu³, Jean Luc Lenormand⁴, Sophie Hernot², Daniel Fagret³, Nick Devoogdt², Catherine Ghezzi¹, Alexis Broisat¹

¹ Université Grenoble Alpes, INSERM U1039, LRB, Grenoble, France

² Vrije Universiteit Brussel, Department of Medical imaging, Brussel, Belgium

³ Université Grenoble Alpes, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

⁴ Université Grenoble Alpes, CNRS U5525, TIMC-Tree, Grenoble, France

Introduction:

Thrombus formation occurring in atherosclerotic plaques are responsible for plaque complication and acute events such as myocardial infarction. Pro-thrombotic factors expressed within the lesions therefore constitute relevant biomarkers for the imaging of prone-to-thrombus lesions. Tissue factor (TF), the most potent trigger of the coagulation cascade, plays a major role in atherothrombosis. Our objective was to generate and characterized single-domain antibody (sdAb) based radiotracers targeting murine TF (mTF) for the noninvasive imaging of atherosclerosis in mice.

Methods:

Seven sdAbs were produced and SPR was performed to assess their affinity. Then, following radiolabeling with ^{99m}Tc, rapid *in vivo* screening was performed using mice bearing mTF positive B16F10 tumors (n=36). The 3 most potent candidates allowing the *in vivo* SPECT imaging of mTF were further evaluated in ApoE^{-/-} mice fed a high fat diet for 20 weeks (n=21). An irrelevant sbAb (R3b23) and a previously validated sdAb directed against the inflammatory marker VCAM-1 (cAbVCAM1-5) were employed as negative and positive controls, respectively. *In vivo* competition study was performed to validate the specificity. TF expression was determined in various organs by ELISA. Autoradiography (ARG) was performed on 20µm frozen slices of the aorta to investigate the tissular distribution.

Results:

All 7 sdAbs showed excellent affinities for their target, with a KD ranging from 0.02 to 82.4 nM. TF-positive tumors were successfully visualized by SPECT/CT imaging. More specifically, the sdAb ^{99m}Tc-66A12 demonstrated the highest uptake in tumor (3.3±0.2%ID/g) and target-to-blood ratio (10.7±2.8). Specific uptakes were also observed in most investigated organs. The biodistribution of the 3 leads compound on ApoE^{-/-} mice was in accordance with the expression profile of TF. ARG quantification revealed that, in the aortic sinus where atherosclerosis develops, no significant difference in uptake was observed between the anti mTF and the irrelevant sdab (1.1±0.1%ID/g vs 0.5±0.1%ID/g for ^{99m}Tc-66A12 and ^{99m}Tc-R3B23, respectively), while ^{99m}Tc-cAbVCAM1-5 uptake was significantly higher (2.5±0.3 %ID/g, P>0.01). Surprisingly, higher uptake was observed in the abdominal aorta that is devoid of atherosclerotic lesions. Consequently, atherosclerotic lesions were not detectable *in vivo* by SPECT.

Conclusions:

sdAb-based radiotracers targeting tissue factor were successfully developed. *In vivo*, they specifically bound to mTF-positive tumors and mTF-positive organs, that were therefore readily visible by SPECT imaging. However, in the ApoE^{-/-} mice model, the suboptimal uptake in lesions in comparison to normal aortic wall did not allow atherosclerosis imaging by SPECT.

Intérêt du ciblage du métabolisme énergétique lié au réseau d'acides aminés dans les leucémies aiguës myéloïdes

Caroline Lo Presti^{1,2,*}, Rasha Faraj², Julie Mondet^{2,3}, Sylvie Berthier⁴, Chantal Thibert², Lysiane Boulet⁵, Christelle Corne⁵, Pascal Mossuz^{1,2}

¹ Laboratoire d'hématologie, CHU Grenoble Alpes

² UGA, Inserm U1209, CNRS 5309, Institut pour l'Avancée des Biosciences

³ Laboratoire de pathologie moléculaire des cancers, CHU Grenoble Alpes

⁴ Plateforme de cytométrie, CHU Grenoble Alpes

⁵ Laboratoire de biochimie hormonale et nutritionnelle, CHU Grenoble Alpes

Introduction

La reprogrammation métabolique est une caractéristique importante dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM), mais est également cliniquement pertinente pour le diagnostic, la stratification des risques et le développement de thérapies ciblées. Ce remaniement métabolique permet l'adaptation des activités métaboliques des cellules leucémiques pour répondre aux besoins anabolisants plus élevés, en adaptant leur taux d'acides aminés et en maintenant leur prolifération, leur expansion et leur survie.

Méthodes

Cette étude visait à décrypter le rôle joué par les réseaux d'acides aminés en relation avec le métabolisme énergétique, et en particulier les relations entre glutamine/glutamate et alanine, grâce à l'utilisation de médicaments spécifiques ciblant leur biosynthèse dans des lignées cellulaires modèles de LAM.

Résultats

Dans ce contexte, nous avons montré que les lignées cellulaires utilisaient à la fois de la glutamine extracellulaire et de la glutamine synthétisée de novo pour répondre à leurs besoins énergétiques, de manière compensatoire lors de l'épuisement d'une des deux sources de glutamine. Ensuite, nous avons montré que les différentes lignées cellulaires n'avaient pas la même sensibilité à l'inhibition de la synthèse d'alanine, entraînant une variation importante de la viabilité cellulaire. Nous avons également observé qu'en cas de privation d'alanine, les différents types de lignées reprogrammaient leur métabolisme de manière similaire, leur permettant d'augmenter leur pool d'acides aminés essentiels et de survivre. Enfin, nous avons montré une augmentation significative de l'aspartate aminotransférase dans les plasmas de moelle osseuse de patients atteints de LAM présentant un pronostic défavorable.

