

# DHU Fire

Fibrosis, Inflammation, REmodeling in cardiovascular, respiratory  
and renal diseases



Jeudi 5 septembre 2013

## Première Journée Scientifique

### DHU Fire Conference

[www.dhufire.org](http://www.dhufire.org)

# Nos partenaires

---



*Lilly*



Pierre Fabre



# Sommaire

---

A propos du DHU Fire .....	p.4
Programme de la journée scientifique.....	p. 6
Les 6 « <i>work-packages</i> » du DHU Fire, point d'étape .....	p. 7
Résultats de l'Appel à Projets « émergence » .....	p. 17
Résumés des communications .....	p. 19

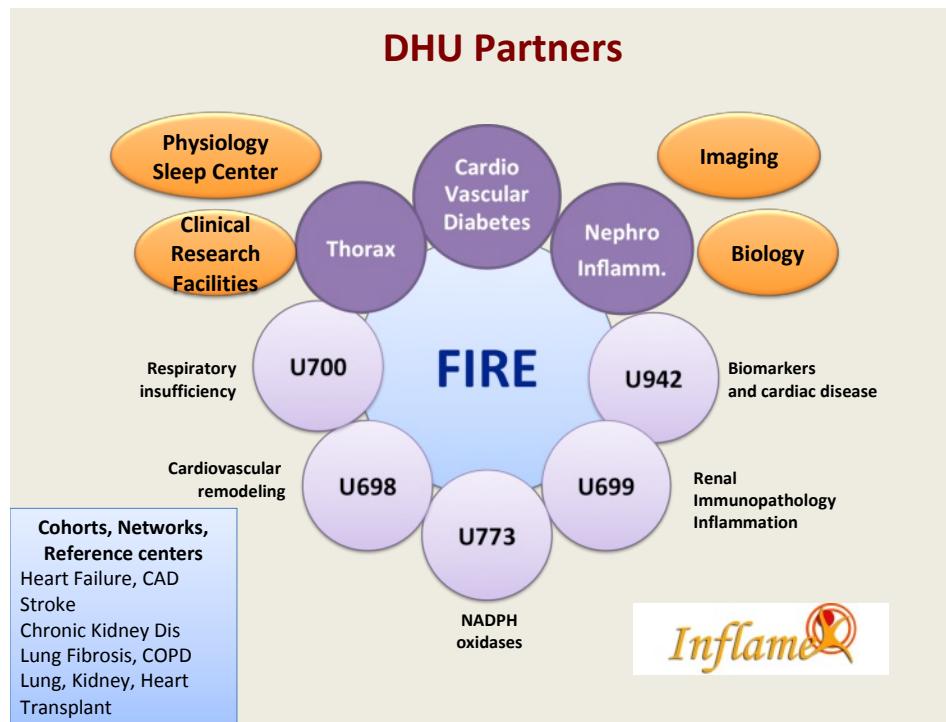
# A propos du DHU Fire

---

Le DHU Fire propose de développer une prise en charge intégrée des maladies cardiovasculaires, rénales et respiratoires chroniques en prenant en compte la prévention, le dépistage précoce, le traitement des complications aiguës et chroniques et la prise en charge des phases tardives de ces maladies jusqu'à la transplantation.

Dans ce but, les cliniciens, les chercheurs et les enseignants chercheurs de 4 hôpitaux universitaires (Bichat, Saint Louis, Lariboisière et Robert Debré), les biologistes et les épidémiologistes de 5 unités de recherche labellisées (UMR 698, 699, 700, 773 et 942) ont décidé de joindre leurs forces afin de bâtir un centre intégré pour la prise en charge clinique, la recherche et l'éducation dans le domaine des maladies chroniques en lien avec la fibrose, l'inflammation et le remodelage tissulaire.

La structure du DHU Fire dépasse les clivages habituels entre les spécialités médicales, les hôpitaux et les thématiques de recherche scientifique afin de favoriser la pluridisciplinarité et créer une synergie profitable aux malades via l'optimisation des ressources et des expertises.



# Programme de la journée

---

- **Matin : Premier anniversaire du DHU Fire : Point d'étape**

Présentation de l'avancement des 6 « work-packages » par les coordonnateurs (voir page 7)

- **Après-midi scientifique : Génétique, épigénétique et protéomique des maladies chroniques**

**13h30.** Accueil par B.Crestani, E.Daugas et G. Steg

**13h35.** Introduction de l'après-midi, interventions de B. Schlemmer, doyen de l'UFR de Médecine Paris Diderot, M. Faugère, directrice générale de l'APHP et J-F. Dhainaut, coordonnateur du projet DHU

**13h45.** Conférence : « **ARN non codants dans les maladies respiratoires** » (P. Barbry, Institut de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Univ. Nice Sophia Antipolis)

**14h15.** Communications orales sélectionnées parmi les résumés (L. Plantier et C. Taillé)

**14h45.** Conférence : « **Génétique et épigénétique des formes familiales des anévrismes de l'aorte** » (C. Boileau, UMR 698, Université Paris Diderot-Bichat)

**15h15.** Communications orales sélectionnées parmi les résumés (G. Ducrocq, L. Feldman et K. Sacré)

**16h00.** Pause café et discussion autour des posters

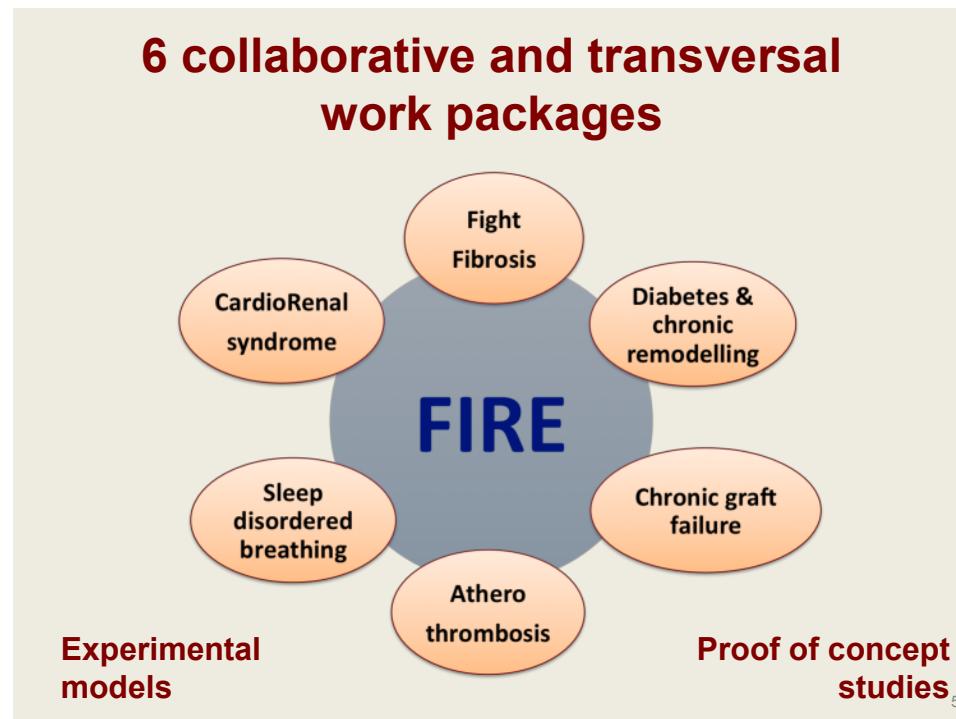
**16h45.** Conférence : « **Peptidomique urinaire : un nouvel outil pour le pronostic des néphropathies obstructives** » (J-L. Bascands, Institute of Metabolic and Cardiovascular Disease, Toulouse)

**17h00.** Communications orales sélectionnées parmi les résumés (J. Chemouny et E. Vidal-Petiot)

**17h30.** Conclusion de la journée

# Les 6 « work-packages » du DHU Fire, point d'étape

---



## 1. “Fight Fibrosis” (Pr. Bruno Crestani)

Ce work-package propose un abord global de la fibrose comme une cible thérapeutique dans les maladies chroniques. Il s'articule autour de 6 grands axes :

1-**Etude des liens entre inflammation et fibrose.** Les différents projets progressent notamment pour ce qui concerne l'interface inflammation-coagulation-fibrose, notamment dans le poumon où le rôle de nouvelles protéases de la coagulation est exploré (avec d'intéressantes collaborations U698-U700). Une collaboration a été initiée avec le laboratoire MedImmune sur ce thème. L'appel d'offres émergence du DHU a soutenu plusieurs projets sur ce thème (voir [www.dhufire.org](http://www.dhufire.org)).

2-**Hyperglycémie et fibrose.** L'étude du rôle des kinines a été initiée (le DHU a apporté un soutien financier à Louis Potier pour ce projet dans le cadre de l'appel d'offres émergences).

3-**Génétique de la fibrose.** Le DHU a obtenu un financement auprès de la chancellerie des universités (Raphael Borie-Legs Poix) et du PRES Sorbonne Paris Cité (Bruno Crestani), et a soumis des demandes de financement auprès du PHRC pour l'étude de la génétique de la fibrose pulmonaire. Une première publication collaborative du DHU sur ce thème vient de paraître (Borie, Plos One 2013 Aug 5;8(8):e70621).

4-**Biomarqueurs et Fibrose.** Différents travaux sont en cours, portant sur la fibrose pulmonaire, cardiaque et rénale, portant notamment sur la mesure des fibrocytes dans le liquide alvéolaire des patients atteints de fibrose pulmonaire ou de sclérodermie. QSOX1 a été identifié comme un marqueur d'insuffisance cardiaque (Mebazaa, Eur Heart J 2012;33(18):2317-24). Cette protéine joue également un rôle majeur dans la fibrogénèse. Un soutien financier du DHU a été apporté à un projet concernant QSOX1 et fibrose cardiaque.

5-**Imagerie de la fibrose.** Différents projets portant notamment sur le cœur et le poumon sont en cours de développement, tant en IRM qu'en scintigraphie.

6-**Essais cliniques.** Le DHU a bénéficié d'un PHRC national pour un essai thérapeutique multicentrique académique dans le traitement de l'exacerbation de fibrose pulmonaire qui devrait débuter fin 2013 (projet KEFI-Bruno Crestani). D'autres projets sont en cours de maturation.

## 2. “Diabetes in chronic remodeling diseases” (Pr. Ronan Roussel)

Les attendus scientifiques de ce work package étaient:

**1-Identification d'une nouvelle cible thérapeutique dans les complications du diabète (délivrable 2.1), insuffisance cardiaque diastolique, complication méconnue du diabète (délivrable 2.3)**

Nous avons mené à bien la première partie de l'évaluation pré-clinique de nouveaux agonistes des récepteurs B1 et B2 de la bradykinine, avec des résultats encourageants dans l'ischémie myocardique (Potier et al. , J Pharmacol Exp Ther. 2013 Jul;346(1):23). Nous développons cet axe de recherche dans le remodelage cardiaque compliquant le diabète (modèle pré-clinique de cardiomyopathie diabétique), un projet soutenu par le DHU (appel d'offres émergences 2013).

**2-Rôle du diabète dans les valvulopathies cardiaques: cohortes GENERAC/SOFRASA (délivrable 2.2)**

Ce volet du projet sera débuté en 2014 en collaboration avec le Pr Messika-Zeitoun en fonction du recrutement effectif.

**3-Epidémiologie et génétique des complications dégénératives du diabète (délivrable 2.4)**

Nous avons initié et poursuivons l'identification de systèmes biologiques impliqués dans la progression des complications du diabète, en particulier de l'insuffisance rénale à un stade avancé où la fibrose domine. La vasopressine, ou hormone anti-diurétique semble ainsi jouer un rôle important, fournissant un marqueur pronostique majeur et une cible thérapeutique via les bloqueurs de son récepteur V<sub>2</sub>, déjà en cours de développement clinique dans d'autres indications (Velho et al., Diabetes Care. 2013, disponible en ligne). Des résultats d'épidémiologie génétique non encore publiés vont en effet dans le sens de la causalité de l'association observée entre la vasopressine et les complications.

**Sur le plan des infrastructures et de l'organisation:**

Le service de diabétologie de Saint Louis a déménagé à Lariboisière, ce qui améliorera la proximité et les interactions avec plusieurs entités cliniques du DHU, notamment la cardiologie, et s'accompagne d'une réorganisation de l'hôpital de jour centrée sur le parcours du patient, et facilitant la constitution d'un registre des patients (évaluation du soin, base de données clinico-biologique de recherche clinique).