Conclusion

En conclusion, ce travail confirme que l'étude des dérégulations métaboliques et du métabolome reste essentielle, puisque chaque LAM possède sa propre signature métabolique.

L'inflammation médiée par le facteur PROK1 déstabilise la barrière endothéliale pulmonaire

Camille Lyko¹, Mélanie Boudaud¹, Martial Delion¹, Joelle Moustafa¹, Sarah Fodili¹, Kevin Gémy¹, Nadia Alfaidy¹, Mohamed Benharouga¹

¹UMR 1292 INSERM/CEA/UGA, Team Mechanism of Angiogenesis in Biological Barriers (MAB2) Biology and Biotechnology for Health Laboratory (IRIG)

Introduction

La mucoviscidose (MV) est une maladie génétique autosomale et récessive. Le gène responsable de la MV code pour la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator). C'est une glycoprotéine transmembranaire canal chlorure (Cl⁻). Elle est exprimée au niveau de la membrane apicale des cellules épithéliales. Au niveau pulmonaire, l'absence de l'activité du CFTR cause l'épaississement du mucus qui participe à l'obstruction des voies respiratoires. Ceci favorise l'installation d'une infection microbienne, d'une inflammation chronique et la destruction progressive du tissu pulmonaire. Chez les patients mucoviscidosiques, l'infiltration des poumons par les neutrophiles (PN) et leur rôle dans l'exacerbation de la réponse inflammatoire sont bien documentés. Cependant, les mécanismes moléculaires restent inconnus. L'infiltration des PN utilise principalement la voie de transmigration à travers les barrières endothéliales et épithéliales dont l'étanchéité est altérée dans la MV. Cela suggère que les facteurs pro-inflammatoires et pro-angiogéniques libérés par les cellules épithéliales mucoviscidosiques participeraient de manières autocrines et paracrines, via l'activation de leurs récepteurs, au processus d'infiltration par les PN. Nous avons récemment démontré que la protéine circulante PROK1 (prokinétine-1), un facteur pro-angiogénique et pro-inflammatoire, est impliquée dans la mucoviscidose. PROK1, aussi appelé EG-VEGF (Endocrine Gland-derived Vascular Endothelial Growth Factor), se lie à deux récepteurs couplés à la protéine G (RCPG) ; PROKR1 et PROKR2. Ces liaisons vont activer, en fonction du contexte cellulaire, les voies AMPc et/ou calcium qui sont responsables des manifestations physiopathologiques du PROK1. Cependant, peu de données sont disponibles concernant l'implication de PROK1, d'origine épithéliale, dans la réponse inflammatoire et la perte de l'étanchéité de la barrière endothéliale pulmonaire.

La première partie de notre projet est de caractériser la lignée cellulaire endothéliale d'origine pulmonaire humaine, de déterminer son profil inflammatoire, et de démontrer l'implication de la protéine CFTR dans ces processus, en lien avec le ligand PROK1 et ses récepteurs PROKR1/PROKR2.

Méthodes

Nous avons utilisé la lignée cellulaire HPMEC-ST1.6R (**H**uman **P**ulmonary **M**icrovascular **E**ndothelial **C**ells) gracieusement cédée par le Pr. Kirkpatrick (Université Johannes-Gutenberg, Mainz, Allemagne). Cette lignée a été utilisée pour mesurer la résistance trans-endothéliale (RTEE), la perméabilité, la réponse inflammatoire (IL1 β , IL6, IL8, TNF- α et IFN- γ) et la sécrétion de PROK1 par test ELISA, et de déterminer l'expression transcriptionnelle (PCR quantitative) et post-transcriptionnelle (western blot et immunofluorescence) du CFTR, des récepteurs PROKR1, PROKR2, et des protéines des jonctions endothéliales.

Résultats

Nos résultats ont montré que les cellules HPMEC expriment l'ensemble des protéines caractéristiques des cellules endothéliales. Ces cellules sont capables de développer la RTEE dont le plateau est atteint après 11 jours de culture. Nous avons aussi démontré que les cellules HPMEC expriment les protéines cibles ; PROKR1, PROKR2, CFTR et PROK1, dont l'expression est dépendante du degré de polarisation. Ce dernier paramètre influence la réponse inflammatoire et le niveau de sécrétion de PROK1.

Le traitement par LPS ou un cocktail pro-inflammatoire augmente la production et la sécrétion de PROK1 qui est dépendante de la polarisation des HPMEC. De façon intéressante, nous avons démontré que PROK1 induit la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires qui sont capables d'induire la diminution drastique de la RTEE.

Conclusion/Discussion

Nos résultats suggèrent que PROK1 induit la réponse pro-inflammatoire des cellules endothéliales. Cette inflammation pourrait participer à la déstabilisation des jonctions, causant ainsi l'augmentation de l'influx des PN vers l'épithélium pulmonaire endommagé. Les mécanismes moléculaires restent à élucider.

SPHINX31, a SRPK1 inhibitor, regulates the ATR/DNA-PKcs/CHK1 replicative checkpoint to inhibit cell growth in NSCLC cells

Amani Shreim¹, Hélène Polvèche², Didier Auboeuf², Sylvie Gazzeri¹, Beatrice Eymin¹

1. Institut Pour l'Avancée des Biosciences, INSERM U1209, CNRS UMR5309, Université Grenoble Alpes, Site Santé, Allée des Alpes, 38700 La Tronche, France

2. Laboratoire de Biologie et de Modélisation de la Cellule (LBMC), Ecole Normale Supérieure, CNRS UMR5239, INSERM U1293, 46 Allée d'Italie, Lyon, France

Introduction Lung cancer, including the Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC) histological subtype, is a leading cause of cancer-related death worldwide. Acquisition of resistance to therapies such as platinum salts, the gold standard chemotherapy in NSCLC, is one of the major trick supporting patients' poor prognosis. Deregulation of splicing patterns as well as of some splicing factors and/or their regulators participate in the process of carcinogenesis and lung tumor progression. However, less is known regarding the contribution of RNA splicing defects to lung tumor escape from therapies. Recently, pharmacological inhibitors targeting different components/regulators of the spliceosome machinery have emerged as potential anti-cancer drugs, such as SPHINX31 that inhibits SRPK1, a kinase implicated in splicing regulation through the phosphorylation of various serine/arginine (SR)-rich proteins.

Methods In order to investigate whether RNA splicing defects contribute to acquired resistance to platinum salts in NSCLC, we generated cellular models of resistance derived from NSCLC cell line by sub-culturing these cells with increasing concentrations of cisplatin during 4-6 months in order to obtain resistant cells. We treated both the parental and resistant cells with SPHINX31 in order to investigate the role of SRPK1 in cell cycle regulation, cell proliferation and apoptosis. For the molecular analysis, western blot and co-immunoprecipitation assays were used to study the effect of SPHINX31 on the expression/interaction of some ATR signaling pathway components. Then, RNA-seq analysis was performed to predict the potential signaling pathway by which SRPK1 inhibition induces cell death and further validated the main splicing events by RT-PCR.

Results In this study, we demonstrated that SPHINX31 inhibits ATR signaling, the main pathway involved in the management of replicative stress, notably in NSCLC cells with acquired resistance to platinum salts. This leads to cell growth inhibition and enhanced genomic instability. At the molecular level, we demonstrated that SRPK1 is recruited at stalled replication forks upon replicative stress, co-immunoprecipitates with the ATR/ATRIP/TOPBP1 complex and is required for TOPBP1/ATRIP recruitment to chromatin and TOPBP1 nuclear foci formation which contribute to ATR full activation. We further provided evidence that SPHINX31 and SRPK1 regulate the splicing of WIZ, in favor of splice variants involved in ATR activation, thereby identifying both splicing-dependent and -independent functions of SRPK1 by which it controls ATR signaling pathway. Last, we showed that the inhibitory effects of SPHINX31 on ATR are counterbalanced by the activation of DNA-PKcs and we identified a strong synergistic cytotoxic effect of the combination SPHINX31 and DNA-PKcs inhibitor in vitro. We propose that SPHINX31, alone or combined with DNA-PKcs inhibitor, could be benefit for NSCLC patients who relapse after platinum based-chemotherapy.

Conclusion In summary, our results identified a role of SRPK1 in the management of DNA replicative stress and the control of genomic stability in NSCLC cellular models with acquired resistance to platinum salts and highly suggested that the use of SRPK1 inhibitors in combination with DNA-PKcs inhibitors could counteract platinum-salts resistance in lung cancer.

Identification et caractérisation d'un nouveau variant du gène *DRC1* impliqué dans les anomalies de l'axonème dans les cils et les flagelles

Célia Tebbakh^{1,3}, Guillaume Martinez^{2,3}, Pierre F Ray^{1,3} et Zine-Eddine Kherraf^{1,3}

¹UF Génétique de l'infertilité et de Diagnostic pré-implantatoire, Institut de Biologie et Pathologie, CHU Grenoble Alpes. ²UM génétique chromosomique, Hopital Couple Enfant, CHU Grenoble Alpes. ³Équipe Génétique, Epigénétique et Thérapies de l'Infertilité, Institut pour l'Avancée des Biosciences (IAB), INSERM 1209, CNRS UMR 5309.

Les cils mobiles et les flagelles spermatiques sont des organites cellulaires étroitement apparentés et structurés autour d'un élément axial très conservé appelé axonème. Les mutations dans les gènes impliqués dans l'assemblage et/ou la fonction de l'axonème sont souvent responsable de Dyskinésie Ciliaire Primitive (DCP), un syndrome caractérisé principalement par des infections respiratoires chroniques, une sinusite récurrente et une infertilité masculine. Dans les DCP, les troubles reproductifs sont causés par une asthénozoospermie associée à des anomalies morphologiques multiples des flagelles (AMMF). Par ailleurs, ce phénotype spermatique peut se manifester seul ou avec des symptômes mineurs de DCP.

Le développement récent des techniques de séquençage à haut débit comme le séquençage exomique, ont permis de dévoiler l'implication de plus de 40 gènes dans la pathogénie du phénotype AMMF. Cependant, le rendement de diagnostic génétique dans l'AMMF reste relativement faible car plus de la moitié des cas reste classée comme idiopathique après ces explorations génétiques.