- l'unité INSERM U695, consacrée à la diabétologie et associée au DHU, va fusionner au 1er janvier 2014 avec l'unité de physiologie vasculaire UMR872 équipe 2 afin de développer un programme de recherche transversale clinique et pré-clinique sur les mécanismes et la thérapeutique des complications chroniques du diabète et de l'obésité (porteur du projet Ronan Roussel). Ce projet s'intègre dans la dynamique du DHU.

### 3. “Chronic Graft Failure” (Pr. Denis Glotz)

Sur cette thématique, plusieurs publications ont déjà été obtenues par les équipes impliquées :

- [Post-transplantation lymphoproliferative disorder after kidney transplantation: report of a nationwide French registry and the development of a new prognostic score.](#)

Caillard S, Porcher R, Provot F, Dantal J, Choquet S, Durrbach A, Morelon E, Moal V, Janbon B, Alamartine E, Pouteil Noble C, Morel D, Kamar N, Buchler M, Mamzer MF, Peraldi MN, Hiesse C, Renoult E, Toupance O, Rerolle JP, Delmas S, Lang P, Lebranchu Y, Heng AE, Rebibou JM, Mousson C, **Glotz D**, Rivalan J, Thierry A, Etienne I, Moal MC, Albano L, Subra JF, Ouali N, Westeel PF, Delahousse M, Genin R, Hurault de Ligny B, Moulin B.  
J Clin Oncol. 2013 Apr 1;31(10):1302-9. doi: 10.1200/JCO.2012.43.2344. Epub 2013 Feb 19.

- [Kidney graft dysfunction in simultaneous pancreas-kidney recipients after pancreas failure: analysis of early and late protocol biopsies.](#)

Viglietti D, Serrato T, Abboud I, Antoine C, Pillebout E, Busson M, Desgrandchamps F, Meria P, Godin M, Hurault de Ligny B, Thervet E, Legendre C, Suberbielle C, Verine J, **Glotz D**, Peraldi MN.  
Clin Transplant. 2013 May-Jun;27(3):E249-55. doi: 10.1111/ctr.12095. Epub 2013 Feb 13.

- [Study of the allogeneic response induced by endothelial cells expressing HLA class II after lentiviral transduction.](#)

Taflin C, Favier B, Charron D, **Glotz D**, Mooney N.  
Methods Mol Biol. 2013;960:461-72. doi: 10.1007/978-1-62703-218-6\_34.

- [Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study.](#)

Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, Duong-Van-Huyen JP, Suberbielle C, Anglicheau D, Vérine J, Beuscart T, Nochy D, Bruneval P, Charron D, Delahousse M, Empana JP, Hill GS, **Glotz D**, Legendre C, Jouven X.  
Lancet. 2013 Jan 26;381(9863):313-9. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61265-3. Epub 2012 Nov 23.

- [Complement-Binding Anti-HLA Antibodies and Kidney Allograft Survival](#)

Alexandre Loupy (MD, PhD)\*<sup>1,2</sup>, Carmen Lefaucheur (MD, PhD)\*<sup>2,3</sup>, Dewi Vernerey (MPH)<sup>2</sup>, Christof Prugger (MD, PhD)<sup>2</sup>, Jean-Paul Duong van Huyen (MD, PhD)<sup>2,4</sup>, Nuala Mooney (PhD)<sup>5</sup>, Caroline Suberbielle (MD, PhD)<sup>6</sup>, Véronique Frémeaux-Bacchi (MD, PhD)<sup>7</sup>, Arnaud Méjean (MD)<sup>8</sup>, François Desgrandchamps (MD)<sup>9</sup>, Dany Anglicheau (MD, PhD)<sup>1</sup>, Dominique Nochy<sup>4</sup>, Dominique Charron (MD, PhD)<sup>6</sup>, Jean-Philippe Empana (MD, PhD)<sup>2</sup>, Michel Delahousse (MD)<sup>10</sup>, Christophe Legendre (MD)<sup>1</sup>, Denis Glotz (MD, PhD)<sup>3,5</sup>, Gary S. Hill (MD)<sup>4,11</sup>, Adriana Zeevi (MD, PhD)\*\*<sup>11</sup> and Xavier Jouven (MD, PhD)\*\*<sup>2</sup>

## 4. “Atherothrombosis” (Pr. Gabriel Steg)

Le work package atherothrombosis a développé son travail en suivant plusieurs axes :

1. Sous l'égide du Pr Amarenco, l'exploration détaillée épidémiologique et clinique du chevauchement entre les localisations cérébrovasculaire et coronaire de l'athérothrombose et de ses conséquences, en termes de risque (Sirimarco et al, 2 articles dans Stroke 2013, Amarenco P et al Stroke 2013), de tolérance des traitements antithrombotiques (Ducrocq et al Circulation 2013), et de classification épidémiologique (Sirimarco Stroke 2013). Ces travaux ont été menés à partir de la cohorte AMISTAD que l'équipe du Pr Amarenco a constitué à Bichat, mais également à partir de grands registres issus des équipes du DHU (OPTIC, piloté par P Amarenco), REACH, copiloté par PG.Steg et DL Bhatt)
2. L'étude des bénéfices cliniques en prévention secondaire cardiovasculaire des principales classes thérapeutiques, prenant en compte leur retentissement global sur le risque athérothrombotique (IEC, beta bloquants, antithrombotiques). Une analyse particulièrement détaillée sur le rapport risque bénéfice des inhibiteurs de l'enzyme de conversion chez les coronariens stables sans dysfonction ventriculaire gauche est soumise pour publication.
3. La poursuite de la conduite d'essais thérapeutiques ou registres multicentriques de grande taille, pilotés ou coordonnés par les équipes du DHU et où celles ci jouent un rôle de leadership scientifique dans le dessin, l'analyse clinique et médico économique et la publication des résultats. Quelques exemples récents sont le registre OPTIC, et le registre TIA, l'essai SOCRATES (dans le domaine neurovasculaire et où Pierre Amarenco et son équipe sont leaders), ou les essais CHAMPION, THEMIS, TAO, ODYSSEY (où l'équipe de Cardiologie est coordinatrice et pilote ces essais)
4. Participation au travail transversal du DHU sur la dénervation rénale, en collaboration avec de nombreuses équipes du DHU, localisées à Bichat.
5. Le développement des axes de travail entre cardiologie et pneumologie et sur l'interface entre athérothrombose et maladies systémiques est amorcé mais encore à un stade plus préliminaire.

Plusieurs publications ont été obtenues par les équipes impliquées :

- [Anticoagulation With Otamixaban and Ischemic Events in Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes: The TAO Randomized Clinical Trial.](#)  
Steg PG, Mehta SR, Pollack CV Jr, Bode C, Cohen M, French WJ, Hoekstra J, Rao SV, Ruzylo W, Ruiz-Nodar JM, Sabaté M, Widimsky P, Kiss RG, Estrada JL, Hod H, Kerkar P, Guneri S, Sezer M, Ruda M, Nicolau JC, Cavallini C, Ebrahim I, Petrov I, Kim JH, Jeong MH, Lopez GA, Laanmets P, Kovar F, Gaudin C, Fanouillere KC, Minini P, Hoffman EB, Moryusef A, Wiviott SD, Sabatine MS. JAMA. 2013 Sep 1. doi: 10.1001/jama.2013.277165.

- [\*\*Saxagliptin and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.\*\*](#)  
Scirica BM, Bhatt DL, Braunwald E, Steg PG, Davidson J, Hirshberg B, Ohman P, Frederich R, Wiviott SD, Hoffman EB, Cavender MA, Udell JA, Desai NR, Mozenson O, McGuire DK, Ray KK, Leiter LA, Raz I; the SAVOR-TIMI 53 Steering Committee and Investigators. *N Engl J Med.* 2013 Sep 2.
- [\*\*Geographic differences in outcomes in outpatients with established atherothrombotic disease: Results from the REACH Registry.\*\*](#)  
Ducrocq G, Bhatt D, Labreuche J, Corbalan R, Porath A, Gao R, Panchenko E, Liau C, Ikeda Y, Goto S, Amarenco P, Steg P. *Eur J Prev Cardiol.* 2013 Aug 21.
- [\*\*Overlap of Diseases Underlying Ischemic Stroke: The ASCOD Phenotyping.\*\*](#)  
Sirimarco G, Lavallee PC, Labreuche J, Meseguer E, Cabrejo L, Guidoux C, Klein IF, Olivot JM, Abboud H, Adraø V, Kusmierenk J, Ratani S, Touboul PJ, Mazighi M, Steg PG, Amarenco P. *Stroke.* 2013 Sep;44(9):2427-33.
- [\*\*P. Impact of onset-to-reperfusion time on stroke mortality: a collaborative pooled analysis.\*\*](#)  
Mazighi M, Chaudhry SA, Ribo M, Khatri P, Skoloudik D, Mokin M, Labreuche J, Meseguer E, Yeatts SD, Siddiqui AH, Broderick J, Molina CA, Qureshi AI, Amarenco. *Circulation.* 2013 May 14;127(19):1980-5.
- [\*\*Coronary artery disease and risk of major vascular events aftercerebral infarction.\*\*](#)  
Amarenco P, Lavallée PC, Labreuche J, Ducrocq G, Juliard JM, Feldman L, Cabrejo L, Meseguer E, Guidoux C, Adraø V, Ratani S, Kusmierenk J, Lapergue B, Klein IF, Gongora-Rivera F, Jaramillo A, Abboud H, Olivot JM, Mazighi M, Touboul PJ, Steg PG. *Stroke.* 2013 Jun;44(6):1505-11.
- [\*\*High-density lipoprotein-based therapy reduces the hemorrhagic complications associated with tissue plasminogen activator treatment in experimental stroke.\*\*](#)  
Lapergue B, Dang BO, Desilles JP, Ortiz-Munoz G, Delbosc S, Loyau S, Louedec L, Couraud PO, Mazighi M, Michel JB, Meilhac O, Amarenco P. *Stroke.* 2013 Mar;44(3):699-707.
- [\*\*Effect of cangrelor on periprocedural outcomes in percutaneous coronary interventions: a pooled analysis of patient-level data\*\*](#)  
Steg PG, Bhatt DL, Hamm CW et al. for the CHAMPION investigators  
*The Lancet* - 3 September 2013
- [\*\*Safety and efficacy of drug-eluting stents in women: a patient-level pooled analysis of randomised trials\*\*](#)  
Stefanini GG, Baber U, Windecker S, Morice MC, Sartori S, Leon MB, Stone GW, Serruys PW, Wijns W, Weisz G, Camenzind E, Steg PG, Smits P, Kandzari D, Von Birgelen C, et al  
*The Lancet* - 2 September 2013
- [\*\*Cessation of dual antiplatelet treatment and cardiac events after percutaneous coronary intervention \(PARIS\): 2 year results from a prospective observational study\*\*](#)  
Mehran R, Baber U, Steg PG M et al.  
*The Lancet* - 1 September 2013

## 5. “CardioRenal syndrome” (Pr. Eric Daugas)

Le syndrome cardiorénal est une entité récemment décrite pour regrouper les intrications cliniques des maladies cardiaques et rénales. Ainsi, l’insuffisance rénale est elle un facteur de risque d’augmentation de la durée d’hospitalisation pour insuffisance cardiaque, un facteur de risque de l’échec thérapeutique ou de la récidive des épisodes d’insuffisance cardiaque. Près d’un quart des patients hospitalisés pour une décompensation cardiaque présentent une insuffisance rénale. Inversement, l’insuffisance cardiaque peut compliquer l’insuffisance rénale et l’insuffisance rénale chronique augmente le risque d’évènements cardiovasculaires. Le projet FIRE a d’emblée intégré un axe de développement des soins et de la recherche sur le syndrome cardiorénal.

**Soins :** Fortes des expériences de chacune et grâce à la synergie offerte par le DHU FIRE, les unités de cardiologie et de néphrologie ainsi que les partenaires impliqués (unités de recherche, service d’explorations fonctionnelles et d’imagerie) ont pu développer des axes de soins adaptés : des procédures conjointes spécifiques des patients atteints de syndrome cardiorénal. Elles concernent les patients hospitalisés et les patients ambulatoires qui ont désormais accès à une offre de soins enrichie de sa multidisciplinarité et proposant les meilleures réponses possibles aux situations les plus complexes.