Dans cette étude, nous avons investigué par séquençage exomique une cohorte de 196 hommes infertiles présentant un phénotype AMMF classique. L'analyse bio-informatiques des données issues du séquençage nous a permis d'identifier un variant homozygote très rare dans le gène *DRC1* (NM_145038.5: c.dup109 ; p.(Q37Pfs*30)) chez 4 sujets de la cohorte (2%), tous originaires du Maghreb. Parmi ces patients, trois présentaient des antécédents d'infection respiratoire, de sinusite récurrente ou d'asthme dans l'enfance qui pourraient évoquer une DCP.

La protéine *DRC1* (dynein regulatory complex subunit 1), comme son nom l'indique, est l'une des sous-unités majeures du N-DRC (nexin-dynein regulatory complex) qui permet la cohésion des doublets de microtubules périphériques (DMT) de l'axonème et qui joue un rôle important dans la régulation de l'activité ATPase des dynéines axonémales. L'effet pathogénique du nouveau variant *DRC1* identifié ici a été évalué par des analyses d'immunofluorescence. Contrairement aux spermatozoïdes de sujets fertiles, aucun signal n'a été observé dans les spermatozoïdes de nos patients après leur incubation avec un anticorps anti-DRC. Nous avons également étudié l'ultrastructure des spermatozoïdes provenant de ces patients par microscopie électronique à transmission (MET). Cette étude a révélé la présence d'anomalies de l'agencement des microtubules au sein de l'axonème, souvent associées à l'absence du N-DRC entre les DMT. Ces anomalies spécifiques observées en MET sont en parfaite corrélation avec le génotype de nos patients confirmant ainsi l'implication du variant candidat du gène *DRC1* dans la pathogénie de l'AMMF et son rôle dans l'infertilité masculine.

Globalement, cette étude a permis de révéler une nouvelle mutation *DRC1* récurrente chez les patients AMMF d'origine nord-africaine. Cette étude a également démontré que l'exploration génétique de l'infertilité masculine pourrait révéler d'autres comorbidités comme une DCP motivant ainsi la réalisation d'une exploration clinique complète et une prise en charge thérapeutique personnalisée.

Posters en visite libre



Recherche sur données (RD07-RD12)

Risque d'apnée du sommeil et utilisation du ticagrelor : étude de cohorte depuis le système national des données de sante (SNDS)

*Barras Sarah Margot, Jambon-Barbara Clement, Revol Bruno, Khouri Charles
Centre Régional de Pharmacovigilance de Grenoble
CHU Grenoble Alpes
Pavillon E - CS 10 217
38043 GRENOBLE CEDEX 9*

Introduction

Les inhibiteurs de P2Y12 (clopidogrel, ticagrelor et prasugrel) sont recommandés comme prophylaxie secondaire de première intention après un syndrome coronarien aigu. En 2019, des cas rapportés dans la littérature et une analyse de disproportionnalité sur la base de données de pharmacovigilance de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) ont suggéré un lien possible entre le ticagrelor et l'apnée centrale du sommeil. Les mécanismes physiopathologiques supposés pour la dyspnée fréquemment associée à l'utilisation de ticagrelor pourraient expliquer ce risque potentiel d'apnée. Contrairement au ticagrelor aucun signal similaire n'a été détecté pour le clopidogrel et le prasugrel.

Malgré l'efficacité avérée du ticagrelor dans la prévention des événements cardiovasculaires, l'apnée du sommeil représente un facteur de risque supplémentaire, suscitant des inquiétudes concernant pour les patients présentant cet effet indésirable potentiel. Ces préoccupations soulignent la nécessité d'une évaluation approfondie du risque d'apnée du sommeil associé à l'utilisation des inhibiteurs de P2Y12.

Méthodes

Nous avons étudié le risque potentiel d'apnée du sommeil associé à l'exposition aux inhibiteurs de P2Y12 dans une étude de cohorte sur la base de données nationale de santé française (Système National des Données de Santé, SNDS). L'association a été investiguée en comparant trois inhibiteurs de P2Y12 (ticagrelor, prasugrel, clopidogrel) sur leur association avec l'apnée du sommeil de 03/12/2010 à 2023 (date d'autorisation de mise sur le marché du ticagrelor, P2Y12i le plus récent jusqu'aux dernières données disponibles lors de l'extraction) chez des utilisateurs incidents. Un modèle de Cox pondéré par l'inverse du score de propension de traitement (IPTW) a été utilisé pour tenir compte des facteurs de confusion identifiés.

Résultats

[Analyse statistique en cours] Nous avons identifié une population de 2 millions 877 individus nouveaux utilisateurs de P2Y12i dans le SNDS.

Conclusion/Discussion

[Analyse statistique en cours]

Evaluation de l'Index d'Holdrinet modifié comme paramètre de quantification de l'hémodilution médullaire

*Bonneville E, Clavarino G, Dumestre-Perard C, Jacob MC
Laboratoire d'immunologie, Pôle de Biologie et Pathologie, CHU Grenoble Alpes*

Introduction

La quantification des blastes dans la moelle osseuse (MO) est un paramètre clé pour le diagnostic, la classification et le pronostic des néoplasies myéloïdes. La quantification des cellules myéloïdes CD34+ (CD34M) par cytométrie en flux, en soutien de l'analyse cytomorphologique, est utile mais manque de précision, principalement en raison de l'hémodilution des échantillons de MO. L'Index d'Holdrinet (HI), publié en 1980, vise à évaluer ce paramètre, et une version modifiée de cet index est utilisée en routine pour l'analyse médicale. Cependant, cet index d'Holdrinet modifié (mHI) n'a jamais été validé jusqu'à présent. Ce travail a pour objectifs la validation du mHI comme mesure de l'hémodilution médullaire et de tester son efficacité pour aider à la quantification des populations médullaires exclusives, comme les CD34M, par cytométrie en flux.

Méthodes

Le mHI est d'abord évalué par des dilutions sériques de 3 MO de patients avec leur sang périphérique. Puis, via une cohorte monocentrique de 51 patients avec suspicion de syndrome myélodysplasique (SMD) ou suivi de leucémie aigüe, une étude détaillée du mHI est réalisée en utilisant 2 prélèvements de MO différemment hémodilués pour chaque patient (T_{CM} correspond au 1^{er} tube aspiré, et T_{FC} le 3^{ème} tube aspiré). Enfin, le pourcentage de CD34M de chaque paire de prélèvement de MO (T_{CM} et T_{FC}) est comparé pour chaque patient avant et après correction par le mHI. Des tests de Wilcoxon d'échantillons appariés ont été utilisés pour les résultats.

Résultats

L'épreuve de dilutions sériques démontre que le mHI évalue la proportion de globules blancs (GB) provenant de la MO par rapport aux GB totaux, soit la pureté médullaire en GB. Dans notre cohorte, les mHI des T_{CM} sont statistiquement supérieurs aux mHI des T_{FC} , avec des moyennes à 82,6% et 66,0% respectivement (p -value $<0,01$). Les concentrations en globules rouges (GR) entre les échantillons médullaires et sanguins sont comparables dans notre cohorte. Le mHI reflète donc principalement l'écart de GB entre la MO et le sang. Enfin, le pourcentage de CD34M entre les T_{CM} et T_{FC} est similaire avec correction par le mHI (p -value = 0,125), et statistiquement différent sans correction (p -value $<0,001$). Les résultats sont similaires en ne prenant que les patients ayant $>1\%$ de CD34M ($n=16$; $p=0.298$ avec correction par mHI ; $p<0,001$ sans correction par le mHI).

Conclusion/Discussion

Ce travail valide l'Index d'Holdrinet modifié comme mesure de la pureté médullaire des GB, soit la proportion des GB provenant de la MO dans l'échantillon. Le mHI apparaît utile pour quantifier des cellules exclusivement médullaires, comme les précurseurs myéloïdes CD34+, car il permet de rendre les pourcentages indépendants de l'hémodilution. Ainsi, dans le cas de SMD ou de suivi de leucémie aigüe, après une définition précise du phénotype des blastes, leur pourcentage corrigé par le mHI pourrait servir d'alternative au pourcentage du myélogramme.

La planification des soins futurs dans la réadaptation respiratoire du patient atteint de Bronchopneumopathie Chronique Obstructive (BPCO)

*Yaëlle Devigon et Jean-Christophe Rambert
Department of Rehabilitation - University Grenoble Alpes
Grenoble-Alpes University Hospital*

Introduction

Malgré une qualité de vie fortement dégradée dans les stades avancés de la BPCO, les patients ont rarement la possibilité d'échanger sur la question de la fin de vie et ont peu accès au soin palliatif. Face à ce constat, plusieurs organisations de santé recommandent d'intégrer la planification des soins futurs dans la réadaptation respiratoire de ces patients. Considérant, le rôle majeur du kinésithérapeute dans cette réadaptation, l'objectif de cette étude est de comprendre les pratiques professionnelles des kinésithérapeutes à propos de cette planification durant la réadaptation et les facteurs influençant ces pratiques.

Méthodes

Il s'agit d'une étude qualitative auprès de kinésithérapeutes exerçant en France et pratiquant la réadaptation respiratoire de patients BPCO. Des entretiens semi-directifs ont été réalisés, suivant d'une analyse thématique.

Résultats

Cette étude montre que les discussions relatives à la fin de vie sont très fréquentes durant la réadaptation respiratoire. Ces échanges semblent être influencés par le contexte dans lequel intervient la réadaptation, mais aussi par la manière dont la mort est appréhendée dans notre société occidentale. Néanmoins, la planification des soins futurs à proprement dite est incomplète. Cela semble être en partie dû à un manque de formation des kinésithérapeutes sur l'approche palliative, ainsi qu'une faiblesse dans la construction et la mise en œuvre d'un projet éducatif.

Discussion/Conclusion

La forte occurrence des discussions relatives à la fin de vie détonne par rapport à la littérature actuelle où la fin de vie est rarement abordée au cours de la BPCO. Ce résultat met en évidence le rôle majeur du kinésithérapeute dans la planification des soins futurs. Cependant, une meilleure formation des kinésithérapeutes sur l'approche palliative et éducative semble être essentielle. De plus, l'amélioration dans la construction et l'organisation de l'éducation thérapeutique du patient BPCO semble pertinente, particulièrement en libéral.

Drugs induced Raynaud's phenomenon and underlying mechanism: a mixed disproportionality/clustering analysis from the WHO pharmacovigilance database.