**Recherche clinique :** L’important recrutement des patients atteints de syndrome cardiorénal (30 à 40% des 600 patients hospitalisés chaque année pour décompensation cardiaque ainsi que l’engagement des acteurs pour cette thématique permettent de développer des activités de recherche spécifiques. L’étude VOLEMIC (H. Dossi, G. Jondeau, E Daugas) a évalué prospectivement l’impédancemétrie pour mieux quantifier l’hyperhydratation des patients hospitalisés pour insuffisance cardiaque et y adapter leur traitement, et ainsi prévenir (ou contenir) le syndrome cardiorénal. Le résultat principal de l’étude, après l’exploration de près de 100 sujets, est que l’impédancemétrie ne permet pas d’établir plus précisément que les données cliniques, échographiques cardiaques, voire biologiques, l’état d’hyperhydratation initial puis au cours de la déplétion.

L’investigation clinique des patients présentant un syndrome cardiorénal sera poursuivie avec le projet IRAPICA fondé sur l’observation que la survenue d’une insuffisance rénale est un facteur limitant du traitement de l’insuffisance cardiaque. IRAPICA est une étude prospective dont l’objectif primaire est de déterminer si, au cours du traitement de l’insuffisance cardiaque, une stratégie tolérant l’insuffisance rénale aigüe est supérieure à la stratégie usuelle limitant la déplétion hydrosodée en pareille situation.

La détermination des modalités de traitements de l’insuffisance cardiaque réfractaire fait actuellement l’objet d’une investigation clinique (collaboration entre les équipes de néphrologie et de cardiologie du DHU, F. Vrtovsnik, G Jondeau, D. Logeart). Ce travail vise à déterminer les modalités, pour l’insuffisance cardiaque réfractaire, des techniques usuellement destinées au traitement de l’insuffisance rénale : l’hémodialyse et surtout la dialyse péritonéale. Cette dernière semble la plus adaptée aux caractéristiques de ces patients.

**Recherche translationnelle et fondamentale :** La recherche au laboratoire, translationnelle ou non, est le projet qui doit encore être le plus structuré entre les services cliniques et les unités de recherche (U698 et U699). Le “biobanking” systématique des patients atteints de syndrome cardiorénal est initié, l’exploration hémodynamique et rénale de modèles murins d’insuffisance cardiaque doit être amplifié.

## 6. “Sleep disordered breathing and tissue remodelling” (Pr. Marie-Pia d’Ortho)

### Research

The increasing prevalence of sleep disordered breathing (SDB) in the general community makes it a public health problem. It is as frequent as asthma and affects 5 to 20% of the general population. Patients with SDB exhibit increased cardiovascular morbidity and mortality, including systemic hypertension and ischemic heart and brain diseases. Other co-morbidities are now well established such as increased risk to develop type 2 diabetes and presence of non alcoholic steato-hepatitis. SDB could participate in the development of these associated pathologies through intermittent hypoxia, that induces oxidative stress and inflammation, increase in sympathetic and renin-angiotensin activity.

In adult rodents, chronic intermittent hypoxia induces several CV features seen in patients with OSAS, including sympathetic activation, hypertension, ventricular hypertrophy and global left ventricular dysfunction.

### A-Assessing the role of SDB in chronic diseases

**A1-** As mentioned above, strong associations are shown between SDB and cardiovascular diseases, and in the case of hypertension (HT) a causal role for SDB is recognized. A transversal program has been set up (see para XXX) to treat resistant primary hypertension by mean of renal denervation (RD). Candidates for the procedure are systematically screened for SDB, if SDB is present it is treated, and effect on HT is evaluated before the denervation procedure. SDB is evaluated again at distance (6 months) from denervation, as a previous report has reported some beneficial effects of renal denervation on SDB. Mechanisms contributing to such an unexpected benefit of RD are addressed.

**A2-** Contribution of SDB to kidney function loss over time, and to added co-morbidities (hypertension, diabetes), with ongoing screening with questionnaires. A PHRC grant proposal is to be submitted in 2014 (NEPHROTEST cohort), study is in preparation.

**A3-** Contribution of SDB to lung and airways remodelling (ongoing patient screening, study of airways neutrophilic inflammation 2012-2013) in difficult-to-treat asthma : the study is closed, 47 patients have been enrolled, results have been presented at the Sleep congress (end 2012) and French respiratory congress (2013), the American Thoracic Society (2013) and at the FIRE conference (2013), manuscript is in preparation.

**A4-** Contribution of SDB to diabetes complications: a PHRC grant had been obtained to explore the link between SDB and diabetic dysautonomia in type 1 diabetes. This observational study involves 3 centres (Pr M. Marre's department at BCH, Pr JF Gautier's and Pr PJ Guillausseau's departments at LRB). Enrolment of patients is starting (expected number of subjects: 100 patients and 40 matched healthy volunteers).

### B -Interventional studies are set up according to the results of the prevalence studies. Clinical research studies are currently running based on :

**B1-** the SERVE-HF trial : enrolment of patients is now closed, the two years follow-up of the last patients will end in December 2014.

**B2-** the PHRC P071227 which addressed the question of optimal treatment for both HT and SAS on macular edema in type 2 diabetes had been ended, manuscript is in preparation.

**B3-** the DIADEME study (industrial promotion ResMed France) : this multicentre randomized double-blind study addresses the effect of SDB treatment on HT and glycemic control in type 2 diabetes. Enrolment is about to start.

**C- Basic research** : role of perinatal programming in pathophysiology of SDB induced co-morbidities is studied through a collaboration with INSERM U676 (Paris Diderot University) where an in vivo model of chronic intermittent hypoxia exposition of pregnant mice had been set-up, in order to examine its consequence on cerebral development of offspring, and on cardiovascular and metabolic consequences in the adulthood. Study is ongoing. Preliminary results have been presented at the French Sleep congress (2012) and French Respiratory congress (2013),

#### **D- Educational**

**D1-** Medical fellowship : Actions have been undertaken to promote exchanges between different specialities, including sleep medicine. Accordingly, a position for a medical fellow has been created in 2011 with shared time over 6 months, between the pulmonology and physiology departments, allowing improved education in lung function testing and in sleep medicine.

**D2-** Master speciality in respiratory and sleep pathophysiology : A large part of the programs are dedicated to cardiac, lung and vessel remodeling with a focus on inflammation and fibrosis among the degenerative mechanisms. It has been evaluated by the AERES in 2013, with a "A" note.

Master in sleep medicine. During the next quinquennial (2014-2019), a subspeciality in sleep medicine and research has been added to this curriculum, which aims at providing training for medical doctors who will run university hospital sleep centres. . It has been evaluated by the AERES in 2013, with a "A" note.

**D3-** The Paris Diderot University school of medicine is involved in the national interuniversity diploma in sleep medicine that graduates each year around 50 MDs, coming from several specialities, mainly pulmonology and neurology but also cardiology and internal medicine.

## 7. Le DHU et l'HTA

Le DHU FIRE a également permis la mise en place d'une prise en charge multidisciplinaire de l'HTA.

Les services d'Explorations Fonctionnelles, de Néphrologie et de Cardiologie ont réunis leurs compétences pour instaurer une prise en charge spécifique des HTA résistantes ou secondaires. Il s'agit d'un circuit dont l'accès est de type « second avis » pour des patients expertisés dans les services de Cardiologie et de Néphrologie.

Une consultation spécialisée est assurée depuis 2012 par le Dr Emmanuelle Vidal-Petiot (physiologue, endocrinologue) et est complétée, le cas échéant, en hospitalisation de jour dans le secteur rein et métabolisme du service de Physiologie-Explorations fonctionnelles (Dr Martin Flamant).

La prise en charge thérapeutique des HTA résistantes a été complétée en 2013 par un programme de dénervation rénale appuyé sur le savoir-faire des cardiologues interventionnels (Dr Valérie Duchatelle).

Ce programme comprend une sélection rigoureuse des patients pouvant en bénéficier lors de réunions de concertation pluridisciplinaires.

De plus, et en conformité avec les objectifs du DHU, les patients sélectionnés font l'objet d'une investigation systématique s'inscrivant dans le cadre d'un projet de recherche prospectif mesurant les conséquences à court, moyen et long terme de la dénervation rénale.

# Résultats de l'Appel à Projets « émergence »

---

Dans le cadre de l'Appel à Projets “émergence” du DHU FIRE, huit projets ont été reçus. Après évaluation par deux rapporteurs, six projets ont finalement été retenus et seront financés. La priorité a été donnée aux projets transversaux.

- 1. Etude de l'intérêt des marqueurs biologiques et histologiques dans la prédiction de l'évolution et de la réponse au traitement dans la néphropathie à IgA de l'adulte (J. Chemouny, U699 et Néphrologie Bichat)**
  
- 2. Régulation des activités des neutrophiles par les plaquettes dans le remodelage vasculaire (B. Ho-Tin-Noé, U698 et Cardiologie Bichat)**

**3. Rôle de la Transglutaminase 2 (TG2) dans le remodelage épithelial et la fibrogenèse tissulaire dans l'asthme** (S. Letuvé, U700 et Pneumologie Bichat)

**4. Nouveaux traitements pharmacologiques des complications cardiaques et rénales du diabète : les agonistes des récepteurs des kinines** (L. Potier, Diabétologie Bichat et Saint Louis, U695, U872)

**5. Rôle de l'immunité T dans l'athérome associé au lupus** (K. Sacre, U698, Médecine Interne, Cardiologie, Bichat)

**6. Evaluation du rôle du QSOX1 dans la formation de la fibrose cardiaque** (N. Vodovar, U942 et Cardiologie Lariboisière)

# Résumés des communications

---

- Etude des complexes circulants dans la néphropathie à dépôts mésangiaux d'immunoglobuline A de l'adulte.

CHEMOUNY J (1,2,5), LE STANG B (1,5), DAUGAS E (1,2), VRTOVSNIK F (1,2), PILLEBOUT E (1,3), MONTEIRO R (1,4), BERTHELOT L (1)

1. Laboratoire INSERM U699, Université Paris-Diderot et Inflamex, Faculté Bichat, Paris, France.

2. Service de Néphrologie, Hôpital Bichat, Paris, France

3. Service de Néphrologie et Transplantation, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

4. Laboratoire d'immunologie, Hôpital Bichat, Paris, France

5. Contributions égales

jonathan.chemouny@inserm.fr

**Introduction:** La néphropathie à dépôts d'immunoglobulines A (N-IgA) est la glomérulopathie primitive la plus fréquente au monde conduisant 20 à 40% des patients à un traitement de suppléance à 20 ans du diagnostic. Il n'y a, à ce jour, pas de marqueur prédictif de l'évolution péjorative. Un rôle physiopathologique important est supposé aux complexes macromoléculaires contenant des immunoglobulines (Ig) A, en particulier ceux contenant le récepteur au fragment constant des IgA soluble (CD89s) et/ou des IgG auto-réactives dirigées contre les IgA1. Cependant leur rôle exact reste inconnu et l'association simultanée des composants non démontrée. Nous avons étudié l'association de différentes molécules, aux rôles démontrés dans la maladie : IgA, CD89s, IgG, Transglutaminase 2 (TG2) au sein des complexes.

**Méthodes:** Des reliquats de sérum prélevés chez des patients atteints de N-IgA, suivis dans les services de néphrologie des hôpitaux Bichat et Saint-Louis et ayant donné leur consentement ont été utilisés. 200µL de sérum ont été précipités au polyéthylène glycol et resuspendus dans 125µL de NaCl. Un anticorps dirigé contre un composant du complexe (monoclonal A3 anti-CD89 purifié au laboratoire, anticorps anti-IgA humaines de Béthyl, polyclonal anti-TG2 de Thermo Fischer) a été adsorbé sur une plaque, la détection étant réalisée par anticorps dirigé contre un autre composant (anti-IgA ou IgG couplé phosphatase alcaline de BD Biosciences, anti-TG2 biotinylé plus streptavidine-phosphatase alcaline).

**Résultats:** Les patients N-IgA (n=47) avaient plus de complexes IgA-CD89s et IgA-IgG que les sujets sains (n=25) comme précédemment montrés, ainsi que de complexes CD89s-IgG et CD89s-TG2 mais pas de complexes IgA-TG2.

**Conclusion:** Chez les patients atteints de N-IgA, certaines molécules aux rôles physiopathologiques démontrés sont associées de manière plus importante que chez les sujets sains. De plus, elles semblent associées au sein des mêmes complexes d'IgA. Ainsi du CD89s a été trouvé dans les mêmes complexes d'IgA que les IgG auto-réactives et la TG2. L'étude sera poursuivie par l'inclusion de patients supplémentaires et la confrontation aux données cliniques.

- **A prospective multidisciplinary program to explore the Physiological Effects of Renal Denervation in Patients with Resistant Hypertension**

Emmanuelle Vidal-Petiot<sup>1,8</sup>, Valérie Duchatelle<sup>2</sup>, Olivier Zurlinden<sup>3</sup>, François Vrtovsnik<sup>4,8</sup>, Brigitte Escoubet<sup>1</sup>, Anny Rouvel-Tallec<sup>1</sup>, Florence Arnoult<sup>1</sup>, Kamel Mohammedi<sup>5,10</sup>, Jean-Pol Depoix<sup>7</sup>, Christine Clérici<sup>1</sup>, François Rouzet<sup>6,9</sup>, Ronan Roussel<sup>5</sup>, Phalla Ou<sup>3,9</sup>, Dominique Leguludec<sup>6,9</sup>, Marie-Pia d'Ortho<sup>1</sup>, Dan Longrois<sup>7</sup>, Eric Daugas<sup>4,8</sup>, Martin Flamant<sup>1,8</sup>, Ph.Gabriel Steg<sup>2,9</sup>

<sup>1</sup>Physiology Department - Bichat Hospital - Paris - France

<sup>2</sup>Cardiology Department - Bichat Hospital - Paris – France

<sup>3</sup>Radiology Department - Bichat Hospital - Paris – France

<sup>4</sup>Nephrology Department - Bichat Hospital - Paris – France

<sup>5</sup>Diabetology Department - Bichat Hospital - Paris – France

<sup>6</sup>Nuclear Imaging Department - Bichat Hospital - Paris – France

<sup>7</sup>Anesthesiology Department - Bichat Hospital - Paris – France

<sup>8</sup> INSERM U-699-Bichat Hospital- Paris – France

<sup>9</sup> INSERM U-698-Bichat Hospital- Paris – France

<sup>10</sup> INSERM U-695-Bichat Hospital- Paris – France

**Introduction:** Despite the availability of a large number of effective antihypertensive agents, 5-10% of hypertensive patients have true resistant hypertension. Open-labelled randomized trials have recently demonstrated the efficacy of catheter-based renal denervation (RDN) for lowering blood pressure (BP) in these patients at very high cardiovascular risk (Lancet, 2010, 376:1903-1909). Furthermore, small studies have suggested potential benefits of RDN in other conditions where the sympathetic nervous system is activated, such as arrhythmias, heart failure, insulin resistance and sleep apnoea. In Bichat Hospital, a multidisciplinary program was designed to study the effects of RDN in highly selected patients with genuine resistant hypertension.

**Methods:** Patients are carefully screened for secondary forms of hypertension, including endocrine hypertension, high salt intake, renal diseases, renovascular hypertension and sleep apnoea. Resistance to at least four drugs, including spironolactone, is confirmed with Ambulatory BP Measurement (ABPM). Anatomical suitability is checked with CT-imaging of renal arteries, and decision of RDN is taken by a committee including at least a nephrologist, a hypertension specialist, a physiologist, a radiologist and an interventional cardiologist. Percutaneous RDN is performed under general anaesthesia by a team involving cardiologists, radiologists and anaesthesiologists with transluminal radiofrequency ablations applied via an electrode at the catheter tip.

Office BP, home BP, clinical and routine laboratory evaluations (monthly for 6 months, every 3 to 6 months thereafter), ABPM (at M<sub>1</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>6</sub>, M<sub>12</sub>, M<sub>24</sub> and M<sub>36</sub>) and CT imaging of renal arteries (M<sub>12</sub>, M<sub>36</sub>) are performed to evaluate the effects on BP and rule out complications such as renal artery stenosis.

Patients are also extensively phenotyped before RDN and during a three-year follow-up to ascertain the physiological effects of RDN, beyond mere BP reduction. Thus, an oral glucose tolerance test, the homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR), a measurement of GFR (<sup>51</sup>CrEDTA clearance), tubular functions and hormonal profile, a full polysomnography, a cardiac ultrasound, a comprehensive and functional MRI of the heart and aorta, a measurement of intima-media thickness, pulse wave velocity and intrarenal resistance, an ECG holter monitoring and a cardiac <sup>123</sup>I-MIBG scintigraphy are performed within 3 months pre-RDN and at 6 and/or 12 months, and 36 months after RDN. The program has started in February 2013. In June 2013, the first two patients have undergone RDN, uneventfully. Continued enrolment is planned and preliminary results are expected in 2014.

**Conclusion:** This multidisciplinary approach relies on the skills and expertise of several clinical and research entities within the Département Hospitalo-Universitaire FIRE. It will allow building a solid recruitment base for RDN within our institution and a clinical expertise in the field, but also importantly the data generated will improve physiological understanding of the vascular, cardiac, metabolic, renal and systemic consequences of RDN. It exemplifies the value of the DHU.

- **Nouveaux traitements pharmacologiques des complications cardiaques et rénales du diabète : les agonistes des récepteurs des kinines**

Potier L<sup>(1,2,3,4)</sup>; Waeckel L<sup>(1,2,3)</sup>; Gobeil F<sup>(5)</sup>; Marre M<sup>(4,6,7)</sup>; Roussel R<sup>(1,4,6,7)</sup>; Alhenc-Gelas F<sup>(1,2,3)</sup>; Bouby N<sup>(1,2,3)</sup>

<sup>1</sup>INSERM U872, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France

<sup>2</sup>Pierre et Marie Curie University, Paris, France

<sup>3</sup>Paris Descartes University, Paris, France

<sup>4</sup>Diabetology, Endocrinology and Nutrition Department, AP-HP, Bichat-Claude Bernard Hospital, Paris, France

<sup>5</sup>Department of Pharmacology, Sherbrooke University, Sherbrooke, Quebec, Canada

<sup>6</sup>Paris Diderot University, Paris 7, Paris, France

<sup>7</sup>INSERM U695, Paris, France

louis.potier@gmail.com

**Introduction:** La néphropathie et la cardiopathie diabétique sont des complications fréquentes et sévères du diabète. Le système kallicréine-kinine (SKK) est un système peptidique vasomoteur qui agit via deux récepteurs, B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>. Il existe de nombreux arguments en faveur d'un rôle bénéfique du SKK sur le développement des complications du diabète. Récemment, de nouveaux agonistes peptidiques, spécifiques des récepteurs B<sub>1</sub> ou B<sub>2</sub> ont été développés. Nous avons déjà montré que ces agonistes avaient un effet protecteur sur les lésions d'ischémie-reperfusion cardiaque et lors d'une ischémie périphérique chez la souris diabétique. Le but de ce projet est de tester ces agonistes sur le développement de la cardiopathie et de la néphropathie diabétique.

**Méthodes:** Induction d'un diabète par injection de streptozotocine. Traitement chronique par agonistes B<sub>1</sub> ou B<sub>2</sub>. Traitement pendant 4 mois. Cinq groupes de 20 souris : un groupe contrôle, un groupe traité par l'agoniste B<sub>1</sub> et un par l'agoniste B<sub>2</sub>, et un contrôle positif traité par inhibiteur de l'enzyme de conversion.

Suivi du développement des anomalies cardiaques et rénales:

- Echocardiographie mensuel
- Mesure de la pression artérielle à la queue mensuelle
- Prélèvement sanguin et recueil urinaire mensuel pour mesure de la fonction rénale, de l'excrétion urinaire d'albumine
- Après sacrifice des souris, mesure de la fibrose cardiaque; mesure des marqueurs d'inflammation et de stress oxydant; extraction des protéines et des ARNm pour étude de l'hypertrophie, de la fibrose et des composants du SKK.

**Résultats attendus et conclusions:** Diminution de la sévérité des lésions cardiaques et rénales du diabète chez la souris diabétique traitée par les agonistes, notamment diminution de la fibrose. Un effet favorable de l'agoniste B<sub>2</sub> est attendu, l'effet du B<sub>1</sub> est plus difficile à anticiper. Ces résultats permettraient de soutenir le rôle bénéfique du SKK dans les complications du diabète et d'apporter de premiers résultats précliniques dans le développement de nouveaux traitements des complications des patients diabétiques.

- **Detachment of podocytes by low molecular weight proteins of HPLC-fractionated plasma from idiopathic nephrotic syndrome children**

JAMIN A<sup>(1)</sup>, DEHOUX L<sup>(2)</sup>, DOSSIER C<sup>(2)</sup>, FILA M<sup>(2)</sup>, MONTEIRO RC<sup>(1)</sup>, DESCENES G<sup>(1,2)</sup>

<sup>1</sup> INSERM, UMR699, Paris, France

<sup>2</sup> Département de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

agnes.jamin@inserm.fr

**Introduction:** Childhood idiopathic nephrotic syndrome (INS) is characterized by massive proteinuria and hypoalbuminuria with an effacement of the podocyte foot processes. The efficacy of steroid and immunosuppressive treatments and the recurrence of proteinuria after renal transplantation indicate that INS may be associated with dysfunctions of the immune system and that kidney injury may be mediated by a putative soluble glomerular permeability factor whose identification has so far been unsuccessful. Decrease of proteinuria during immunoglobulin (Ig) depletion suggests that Ig-like protein might be the circulating glomerular permeability factor. We sought to identify the Ig-like protein which perturbs glomerular barrier filtration by using a podocyte cell line and the plasma of INS patients and controls.

**Methods:** Plasma was isolated from EDTA blood samples of 9 INS patients with massive proteinuria (INS P+), 4 INS remission patients without proteinuria (INS P-) and 5 non nephrotic controls. Children were sampled if they were <18 year-old and at least 3 months from any steroid or immunosuppressive therapy. The adherent immortalized human podocyte cell line AB8/13 was fully differentiated after a switch from 33°C to 37°C for 14 days. Then, the podocytes were incubated with fractions of plasma obtained after HPLC, *i.e.* size-exclusion chromatography. Fractions of plasma were neutralized using anti-free IgK and anti-free IgL antibodies and then incubated with podocytes. Podocytes were observed 90 min later by light microscopy. Free IgK and free IgL levels were measured by ELISA.

**Results:** After HPLC, only the plasma fraction with low molecular weight (20-30 KDa) proteins induced detachment of podocytes (in 5 out of 9 INS P+ patients), contrary to those of INS P- and controls. In these fractions, free IgK and free IgL were higher ( $P < 0.05$ ) in INS P+ compared to INS P- and controls. In 2 of the fractions detaching podocytes from INS P+ patients, addition of anti-free IgK neutralized cell detachment, whereas addition of anti-free IgL neutralized cell detachment in only 1 out of the 2 tested fractions.

**Conclusions:** Our data are arguments in favor of the possible involvement of free Ig light chains in podocyte dysfunction during massive proteinuria of INS. Mechanisms of podocyte dysfunction due to these low molecular weight proteins from plasma of INS patients with massive proteinuria need to be further investigated.

- **Volemic: volemia during heart failure , evaluation with impedance**

DOSSI H.(1), ARNOULT F.(2), DETAINT D.(1), PHAN G.(1), CALIGIURI G.(1-3), MORGAN C.(1), GHEZALI K.(1), AUMONT MC.(1-4), DAUGAS E.(4-5), JONDEAU G.(1-3).

(1) AP-HP - Hospital Bichat-Claude Bernard, Department of Cardiology, Paris, France

(2) Explorations fonctionnelles, Hopital Bichat, AP-HP, Paris France, Paris, France

(3) Inserm U698 - AP-HP

(4) University Paris Diderot-Paris 7, Paris, France

(5) AP-HP, Hospital Bichat-Claude Bernard, Department of Nephrology, France

helenad@hotmail.fr

**Purpose:** Acute Heart failure (AHF) is the first cause of hospitalization for people above 65 years old, but its treatment is not standardized due to difficulty in estimation of optimal congestion. Impedance is a non-invasive method used by nephrologists to determinate the optimal dry weight of patients during hemodialysis. The aim of this study is to evaluate the value of impedance to evaluate congestion and its evolution during depletion in patients with acute heart failure.

**Methods:** We prospectively collected in 25 patients hospitalized for AHF clinical, biological, echocardiographic and impedancemetric data. Right and left impedance measures were consecutively made with BCM. Extracellular and intracellular resistance ( $R_e$ ,  $R_i$ ) which match with the opposition of tissues to the passage of a current were measured. Total body water (TBW), extracellular volume (ECW) and overload volume (OH) were obtained thanks to an algorithm from the resistances. Severe renal and hepatic insufficiency and absence of consent from patients were exclusion criteria.