A Hlavaty^a, JL Cracowski^b, M Roustit^c, C Khouri^d.

a. Univ. Grenoble Alpes, Pharmacovigilance Unit, Grenoble Alpes University Hospital, F-38000 Grenoble, France

b. Univ. Grenoble Alpes, Inserm CIC1406, Grenoble Alpes University Hospital, Grenoble, France.

c. Univ. Grenoble Alpes, Inserm U1300, HP2, Grenoble, France.

Introduction: Raynaud's phenomenon (RP) appears following vasoconstriction of the arterial circulation at the extremities (fingers, toes, ears and nose) in response to cold or stress events (1). RP could be either primary (idiopathic) or secondary to an underlying disease (e.g., systemic scleroderma, systemic lupus erythematosus...) or iatrogenic. The aim of this study is to generate hypothesis about new drugs associated with onset or aggravation of RP and to explore their potential pathophysiological mechanisms through a mixed disproportionality/clustering analysis from the WHO pharmacovigilance database.

Méthodes: We identified Individual Case Safety Reports (ICSRs) using the MedDRA Preferred Term "Raynaud's Phenomenon" and we excluded all ICSR associated with at least one drug used in RP treatment and used the whole database as comparator. To generate signal of disproportionate reporting (SDR) we used the Bayesian neural network method, with an ICLB>0 deemed significant. We performed several sensitivity analyses to assess the robustness of the results. To explore pathophysiological mechanisms, we matched drugs with UniProt database (2) and Gene Ontology (GO) involved. Moreover, we used two methods of clustering (i.e. network clustering (3) and consensus clustering (4)) to group drugs with similar patterns.

Résultats: We identified 4,788 ICSR of RP and included 4,510 ICSR in our analysis. We found 125 significant SDR after our primary analysis with 60 SDR consistent in all sensitivity analyses. These 60 SDR include 13 beta-blockers, 9 amphetamine-like drugs, 8 drugs for migraine, 6 interferons, 5 immunosuppressives drugs and one dopaminergic agonist. Most involved targets are sodium-dependent noradrenaline transporter, prostaglandin G/H synthase 2, beta-1 and beta-2 adrenergic receptor and 5-HT1A receptor. We identified 98 GOs shared by the drugs with significant SDRs. The clustering analyses yielded inconsistent results according to the method used.

Conclusion/Discussion: This study allowed us to identify new safety signals for drugs associated with RP and potential implicated pathophysiological mechanisms.

References:

1. Roustit M, Khouri C, Blaise S, Villier C, Carpentier P, Cracowski JL. Pharmacologie du phénomène de Raynaud. *Therapies*. 2014 Mar;69(2):115–28.
2. The UniProt Consortium, Bateman A, Martin MJ, Orchard S, Magrane M, Ahmad S, et al. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Res*. 2023 Jan 6;51(D1):D523–31.
3. Fusaroli M, Raschi E, Gatti M, De Ponti F, Poluzzi E. Development of a Network-Based Signal Detection Tool: The COVID-19 Adversome in the FDA Adverse Event Reporting System. *Front Pharmacol*. 2021 Dec 8;12:740707.
4. Norén GN, Meldau EL, Chandler RE. Consensus clustering for case series identification and adverse event profiles in pharmacovigilance. *Artif Intell Med*. 2021 Dec;122:102199.

SIROCCO : Signature pronostique dans le cancer du côlon par étude des gènes à expression ectopique

A. SPINELLI (1), E. BOUROVA-FLIN (2), A.-L. VITTE (2), S. ROUSSEAU (2), S. KHOCHBIN (2), S. VALMARY-DEGANO (1-2)

(1) Department of Pathology, CHU Grenoble Alpes, F-38000, Grenoble, France

(2) Univ. Grenoble Alpes, Inserm U1209, CNRS UMR5309, F-38000, Grenoble, France

Introduction : Le cancer colique (CC) représente, en 2020, le 4^{ème} et 2^{ème} cancer en termes d'incidence et de mortalité respectivement. Le dépistage national organisé en France depuis 2015 a permis une surveillance rapprochée des patients à partir de l'âge de 50 ans et une personnalisation du dépistage en fonction de facteurs de risque, avec un impact significatif sur la mortalité. Le diagnostic anatomopathologique précise également sur pièce opératoire un grand nombre de critères histo-pronostiques, dont le pTNM et le stade UICC, permettant de guider la prise en charge thérapeutique du patient. Malgré cela, le pronostic et la prise en charge des CC en 2024, particulièrement pour les stades II et IV, reste parfois incertains. L'équipe « Régulations épigénétiques » de l'Institut pour l'Avancée des Biosciences (IAB) a démontré que les dérégulations épigénétiques dans les tumeurs aboutissent à une activation aberrante des gènes qui doivent normalement rester silencieux dans une cellule saine. En plus, l'activation ectopique de certains de ces gènes est significativement associée à un pronostic défavorable. Ainsi, ces gènes représentent une nouvelle source de biomarqueurs pronostiques. L'objectif principal de cette étude est de créer un panel de biomarqueurs pronostiques dans les CC, basé sur les activations ectopiques, pour mieux guider la prise en charge thérapeutique des patients.