**Results:** 80% of the patients were male and had previous history of HF. The mean age was  $66 \pm 12.76$ . Cardiomyopathy was ischemic in 36% of the cases, dilated in 28%, valvular in 16%, hypertensive in 12% and with mixed origin in 8%. Mean ejection fraction was  $38 \pm 17\%$  and 46% of patients had a preserved ejection fraction. Initially, 95% had left signs of HF and 82% right signs. Right and left impedancemetric measures, consecutively executed, were reproducible at the population level because the bias was close to 0 but were not reproducible at the individual level because the limits of agreement were too high. During the hospitalization, the patients significantly lost weight ( $5.3 \pm 4.9$ Kg,  $p < 0.01$ ); heart failure signs and NT-proBNP significantly decreased ( $6317$  vs  $3464$  pg/ml,  $p = 0.04$ ); creatinine and protein level significantly increased ( $126$  vs  $151$   $\mu$ mol/L,  $p = 0.04$ ;  $70$  vs  $73$ g/L,  $p = 0.04$ ). But impedance measures did not vary significantly:  $R_e$  ( $615$  vs  $643$  ohms),  $R_i$  ( $1400$  vs  $1471$  ohms), TBW ( $47$  vs  $48$  %BW), ECW ( $22$  vs  $22$  %BW) and OH ( $-0.3$  vs  $-0.4$  %BW). Same conclusions for the subgroup of 9 patients who lost at mean 5 Kg.

**Conclusion:** The impedance measures were not reproducible at the individual level and do not seem to allow to follow the correction of the hydric overload at the patients hospitalized for AHF and treated by diuretics.

- **Prise en charge des arythmies ventriculaires malignes primitives**

Denjoy I (1), Extramiana F (1), Messali A (1), Fressart V (2), Leenhardt A (1)

(1) Centre de Référence Maladies Rythmiques Héréditaires, Service de Cardiologie, Hôpital Bichat, Paris

(2) Service Biologie Moléculaire, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris

isabelle.denjoy@bch.aphp.fr

Les arythmies ventriculaires malignes primitives sont rares mais exposent les sujets qui en sont atteints à des syncopes ou à la mort subite, souvent à l'occasion d'une stimulation adrénnergique. Elles sont dues à des anomalies de fonctionnement d'origine génétique de certains canaux ioniques cardiaques (canalopathie). Ces anomalies rythmiques primitives incluent les torsades de pointes dégénérant en fibrillation ventriculaire pour le syndrome du QT long congénital, les tachycardies ventriculaires catécholergiques (TVC), les fibrillations ventriculaires compliquant le syndrome de Brugada , le syndrome du QT court et le syndrome de repolarisation précoce. L'origine génétique de ces syndromes en fait des maladies héréditaires et familiales. Elles sont dues à des anomalies de fonctionnement primitif des canaux ioniques cardiaques. Le dépistage de l'un de ces syndromes repose sur l'analyse de l'ECG, au repos et à l'effort, les tests pharmacologiques de sensibilisation, les antécédents personnels de chaque membre de la famille. Les traitements sont établis en fonction du diagnostic précis du syndrome en cause. Le caractère familial et génétique de ces syndromes doit conduire à une consultation cardiologique spécialisée pour tous les membres de la famille y compris les enfants de façon à permettre de porter un diagnostic et d'avoir une prise en charge précoce et adaptée. Les différentes dimensions de l'impact d'un test génétique et du diagnostic doivent être reconnus et pris en compte, dans le cadre d'une approche multi-disciplinaire. La mise en place de centres nationaux de référence et régionaux de compétence pour les maladies rythmiques héréditaires permet d'améliorer la prise en charge cardioligue et génétique de ces pathologies. Dans certains cas, le ou les gènes en cause sont connus et rendent possible, au sein d'équipes multidisciplinaires spécialisées, la prise en charge des patients atteints, de leurs apparentés pré-symptomatiques ou symptomatiques dont le diagnostic n'aurait pas été établi. Toute mort subite rythmique récupérée expose le patient à un risque élevé de récidive et justifie l'implantation d'un défibrillateur automatique.

- Blood transfusion *per se* does not impact survival in AMI patients. A propensity-score analysis from the French FAST-MI 2005 Registry**

DUCROCQ G (1,2,3); PUYMIRAT E (4); STEG PG (1,2,3); HENRY P (5); MARTELET M (6); ENNEZAT PV (7); SCHIELE F (8); SIMON T (9); DANCHIN N (4)

1. AP-HP, Hôpital Bichat, Paris, France
2. Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. INSERM U-698, Paris, France
4. AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. AP-HP, Hôpital Lariboisière, Paris, France
6. Centre Hospitalier de Langres, Paris, France
7. GHM Grenoble, France
8. CHU Besançon, France
9. APHP, Hôpital Saint Antoine, Paris, France

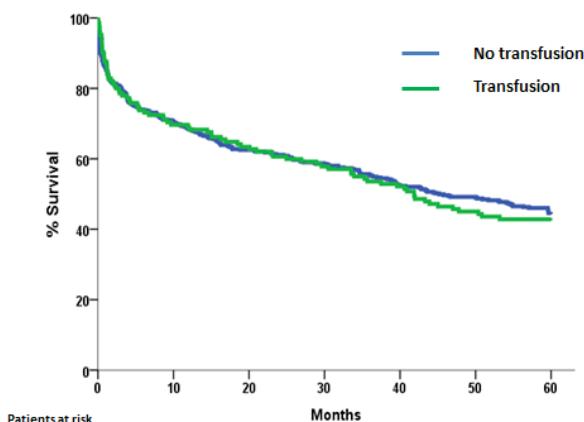
gregory.ducrocq@bch.aphp.fr

**Introduction:** An association between transfusion and subsequent mortality in acute coronary syndromes has been reported. Whether this increase in mortality reflects the prognostic role of anemia or of the bleeding event which led to transfusion or whether it indicates a deleterious effect of transfusion *per se* remains unclear.

**Methods:** Based on the FAST-MI 2005 French nationwide registry of myocardial infarctions we evaluated the in-hospital and long term impact of transfusion on mortality in patients with acute MI independently of the effect of anemia or bleeding. Multivariate analyses of predictors of outcomes were made. In addition, 2 cohorts of patients matched on propensity scores for getting transfusion were built.

**Results:** After multivariate analysis, anemia and bleeding were independently associated with 5-year mortality (respectively HR 1.4, 95% CI 1.2-1.6 and 1.4, 95% CI 1.1-1.8), whereas transfusion did not appear to be an independent predictor of 5-year mortality (HR 1.09, 95%CI 0.77-1.54). After propensity score matching, 5-year mortality was not significantly different (57% vs. 51.5%) in patients with vs. without transfusion (figure).

**Conclusion:** Use of transfusion was not associated with increased early or long-term mortality, nor with improved survival. These data therefore do not support any recommendation to either limit or favor the use of transfusion in the context of acute myocardial infarction



- **A history of stroke/transient ischemic attack indicates high risks of cardiovascular event and hemorrhagic stroke in patients with coronary artery disease**

DUCROCQ G (1,2,3); AMARENCO P(1,2,3); LABREUCHE J(1,2,3); ALBERTS M (4); MAS JL (5); OHMAN M (6); GOTO S(7); LAVALLEE P(1,2,3); BHATT DL(8); STEG PG (1,2,3)

1. AP-HP, Hôpital Bichat, Paris, France;

2. Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France;

3. INSERM U-698, Paris, France

4. Department of Neurology, Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, USA

5. Paris Descartes University, INSERM UMR S 894, Neurology department and Stroke Unit

Sainte-Anne Hospital, Paris, France

6. Duke Heart Center-Ambulatory Care, Director, Program for Advanced Coronary Disease

Duke University Medical Center, Durham, NC, USA

7. Department of Medicine (Cardiology), Tokai University School of Medicine, 143 Shimokasuya, Isehara, Kanagawa, Japan

8. VA Boston Healthcare System, Brigham and Women's Hospital, and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

gregory.ducrocq@bch.aphp.fr

**Introduction:** Randomized trials of antithrombotics in coronary artery disease (CAD) have identified prior stroke/TIA as a marker of increased intracranial bleeding risk. We aimed to further characterize the risk of ischemic and bleeding events associated with a history of stroke/TIA in patients with CAD.

**Methods:** From the international REACH registry of atherothrombosis, baseline characteristics and 4-year follow-up of 26 389 patients with CAD, including 4460 patients (16.9%) with a history of stroke/TIA, were analyzed.

**Results:** Patients with prior stroke/TIA had a higher rate of recurrent CV events (CV death, MI, or stroke) than patients without: adjusted HR (1.52, 95% CI, 1.40 to 1.65; p<0.001) and specifically of non-fatal ischemic stroke (adjusted HR 3.06; 95% CI, 2.62 to 3.57; p<0.001) and non-fatal hemorrhagic stroke rates (adjusted HR, 1.76; 95% CI, 1.00 to 3.08; p=0.05). Excess risk for non-fatal hemorrhagic stroke appeared confined to the 1<sup>st</sup> year following a stroke/TIA (adjusted HR, 3.03; 95% CI, 1.51 to 6.08 for the first year) and was particularly high in patients receiving dual antiplatelet therapy (adjusted HR 5.21; 95% CI, 1.24 to 21.90).

**Conclusion:** In patients with CAD, a history of stroke/TIA is associated with an independent increase in risk of death, MI, or stroke, including both ischemic and hemorrhagic stroke (the latter being smaller in absolute terms). This excess risk of hemorrhagic stroke is particularly high in patients receiving dual antiplatelet therapy and in the first year following stroke/TIA. This observation is important for selection of antithrombotic therapy in these patients.

- **A role for CD4<sup>+</sup>CXCR3<sup>+</sup> T cells and Plasmacytoid dendritic cells (pDCs) in atherosclerosis-associated with systemic Lupus Erythematosus (SLE)**

SACRE K<sup>1,2,3</sup>, ESCOUBET B<sup>4</sup>, CHARLES N<sup>2</sup>, CHAUVEHEID MP<sup>1</sup>, FRANCOIS C<sup>1</sup>, VANDERHAEGEN MC<sup>1</sup>, PAPO T<sup>1,2,3</sup>

1-University Paris Diderot; Assistance Publique Hopitaux de Paris; Department of Internal Medicine, Bichat Hospital, Paris, France

2-INSERM U699, Paris, France

3-Departement Hospitalo-Universitaire FIRE (Fibrosis, Inflammation and Remodelling in Renal and Respiratory Diseases), Bichat Hospital, Paris, France

4-University Paris Diderot; Assistance Publique Hopitaux de Paris; INSERM U872; Department of Physiology, Bichat Hospital, Paris, France

karim.sacre@bch.aphp.fr

**Introduction:** Accelerated atherosclerosis is not fully explained by traditional risk factors in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). We hypothesized that T cell expressing chemokine receptors involved in transendothelial migration such as CXCR3 and plasmacytoid dendritic cells (pDCs) may contribute to SLE-associated atherosclerosis.

**Methods:** We measured the expression of CXCR3 on peripheral blood mononuclear cells and its association with carotid artery intima-media thickness (IMT) in 49 SLE subjects and 18 controls. We analyzed the phenotype and function of CXCR3+CD4+ T cells, the plasma levels of CXCR3 ligands (CXCL9, CXCL10 and CXCL11) in SLE patients and controls, and the in vitro inducible production of CXCL9/10/11 by arterial endothelial cells.

**Results:** SLE patients displayed a high frequency of circulating CD4<sup>+</sup> T cells expressing the chemokine receptor CXCR3, as compared to controls. Infra-clinic atherosclerosis in SLE subjects, as assessed by measurements of carotid IMT, was significantly associated with increased frequency of CD4<sup>+</sup>CXCR3<sup>+</sup> T cell. Such CD4+CX3CR1+ T cells were antigen-primed, expressed IFN- $\alpha$  receptor and produced high levels of TNF- $\alpha$ . IFN- $\alpha$  was able to induce in vitro the expansion of CD4<sup>+</sup>CXCR3<sup>+</sup> T cells. On the other hand, plasma levels of CXCL9, CXCL10 and CXCL11 were high in SLE patients with an active disease. Eventually, TLR9-stimulated pDCs were found to produce IFN- $\alpha$  and induce the production of CXCL9, CXCL10 and CXCL11 by human arterial endothelial cells.

**Conclusion:** In SLE-associated atherosclerosis, IFN- $\alpha$  produced by stimulated pDCs may promote the expansion of CD4+CXCR3+ T cells and induce endothelial cells to secrete CXCL9/10/11, which may drive parietal migration of CD4+CXCR3+ T cells.

- **Higher prevalence of non-calcified thin-cap fibroatheroma plaques in acute coronary syndromes: Preliminary results from the BIOMarkers of CORonary Events (BIOCORE)-2 study**

Feldman L<sup>1,2</sup>, Tadros VX<sup>1,2</sup>, Duchatelle V<sup>1,2</sup>, Sorbets E<sup>3,2</sup>, Hyafil F<sup>3,2</sup>, Meilhac O<sup>2</sup>, Elbez Y<sup>1,2</sup>, Esposito-Farese M<sup>4</sup>, Tubach F<sup>4</sup>, Le Guludec D<sup>3,2</sup>, Steg PG<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cardiology Dept.

<sup>2</sup>INSERM U698

<sup>3</sup>Nuclear Medicine Dept.

<sup>4</sup>URC Paris Nord, Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val-de-Seine, site Bichat-Claude Bernard

laurent.feldman@bch.aphp.fr

**Introduction:** Coronary artery disease (CAD) remains the principal cause of death despite significant improvements in management of acute coronary syndromes (ACS) and secondary prevention. Identification of vulnerable atherosclerotic plaques –i.e., plaques at high risk of fibrous cap rupture and thrombosis, leading to myocardial infarction and sudden death – is therefore an important, yet elusive, goal. In the BIOCORE-2 study, we studied coronary atherosclerotic plaques of ACS and stable CAD patients using intravascular ultrasound – virtual histology (IVUS-VH) imaging, which provides both grey scale analysis of plaque anatomy and radiofrequency signal-based analysis of tissue composition. Our aim was to find signature phenotypes of vulnerable plaques.

**Methods:** Patients referred to our institution for non ST-elevation ACS (n=51) or stable CAD (n=34) with intended percutaneous coronary intervention (PCI) were enrolled. IVUS-VH analysis of all non-culprit plaques with a plaque to vessel area ratio (plaque burden)  $\geq 40\%$  located in the 3 principal coronary arteries was performed before PCI. In the absence of a gold-standard to identify vulnerable plaques, we searched for IVUS-VH factors associated with ACS presentation.

**Results:** A total of 279 atherosclerotic plaques (total length ~9 m) were studied. Plaque anatomy (including plaque to vessel volume ratio, % area stenosis, and mean and maximum plaque burden) did not differ between the 2 groups. However, a higher prevalence of non-calcified thin-cap fibroatheroma plaques (NC-TCFA, 23% vs. 12%) and a lower prevalence of calcified TCFA plaques (C-TCFA: 47% vs. 63%) were observed in ACS vs. stable CAD patients. NC-TCFA plaque type was associated with a higher risk (odd ratio: 2.2, 95% CI: 1.1-4.7, p=0.028), and C-TCFA plaque type was associated with a lower risk (odd ratio: 0.5, 95% CI: 0.3-0.9, p=0.015) of being in the ACS group, using unadjusted analyses.

**Conclusions:** NC-TCFA plaques are more prevalent in ACS than in stable CAD patients. Further imaging studies are needed to better define the structure and biological activities of NC-TCFA plaques. Ultimately, only prospective studies will tell whether NC-TCFA plaques are associated with increased risk of ACS and sudden death.

- Impact of onset-to-reperfusion time on stroke mortality: a collaborative pooled analysis.

Mazighi M, Chaudhry SA, Ribo M, Khatri P, Skoloudik D, Mokin M, Labreuche J, Meseguer E, Yeatts SD, Siddiqui AH, Broderick J, Molina CA, Qureshi AI, Amarenco P.

**BACKGROUND:** Onset-to-reperfusion time has been reported to be associated with clinical prognosis. However, its impact on mortality remained to be assessed. Using a collaborative pooled analysis, we examined whether early mortality after successful endovascular treatment is time dependent.

**METHODS AND RESULTS:** In a collaborative pooled analysis of 7 endovascular databases, we assessed the impact of onset-to-reperfusion time in large-artery occlusion (internal carotid artery or middle cerebral artery) on outcomes. Successful reperfusion was defined as complete or partial restoration of blood flow within 8 hours from symptom onset. Primary outcome was 90-day all-cause mortality. Secondary outcomes included 90-day favorable outcome (modified Rankin Scale score, 0-2), 90-day excellent outcome (modified Rankin Scale score, 0-1), and occurrence of any intracerebral hemorrhage within 24 to 36 hours after treatment. A total of 480 cases with successful reperfusion (median time, 285 minutes) contributed to the present pooled analysis (120 with internal carotid artery occlusion and 360 with isolated middle cerebral artery occlusion). Increasing onset-to-reperfusion time was associated with an increased rate of mortality and intracerebral hemorrhage and with a decreased rate of favorable and excellent outcomes, without heterogeneity across studies. The adjusted odds ratio for each 30-minute time increase was 1.21 (95% confidence interval, 1.09-1.34;  $P<0.001$ ) for mortality, 0.79 (95% confidence interval, 0.72-0.87) for favorable outcome, 0.78 (95% confidence interval, 0.71-0.86) for excellent outcome, and 1.21 (95% confidence interval, 1.10-1.33) for intracerebral hemorrhage.

**CONCLUSION:** Onset-to-reperfusion time affects mortality and favorable outcome and should be considered the main goal in acute stroke patient management.

- **Impact d'un syndrome cardiorénal sur la mortalité en attente de greffe cardiaque à l'ère de l'assistance circulatoire mécanique**

DORENT R (1,2), JASSERON C (2), AL KHODER S (1), KIRSCH M (1), DILLY MP (3), WOLFF M (4), VAHANIAN A (5), NATAF P (1)

1 Service de chirurgie cardiovasculaire, Hôpital Bichat, Paris

2 Agence de la biomédecine, Saint Denis

3 Département d'anesthésie réanimation, Hôpital Bichat, Paris

4 Service de réanimation médicale et infectieuse, Hôpital Bichat, Paris

5 Département de cardiologie, Hôpital Bichat, Paris

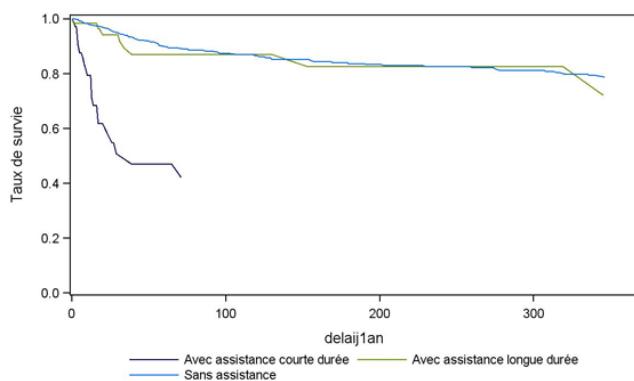
richard.dorent@bch.aphp.fr

**INTRODUCTION:** La présence d'un syndrome cardiorénal est en facteur de mauvais pronostic chez les insuffisants cardiaques. Les dispositifs d'assistance circulatoire mécanique de longue durée (ACM) sont de plus en plus largement utilisés en pont vers la transplantation alors que leur utilisation est associée à une amélioration de la fonction rénale.

**METHODES:** Le but de cette étude a été de déterminer si le débit de filtration glomérulaire (DFG) est un facteur de risque de décès ou de sortie de liste pour aggravation chez les malades avec et sans assistance circulatoire inscrits en liste d'attente. Les variables saisies dans la base de données CRISTAL à l'inscription pour les nouveaux inscrits en France entre 1/2010 et 12/2011 ont été analysées. Le taux de survie a été estimé par la méthode de Kaplan-Meier. Un modèle de Cox a été utilisé pour l'analyse multivariée des facteurs de risque de décès ou de sortie de liste pour aggravation.

**RESULTATS:** Au total 895 malades ont été inscrits en attente pendant la période, 724 sans assistance circulatoire, 110 avec une assistance de courte durée, 61 avec une ACM. Le taux de survie à 1 mois était respectivement de 95%, 51% et 94%. (Figure). Les variables associées au critère de jugement en analyse multivariée pour les malades sans assistance étaient une hospitalisation, un diabète, la ventilation invasive, la bilirubine, l'hématocrite, la natrémie et le DFG ( $p=0.03$ ) et celles pour les malades avec une ACM la ventilation invasive, un diabète et la natrémie.

**CONCLUSION:** La mortalité des candidats à une greffe cardiaque avec une ACM est meilleure que celle des malades avec une assistance de courte durée. Les variables prédictives du risque d'évolution défavorable pendant l'attente dont le DFG diffèrent entre les malades sans assistance et ceux avec une ACM.



- **Increased arterial stiffness in systemic lupus erythematosus (SLE) patients at low risk for cardiovascular disease: a cross-sectional controlled study**

SACRE K (1,2,3), ESCOUBET B (4), PASQUET B (5), CHAUVEHEID MP (1), FRANCOIS C (1), VANDERHAEGEN MC (1), TUBACH F(5), PAPO T (1,2, 3)

1-University Paris Diderot; Assistance Publique Hopitaux de Paris; Department of Internal Medicine, Bichat Hospital, Paris, France

2-INSERM U699, Paris, France

3-Département Hospitalo-Universitaire FIRE (Fibrosis, Inflammation and Remodelling in Renal and Respiratory Diseases), Bichat Hospital, Paris, France

4-University Paris Diderot; Assistance Publique Hopitaux de Paris; INSERM U872; Department of Physiology, Bichat Hospital, Paris, France

5- University Paris Diderot, Assistance Publique Hopitaux de Paris, Department of Epidemiology and Clinical Research, INSERM CIE 801, Bichat Hospital, Paris, France

karim.sacre@bch.aphp.fr

**Introduction :** Cardiovascular disease (CVD) is a major cause of mortality in systemic lupus erythematosus (SLE) patients. Arteries reduced elasticity stands as a marker for cardiovascular disease. We aimed to evaluate risk factors associated with arterial stiffness in patients with SLE and a low risk for CVD according to traditional risk factors.

**Methods :** Carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) was prospectively assessed, as a measure of arterial stiffness, in 41 SLE patients and 35 age- and sex-matched controls. Vascular evaluation included measurements of internal carotid artery wall thickness (ICWT) and carotid plaques. Traditional and non-traditional risk factors for CVD were analysed.

**Results :** SLE patients and controls displayed a low 10-year risk for CVD (mean 1.8+3.6% in SLE vs 1.6+2.9% in controls, p=0.46). Both PWV (p=0.01 after Framingham score adjustment) and ICWT (p=0.003 after Framingham score adjustment) were higher in SLE patients as compared to controls. Eight (19.5%) SLE patients but only 1 (2.9%) control displayed carotid atherosclerotic plaques (p=0.03). In multivariable regression analysis, only systolic blood pressure ( $r=0.67$ , 95% CI 0.44-0.81;  $p=0.0005$ ) and cumulative dose of glucocorticoids ( $r=0.38$ , 95% CI 0.07-0.61;  $p=0.01$ ) were associated with PWV. Interestingly, the negative impact of SBP on arterial stiffness remained true in SLE patients without high systolic blood pressure ( $r=0.50$ ,  $p=0.006$ ) and was higher in SLE patients as compared to controls ( $p=0.0004$ ).

**Conclusion :** Arterial stiffness is increased in SLE patients despite a low risk for CVD and correlated with systolic blood pressure and glucocorticoid therapy.

- **H<sub>2</sub>S regulates vascular wall remodeling by decreasing PGE<sub>2</sub> and then MMP-1 activity**

GOMEZ I (1,2); ROGER T (3); BENYAHIA C (1,2); GALARDON E (3); LONGROIS D (1,4); NOREL X (1,2)

(1) Inserm U698, CHU X. Bichat, Paris, France

(2) Paris 13 Univ., Villetteuse, France

(3) Paris 5 Univ., UMR 8601 CNRS, France

(4) Paris 7 Univ., CHU X. Bichat, ICU, France

xnrel@hotmail.com

**Introduction:** Varicose vein is one of the most common diseases in western country. Nevertheless, its pathogenesis is still poorly known. Our recent study has demonstrated that prostaglandin (PG) E<sub>2</sub> synthesis was decreased in varicose veins, when compared with healthy saphenous veins (SV) and leads to the reduction metalloproteinase (MMP) 1 activation. Recent investigations have shown that hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S, produced by CSE enzyme) has a protective role in the cardiovascular system and can regulates PGE<sub>2</sub> synthesis. The aim of this study is to investigate the role of H<sub>2</sub>S and PGE<sub>2</sub> on the vascular wall remodelling of varicose veins.