Méthodes : Nous avons utilisé le pipeline de machine learning « ectopy » développé à l'IAB qui permet de découvrir des biomarqueurs pronostiques robustes à partir de données d'expression de gènes. La première étape consiste à identifier les gènes spécifiques de tissus, non exprimés dans le colon normal. Ensuite, les gènes fréquemment activés dans les tumeurs, qui ont un impact significatif et stable sur la probabilité de survie, sont sélectionnés. Enfin, ces biomarqueurs sont combinés dans un outil pronostique GEC qui permet de stratifier les patients en fonction du nombre d'activations dans le panel. Plus grand est le nombre de gènes activés de manière ectopique, plus faible est la probabilité de survie des patients.

Résultats : En appliquant la méthode « ectopy » à trois cohortes publiques de CC (effectif total n=1141), nous avons défini une signature pronostique GEC de 4 gènes : ERFE, HOXC6, LAMP5 et ULBP2. En analyses uni- et multivariée, l'activation ectopique d'au moins un de ces 4 gènes est un facteur de pronostic défavorable, tous stades confondus, ainsi que dans chaque stade de CC séparément.

Conclusion/Discussion : La signature GEC prédit le pronostic de survie dans le CC, indépendamment des autres critères pronostiques. Cet outil aidera à la prise en charge des patients, en particulier dans les stades II de pronostic incertain et les stades IV où un traitement chirurgical par chimiothérapie hyperthermique est discuté. Les perspectives de l'étude sont une analyse par RT-qPCR sur la cohorte de CC du CHUGA ainsi qu'une mise au point d'un test immunohistochimique pour une utilisation facile en routine.

From reporting to improving: how continuous quality improvement programs shape Patient Safety Culture

Christos Tsamasiotis¹, Gaëlle Fiard², Pierre Bouzat³, Patrice François¹, Bastien Boussat^{1,4}

1- Department of Clinical Epidemiology, Grenoble-Alps University Hospital, Grenoble, France; Laboratory TIMC-IMAG, UMR 5525 Joint Research Unit, National Center for Scientific Research, Faculty of Medicine, Grenoble Alps University, France.

2- Department of Urology, Grenoble Alpes University Hospital, CNRS, Grenoble INP, TIMC, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France.

3- Department of Anaesthesia and Intensive Care, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble, University Grenoble Alpes, 38000 Grenoble, France; INSERM U1216, Grenoble Institut Neurosciences, Grenoble, France.

4- O'Brien Institute for Public Health, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada. Laboratoire Coordonnées

Introduction : Continuous Quality Improvement Programs (QIPs), including Morbidity and Mortality Conferences (MMCs) and Experience Feedback Committees (EFCs), have been identified as effective strategies for enhancing patient safety culture. These programs engage healthcare professionals in the identification and analysis of adverse events to foster a culture of safety and continuous quality improvement. This study aimed to determine whether patient safety culture differed regarding care provider participation in QIPs activities.

Methods : A cross-sectional web-only survey was conducted in 2022 using the Hospital Survey on Patient Safety Culture (HSOPS) among 4,780 employees at an 1836-bed, university-affiliated hospital in France. We analyzed the difference in the 12 HSOPS dimension scores according QIPs participation.

Results : Of 4,780 eligible employees, 1,457 (30.5%) participated in the study. Among the respondents, 571 (39.2%) participated in QIPs activities. Participants engaged in QIPs reported significantly higher scores in six out of twelve HSOPS dimensions, particularly in 'Nonpunitive response to error', 'Feedback and communication about error', and 'Organizational learning' (Overall effect size = 0.14, 95% confidence interval = 0.11 to 0.17, $P < 0.001$). Notably, involvement in both MMCs and EFCs was associated with higher improvements in patient safety culture compared to non-participation or singular involvement in either program. However, certain dimensions such as 'Staffing', 'Hospital management support', and 'Hospital handoffs and transition' showed no significant association with QIP participation, highlighting broader systemic challenges.

Conclusion/Discussion : The study confirms the positive association between participation in QIPs and an enhanced culture of patient safety, emphasizing the importance of such programs in fostering an environment conducive to learning, communication, and nonpunitive responses to errors. While QIPs are effective in promoting certain aspects of patient safety culture, addressing broader systemic challenges remains crucial for comprehensive improvements in patient safety.

Hors catégorie (HC01-HC02)

Etude des contraintes physiques induites par les manutentions et transferts de bénéficiaires dans l'aide à domicile.

Guittienne, Porcher-Sala

Laboratoire-Interuniversitaire de Biologie de la Motricité (LIBM)

Université Savoie Mont Blanc, Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité (LIBM), 73376, Le Bourget du Lac, France.

Le résumé de la communication devra être rédigé **dans cet espace** (il doit tenir sur cette page et ne pas déborder sur une seconde page).

Introduction

L'aide à la personne est le secteur le plus sinistré en France avec quelque 2 millions de journées de travail perdues soit plus de 10000 équivalents temps plein. 95% des maladies professionnelles sont des TMS associées à l'adoption de comportements à risque du fait des variations environnementales auxquelles sont exposés les professionnels. Le risque physique est prédominant dans l'apparition des TMS chez les aides à domicile dû à la charge manipulée lors des transferts et mobilisation de bénéficiaires au lit, des postures adoptées et de la répétitivité de certaines tâches. L'objectif de ce travail est de caractériser la contrainte physique par des évaluations subjectives sur poste de travail, un repérage des actions induisant des amplitudes articulaires importantes et par des ateliers collectifs avec les professionnels.

Méthodes

Diffusion d'un questionnaire à l'intention des auxiliaires de vie du réseau Auxilife ayant récolté 215 réponses, observations ergonomiques avec méthode Rula simplifiée auprès de 10 salariés sur le terrain auprès desquels des entretiens sur poste et hors poste ont été réalisés. Enfin, l'organisation d'ateliers collectifs incluant 32 auxiliaires de vie portant sur l'écart entre le travail prescrit et le travail réel afin de comprendre les méthodes de réalisation actuelles, les ressources et difficultés rencontrées, puis d'imaginer collectivement les moyens de les faciliter.

Résultats

Le manque de place et l'adaptabilité à l'environnement de travail au domicile apparaissent comme les deux difficultés générales majeures exprimées par les professionnels suivis au cours des immersions. 84% des professionnels sondés expriment avoir déjà ressenti des gênes ou douleurs physiques, dont 72% au niveau du bas du dos et 40% aux épaules.

Les toilettes au lit et au lavabo sollicitent majoritairement le tronc et les épaules, engendrant des flexions sur antéro-postérieur supérieures à 30° et supérieures à 20° sur l'axe medio-latéral. Une élévation latérale ainsi qu'une antépulsion/rétropulsion de plus de 45° sont également observées au niveau des épaules et prépondérants par rapport à l'aide au repas, rangement ou tâches ménagères.

Les ateliers collectifs ont révélé un écart important entre le prescrit et le réel, exacerbée par le manque de matériel la dépendance des bénéficiaires et l'espace disponible. La réduction de la contrainte physique est largement exprimée lors de ces ateliers.

Conclusion/Discussion

La contrainte physique engendrée par les actions de manutention sont ressenties par un grand nombre de professionnels, engendrées par des amplitudes articulaires importantes réalisées dans le cadre de ces actions. Prendre soin des autres avant de se protéger peut entraîner l'adoption de comportements à risque. Les professionnels émettent le besoin de les faciliter par une réduction de la contrainte physique appelant de nouvelles innovations techniques dans le secteur. C'est en ce sens que nous envisageons de poursuivre l'étude, en objectivant la contrainte physique en laboratoire et mesurer l'effet de différentes aides techniques.

Présentation de l'UAR hTAG, au service des chercheurs en Biologie-Santé de Grenoble.

*Charlotte Montel, Emeline Mercier, Hervé Lerat et toute l'équipe de la PHTA
UAR hTAG, UGA, CNRS UAR2019, Inserm US46
Bâtiment Jean Roget, 7^e étage, Site Santé UGA.*

L'Unité d'Appui à la Recherche hTAG a été créée et mis en service en 2021. Sous tutelles de l'Université Grenoble Alpes (UGA), du CNRS et de l'Inserm, elle regroupe plusieurs animaleries du site Santé de Grenoble. Les missions de l'UAR sont les suivantes :

1. Engager et respecter une réflexion éthique grâce au partage du savoir-faire (réseau SBEA),
2. Fournir des services de haute qualité et technicité auprès des expérimentateurs travaillant principalement sur les modèles de rongeurs,
3. Harmoniser et optimiser les procédures et démarches administratives,
4. Proposer et mettre en place des stratégies d'évolution des services et structures

La PHTA, (Plateforme de Haute Technologie Animale) est la principale des trois animaleries gérées par l'UAR hTAG. C'est une animalerie située sur le site de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'UGA, dans le bâtiment Jean Roget. Ses services sont centrés principalement sur la production et le maintien de lignées de souris et de rats, génétiquement modifiés ou non, et l'hébergement d'animaux dans un cadre d'expérimentations animales réalisées en son sein. Nos locaux présentent plusieurs zones (élevage, expérimentation, quarantaine et isotechnie) avec différents statuts sanitaires (exempt d'organismes pathogènes spécifiques, par exemple) et également différents statuts de confinements biologique (A1 et A2) pouvant répondre aux besoins de chaque chercheur. Animée par une équipe dynamique de 10 personnes, ses locaux et matériels spécifiques sont à disposition des chercheurs pour réaliser leurs expérimentations impliquant des animaux.

Ainsi, nous proposons différents services personnalisés auprès de la communauté scientifique grenobloise :

1. Le maintien, la gestion des lignées de rongeurs et l'organisation des programmes de production de lots à la demande
2. Le suivi des demandes des chercheurs grâce à un logiciel d'interface ad hoc entre utilisateurs et zootechniciens,
3. Les sevrages et biopsies pour génotypage des animaux génétiquement modifiés.
4. Le suivi sanitaire et la redétermination de lignées murines, le but étant de décontaminer les différentes souches de souris pour s'assurer qu'elles ne soient pas porteuses de pathogènes.
5. La démarche éthique tout au long de la vie des animaux
6. La prise en charge partielle ou complète, au niveau technique, de projets de recherche fondamentale et préclinique.

De plus nous proposons en complément des formations continues réglementaires relatives à l'expérimentation animale et de sensibilisation sur les pratiques et le bien-être animal.

L'utilisation d'animaux à des fins scientifiques dans notre unité est menée dans le plus grand respect de la règle des 3R : Réduire, Remplacer et Raffiner. Nous prônons le bien-être animal avant tout, principalement dans l'amélioration du confort de l'hébergement avec des enrichissements adaptés, en évitant toutes les sources de stress, et en sachant anticiper, reconnaître et palier toute douleur éventuelle chez l'animal.