**Methods:** Human tissue SV (n=15) and varicose veins (large (LDv) and small (SDv) diameter varicosities from the same patients, n=16) were obtained at Bichat hospital. Endogenous H<sub>2</sub>S release was measured by a polarographic method. The CSE activity was demonstrated using L-Cysteine stimulation ( $10^{-5}$  to  $10^{-3}$  M with or without a CSE inhibitor, beta cyano-L-alanine (BCA). Measurements for PGE<sub>2</sub>, MMP and TIMP concentration in varicose veins and SV supernatant were realised by ELISA after a 24h incubation with different treatments (H<sub>2</sub>S  $10^{-5}$  to  $10^{-2}$  M and BCA  $10^{-5}$  to  $10^{-3}$  M).

**Results:** Endogenous H<sub>2</sub>S was significantly increased in SDv and even more in LDv when compared to SV. After L-Cysteine stimulation the production was also significantly greater in varicose veins than in SV, this production was inhibited by BCA. A significant decrease of PGE<sub>2</sub> concentration in supernatant of varicose veins was detected, PGE<sub>2</sub> production in all tissue was significantly inhibited by H<sub>2</sub>S. The BCA incubation restores PGE<sub>2</sub> concentration in varicose veins at the same level than SV. Furthermore, the MMP-1 activity was reduced in varicose veins when compared with SV, and activity was significantly reduced with H<sub>2</sub>S. In contrast, TIMP-1 / -2 are significantly higher in varicose veins, their expression were increased with H<sub>2</sub>S and reduced in presence of BCA.

**Conclusion:** In varicose veins, the increase of the endogenous H<sub>2</sub>S content leads to a decreased PGE<sub>2</sub> content. Furthermore, this PGE<sub>2</sub> regulation will control MMP activity in varicose remodeling. Our results suggest that the lower PGE<sub>2</sub> concentrations measured in varicose veins could be due to an increased H<sub>2</sub>S content and then reduce MMP-1 activity. These results could explain the vascular wall remodelling observed during varicose veins pathogenesis.

- **Platelets limit the histotoxic activities of infiltrating neutrophils and act as vascular healing patches in inflamed tissues**

Benoît Ho-Tin-Noé<sup>1,2</sup>, Lamia Lamrani<sup>1,2</sup>, Véronique Ollivier<sup>1,2</sup>, Stéphane Loyau<sup>1,2</sup>, Jean-Baptiste Michel<sup>1,2</sup>, Martine Jandrot-Perrus<sup>1,2</sup>.

From:

<sup>1</sup>Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Inserm UMR698, 75018 Paris, France

<sup>2</sup>AP-HP, Hop Bichat Claude Bernard, 75018 Paris

**Introduction:** Platelets are now recognized as major actors of innate and adaptive immune responses. In particular, it is well established that platelets support leukocyte infiltration into diseased tissues in various pathophysiological situations such as cancer, atherosclerosis, dermatitis, stroke, and acute lung injury. In addition to this leukocyte supporting action, platelets exert protective effects on vessels at sites of leukocyte infiltration, resulting in prevention of tissue hemorrhage. Thus, although platelets promote leukocyte infiltration through the activated endothelium, notably by loosening endothelial junctions and supporting endothelial activation, they also play a highly positive, vascular protective role in inflamed tissues.

**Methods:** Here, using immune complexes-induced acute dermatitis and peritonitis, as well as in vitro experiments using isolated human platelets and neutrophils, we investigated the role of platelets in regulating the histotoxic activities of infiltrating neutrophils.

**Results:** We show that GPVI-dependent early recruitment of platelets to the activated endothelium is required for prevention of neutrophil-induced bleeding during immune complexes-induced dermatitis. We further show that although thrombocytopenic mice display reduced neutrophil infiltration in inflamed skin and peritoneal cavity, they are also characterized by an increased activation of infiltrating neutrophils, as indicated by the increased release of myeloperoxidase and elastase by their neutrophils, as compared to that of control mice. The ability of platelets to counter neutrophil-derived histotoxic activities was confirmed by co-incubating isolated human neutrophils and platelets, in the presence or absence of the pro-inflammatory cytokine TNF-alpha. Using pharmacological inhibitors of GPVI, we found that this anti-neutrophil action of platelets was independent of GPVI.

**Conclusion:** Together, our results indicate that although platelets favour neutrophil infiltration, they also limit the histotoxic activities of infiltrating neutrophils and act as vascular healing patches in inflamed tissues, thus limiting vascular injuries and bleeding.

- **Targeting the Hedgehog/GLI pathway decreases fibrosis in bleomycin-induced lung fibrosis: a new therapeutic approach for idiopathic pulmonary fibrosis**

E. FARROKHI MOSHAI<sup>1</sup>, L. WEMEAU-STERVINOU<sup>1</sup>, N. CIGNA<sup>1</sup>, J. MARCHAL-SOMME<sup>1</sup>, P. SOLER<sup>1</sup>, B. CRESTANI<sup>1, 2</sup>, AA. MAILLEUX<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm U700, UFR de Médecine, Université Paris Diderot, Paris

<sup>2</sup>Service de Pneumologie A, Hôpital Bichat, Paris

elika.farrokhi@inserm.fr

**Introduction:** Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF) has been associated with aberrant reactivation of developmental pathways, namely the Hedgehog (HH) pathway, which is involved in epithelial cells-fibroblasts interaction. We reported that the activation of the HH pathway, from Smoothened (SMO, the mandatory transducer of the pathway) to the transcription factors GLI in the nucleus is required for the TGF- $\beta$ 1 induced myofibroblastic differentiation in human lung fibroblasts (Cigna et al. Am J Pathol 2012;181:2126).

**Aims:** We hypothesized that inhibition of the HH pathway could decrease bleomycin-induced fibrosis in mice.

**Methods :** After intratracheal injection of bleomycin, C57Bl6 mice were treated either with cyclopamine (CYC, an inhibitor of SMO) or with GANT-61 (an inhibitor of GLI transcription factors in the nucleus). At day 14, whole lung homogenates were obtained for morphological analysis, collagen quantification and evaluation of profibrotic (TGF- $\beta$ 1, CTGF, PAI-1, VEGF) and inflammatory mediators (IL-1 $\beta$ ).

**Results:** We showed that the HH pathway was activated in bleomycin-induced lung fibrosis, with increased mRNA expression and nuclear localization of GLI1 and GLI2 on day 14. Inhibition of SMO with CYC increased lung fibrosis and induced a profibrotic and proinflammatory environment. By contrast, the inhibition of GLI activity with GANT-61 decreased fibrosis histological score, collagen content, collagen expression and promoted an anti-fibrotic and anti-inflammatory environment.

**Conclusions:** Inhibition of the HH pathway targeting GLI transcriptional activity may be seen as a potential therapeutic target in IPF.

- Les cellules souches mésenchymateuses réduisent l'apoptose des cellules épithéliales alvéolaires induite par l'hypoxie en modulant la signalisation antioxydante

Bernard O\*, Jeny F\*, Dondi E†, Uzunhan Y\*, Sivarajah S\*, Vanneaux V#, Larghero J#, Nunès H\*, Planès C\*, et Dard N\*¶

\* Réponses Cellulaires et Fonctionnelles à l'Hypoxie, EA2363, Univ. Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Bobigny, France.

# Institut de Thérapie Cellulaire, Hôp. St-Louis, AP-HP, Univ. Paris 7, Sorbonne Paris Cité, Paris, France.

† ASIH, UMR INSERM 978, Univ. Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Bobigny, France.

nicolas.dard@univ-paris13.fr

**Introduction:** L'apoptose massive des cellules épithéliales alvéolaires (CEA) observée lors des agressions alvéolaires aiguës et/ou fibrosantes compromet gravement l'efficacité de la réparation alvéolaire. Ce phénomène est vraisemblablement favorisé par l'hypoxie (HX) alvéolaire. De façon intéressante, l'administration de cellules souches mésenchymateuses humaines (hCSM) dérivées de moelle osseuse limite l'inflammation, la fibrose et la mortalité dans divers modèles murins d'agression alvéolaire par un mécanisme encore mal compris.

Notre **hypothèse** est que les hCSM favorisent la réparation alvéolaire après lésion en limitant l'apoptose des CEA induite par l'hypoxie, via une modulation de la signalisation hypoxique des CEA (facteurs de transcription HIF $\alpha$ , production d'espèces réactives de l'O<sub>2</sub>).

**Méthodes:** Des CEA de rat cultivées sur filtres semi-perméables ou en fonds de puits ont été exposées à une hypoxie sévère (HX, 1,5% O<sub>2</sub>) ou à la normoxie pendant 24h à 48h, en présence ou non de milieu conditionné de hCSM (MC-hCSM) ou d'antioxydant (N-acétyl-cystéine, NAC). L'apoptose des CEA, l'expression d'HIF $\alpha$  et l'activité des enzymes antioxydantes ont été analysées.

**Résultats:** L'apoptose des CEA induite par l'HX est en grande partie prévenue lorsque les CEA sont co-cultivées avec des hCSM, ou incubées avec le MC-hCSM ou la NAC. L'activité des enzymes antioxydantes (catalase, glutathion peroxydase) de CEA exposées à l'HX est augmentée en présence de MC-hCSM. L'incubation des CEA avec le MC-hCSM ou la NAC réduit l'expression d'HIF2 $\alpha$  induite par l'HX. L'effet anti-apoptotique du MC-hCSM est conservé lorsque le MC-hCSM est déplété en Keratinocyte Growth Factor (KGF).

**Conclusion:** Les hCSM réduisent l'apoptose des CEA induite par l'HX, par un effet paracrine indépendant du KGF. Cet effet pourrait être dû à une stimulation de l'activité des enzymes antioxydantes des CEA permettant de limiter l'accumulation délétère des espèces réactives de l'O<sub>2</sub> et l'expression d'HIF2 $\alpha$  au cours de l'HX. L'effet anti-apoptotique des hCSM sur les CEA pourrait en partie expliquer leur effet bénéfique en cas d'agression alvéolaire.

Financement : Legs Poix, Université Paris 13

- **Rôle de la Transglutaminase 2 (TG2) dans la fibrogénèse sous-épithéliale dans l'asthme**

ARUMUGAM G.<sup>(1)</sup>, BRARD J.<sup>(1)</sup>, GRANDSAIGNE M.<sup>(1)</sup>, HAMIDI F.<sup>(1)</sup>, CASTIER Y.<sup>(2)</sup>, TAILLE C.<sup>(1,3)</sup>, AUBIER M.<sup>(1,3)</sup>, PRETOLANI M.<sup>(1)</sup>, LETUVE S.<sup>(1)</sup>

(1) Inserm UMR700, site Bichat de la Faculté de Médecine, Université Paris Diderot, France

(2) Service de Chirurgie Thoracique, CHU Bichat Claude-Bernard, Paris, France

(3) Service de Pneumologie A, CHU Bichat Claude-Bernard, Paris, France.

garthiga.arumugam@inserm.fr

**Introduction:** L'asthme est caractérisé par une fibrose sous-épithéliale impliquant la production de médiateurs fibrogéniques, tel le Transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1. La transglutaminase 2 (TG2) catalyse des modifications irréversibles des protéines matricielles conduisant à leur polymérisation et interférant avec leur protéolyse, et est un inducteur de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) impliquée dans la génération de fibroblastes. Notre hypothèse est que la production de TG2 par l'épithélium bronchique contribue à la fibrose sous-épithéliale dans l'asthme.

**Méthodes:** La TG2 et son produit catalytique, l'isopeptide N $\epsilon$ -(Y-L-glutamyl)-L-lysine, ont été étudiés par immunohistochimie dans les biopsies bronchiques de sujets témoins ( $n = 12$ ) et d'asthmatiques sévères ( $n = 26$ ). L'expression de la TG2 (qPCR et western blot) a été analysée dans les cellules épithéliales (CEBs) obtenues de biopsies bronchiques et différenciées en interface air-liquide (ALI). Des CEBs provenant de pièces d'exérèse chirurgicale de greffes pulmonaires ont été stimulées avec du TGF- $\beta$ 1 (5 ng/mL) en présence ou non de dexaméthasone (10  $\mu$ M), et l'expression et la localisation de la TG2 (fractionnement cellulaire et cytométrie en flux) ont été analysées. Le rôle de la TG2 dans la TEM induite par le TGF- $\beta$ 1 (expression de Vimentine et des E- et N-cadhérines par qPCR et immunofluorescence) et la production de protéines matricielles (western-blot) ont été évaluées à l'aide d'ARNs d'interférence.

**Résultats:** Dans les biopsies bronchiques, la TG2 était localisée dans l'épithélium et le mésenchyme, l'isopeptide étant essentiellement détecté dans la sous-muqueuse en association avec la matrice extracellulaire. Les niveaux d'expression des transcrits de la TG2, mais non de la protéine, étaient augmentés dans les CEBs différencierées provenant d'asthmatiques sévères, comparativement à celles des sujets sains, et correlaient avec ceux des ARNm du TGF- $\beta$ 1. La TG2 était inducible par le TGF- $\beta$ 1 dans les CEBs contrôles et était alors localisée essentiellement dans le cytoplasme et les membranes, ainsi qu'à la surface cellulaire et dans les surnageants de culture. Au cours d'expériences préliminaires, nous avons observé que la dexaméthasone ne bloquait pas l'induction de TG2 par le TGF- $\beta$ 1, voire la potentialisait. La déplétion de la TG2 n'a pas empêché l'induction de TEM des CEBs en réponse au TGF- $\beta$ 1. L'induction de TG2 était associée à la production de formes multimériques de collagène et de fibronectine par les CEBs.

**Conclusion:** L'augmentation de production de TG2 par l'épithélium bronchique exposé au TGF- $\beta$ 1 pourrait participer à la fibrose tissulaire dans l'asthme sévère en favorisant l'accumulation de matrice extracellulaire au niveau sous-épithelial.

- **Le FGF9 est exprimé dans le poumon au cours de la fibrose pulmonaire idiopathique et module l'activation des fibroblastes pulmonaires**

A Joannes<sup>1</sup>, J Marchal-Somme<sup>1</sup>, B Crestani<sup>1,2</sup>, AA Mailleux<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INSERM U700, UFR de Médecine Xavier Bichat, Paris

<sup>2</sup>Service de Pneumologie, Hôpital Bichat, Paris

audrey.joannes@inserm.fr

**Introduction:** La fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) est une maladie rare avec une médiane de survie faible après le diagnostic et peu d'opportunités thérapeutiques. Au cours de la FPI, il existe une réactivation des voies impliquées au cours de l'ontogenèse pulmonaire. Parmi ces voies, la voie des Fibroblast growth factor (FGF), joue un rôle important dans les interactions entre les cellules épithéliales et les cellules mésenchymateuses. Ainsi, le FGF9 produit par l'épithélium distal alvéolaire et le mésothélium est nécessaire au développement du poumon. L'objectif de ce travail est de mettre en évidence le rôle du FGF9 dans la FPI et plus particulièrement dans les interactions entre l'épithélium/mésothélium et les fibroblastes.

**Matériel et methods:** Par PCRq et par immunohistochimie nous avons évalué le niveau d'expression et la localisation du FGF9, de ses récepteurs (FGFR2,-3,-4) et de leurs inhibiteurs (Sprouty1,-2,-4 ; Spred 1-2) dans des échantillons pulmonaires provenant de patients atteint de FPI (N=11) et de patients témoins (N=8) et dans des fibroblastes pulmonaires issus de biopsies de patients témoins et FPI avant et après stimulation par le TGF-β (1ng/ml). Nous avons étudié l'effet du FGF9 sur la prolifération, la migration et de la différenciation myofibroblastique des fibroblastes pulmonaires de témoins et de FPI.

**Résultats:** Nous détectons le FGF9 dans l'épithélium, les foyers fibroblastiques et dans les cellules mésothéliales pleurales de patients FPI. En PCRq, nous avons observé une diminution du contenu de l'ARNm de *FGF9* dans les biopsies de patients FPI par rapport aux patients témoins. L'expression des récepteurs *FGFR1IIIc*, *2IIIb*, *3IIIb* et -4 ainsi que des inhibiteurs des FGF (*SPRY2* et *SPRED 1*) est aussi diminuée.

*In vitro*, l'expression du FGF9 n'est pas modifiée par le TGF-β. Le FGF9 n'influence pas la prolifération des fibroblastes. En revanche, le FGF9 stimule la migration des fibroblastes témoins et FPI dans un modèle de chambre de Boyden modifiée ainsi que dans un modèle de migration sur matrices produites par des fibroblastes. L'augmentation des capacités migratoires des fibroblastes en présence de FGF9 est associée à l'activation de la voie ERK1/2. Dans des expériences préliminaires réalisées, le FGF9 diminue l'expression de *COL1A1* et de *ACTA2* par les fibroblastes témoins.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que le FGF9 contrôle le phénotype des fibroblastes en inhibant la différenciation myofibroblastique et en favorisant leur migration.

- **Neural mechanisms underlying breathing complexity**

HESS A (1,2), YU L (1,3), KLEIN I (2,4), DE MAZANCOURT M (1,5), JEBRAK G (6), MAL H (6), BRUGIERE O (6), FOURNIER M (6), COURBAGE M (1), DAURIAT G (6), SCHOUMAN-CLAYES E (2), CLERICI C (7,8), MANGIN L (1,7,9)

(1) Laboratoire Matière et Systèmes complexes, UMR 7057, Université Paris 7

(2) Service de Radiologie, APHP Hôpital Bichat

(3) Institute of Theoretical Physics, Lanzhou University, China

(4) Unité Inserm 698, Université Paris 7;(5) Ecole Normale Supérieure, Paris

(6) Service de Pneumologie B, APHP Hôpital Bichat, Paris

(7) Département de Physiologie-Explorations fonctionnelles, APHP Hôpital Bichat

(8) Unité Inserm 700, Université Paris 7 ;(9) Centre d'Investigation Clinique APHP Hôpital Bichat

**Introduction:** Breathing is maintained and controlled by a network of automatic neurons in the brainstem that generate respiratory rhythm and receive regulatory inputs. Breathing complexity therefore arises from respiratory central pattern generators modulated by peripheral\*\* and supra-spinal inputs. Little is known on the brainstem neural substrates underlying breathing complexity in humans. We used both experimental and theoretical approaches to decipher these mechanisms in healthy humans and patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

**Methods, Results:** We found that the patients breathed with a higher level of complexity during inspiration (Insp) and expiration (Exp) than controls. Using functional magnetic resonance imaging (fMRI), we scanned the brain of the participants to analyze the activity of two small regions involved in respiratory rhythmogenesis, the rostral ventro-lateral medulla (VLM) (pre-Bötzinger complex) and the caudal VL pons (VLP) (parafacial group). fMRI revealed in controls higher activity of the VLM suggesting active Insp, while in patients higher activity of the VLP suggesting active Exp. COPD patients reactivate the parafacial to sustain ventilation. These findings may be involved in the onset of respiratory failure when the neural network becomes overwhelmed by respiratory overload. Central neural activity correlates with airflow complexity in controls and patients. We used the theoretical approach of respiratory rhythmogenesis to reproduce the kernel activity of neurons involved in the automatic breathing in controls and COPD. The model reveals how a chaotic activity in neurons contributes to chaos in airflow and reproduces key experimental fMRI findings.

**Conclusion:** Identifying the activity of the respiratory pacemakers through both experimental (airflow complexity and functional imaging technique) and theoretical approaches open new strategy to refine COPD patient phenotype.(Funding:PHRC,BQRParis 7,Fondation du Souffle)

\*PLoS ONE 2013 minor revision; \*\*PLoS ONE 2011;6(1):e16297

- **Rôle d'une SERPINE, la protéase nexine-1 (PN-1), dans les remodelage tissulaire : Application à la Fibrose Pulmonaire Idiopatique.**

FRANCOIS D. (1), VENISSE L. (1), MARCHAL-SOMME J. (2), CRESTANI B. (2), BOUTON MC. (1)

(1) INSERM U698, CHU X.Bichat, Paris, France

(2) INSERM U700, CHU X.Bichat, Paris, France

deborah.francois@inserm.fr

**Introduction:** La fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) est caractérisée par l'accumulation anormale de myofibroblastes, de protéines de la matrice extracellulaire (MEC) et de fibrine dans le tissu pulmonaire. La PN-1 est une Serpine tissulaire produite par de nombreux types cellulaires, dont les fibroblastes pulmonaires et est capable d'inhiber la thrombine, la plasmine, les activateurs du plasminogène tPA et uPA. Sa présence au sein du poumon, ainsi que sa capacité à réguler la coagulation et la fibrinolyse (Blood. 2010, 115, 97-106, Circulation, 2011, 123, 1326-1334.), suggère que la PN-1 pourrait avoir une fonction régulatrice dans la FPI.

**Méthodes:** Des analyses biochimiques de l'expression de la PN-1 et des protéines de la MEC (PCR temps réel, Immunoblot, activité anti-protéase, Immuno-histochimie) ont été réalisées sur des fibroblastes pulmonaires contrôle ou provenant de biopsies de patients atteints de FPI, ainsi que sur des extraits de tissus pulmonaires et des lavages broncho-alvéolaires (LBA) de patients.

**Résultats:** Nous avons ainsi mis en évidence une surexpression de la PN-1 (ARNm et protéine) dans les fibroblastes fibreux. Cette surexpression de PN-1 peut être reproduite lors de la stimulation de fibroblastes contrôles par le TGF $\beta$ , cytokine pro-fibrosante fortement impliquée dans le développement de la FPI. La PN-1 surexprimée est non seulement liée à la surface des cellules via son affinité pour les glycosaminoglycanes, mais est aussi détectée dans les milieux conditionnés des cellules, mettant ainsi en évidence sa sécrétion lors d'une surexpression par les fibroblastes. La PN-1, liée aux cellules ou secrétée, est fonctionnelle puisqu'elle est capable d'inhiber la thrombine. Cette surexpression de PN-1 est également observée dans les LBA de patients atteints de FPI, ainsi que dans les extraits tissulaires provenant de biopsies pulmonaires des patients. Nous avons par ailleurs démontré par des expériences de transfection vectorielle des fibroblastes que la surexpression de PN-1 induit une surexpression de certaines protéines de la matrice extracellulaire : le collagène 1 $\alpha$ 2 et la fibronectine.

**Conclusions:** Nous avons mis en évidence une surexpression de la PN-1 dans les tissus et fibroblastes pulmonaires fibreux et que cette surexpression de PN-1 induit une surexpression de certaines protéines matricielles. Ces résultats indiquent que la PN-1 représente un nouvel acteur du remodelage tissulaire.

- **Forkhead Box F1 is overexpressed in Idiopathic Pulmonary Fibrosis and controls lung fibroblast phenotype**

Laurent Plantier

INSERM UMR700, Paris, France ; Université Paris Diderot, Paris, France ; AP-HP, Hôpital Bichat, Service de Physiologie-Explorations fonctionnelles

**Introduction:** In the lung, tight control of mesenchymal cell phenotype is required for both fetal development and homeostasis in the adult. Forkhead Box F1 (FOXF1) is a transcription factor expressed in fetal lung mesenchyme, which is required for lung development. Mining of publicly available transcriptome databases suggests FOXF1 overexpression in lung fibroblasts from patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF). We hypothesised that FOXF1 modulates phenotype of adult lung fibroblasts with relevance to fibrotic lung disease.

**Methods:** FOXF1 expression was determined by immunohistochemistry, fluorescence confocal microscopy, western blotting and RTPCR in tissue samples and in primary fibroblasts obtained by the explant method, from normal lung and idiopathic pulmonary fibrosis lungs. *In vitro*, FOXF1 expression was induced or repressed in fibroblasts by transfection of expression plasmids, siRNAs, or lentiviral vectors. Proliferation, migration, collagen-1 (COL1) synthesis, global gene expression and the ability of fibroblasts to colonize mouse lungs were determined.

**Results:** In normal lungs, FOXF1 expression was detected by immunohistochemistry in smooth muscle, endothelium of pulmonary arteries, and 44±2% of alveolar septal cells. Confocal microscopy of alveolar septa showed FOXF1 expression restricted to cells lacking epithelial (cytokeratin) and leucocyte (CD45) markers; 80±5% of FOXF1-positive cells expressed CD31, an endothelial marker. A similar pattern was observed in normal regions of IPF lungs, whereas FOXF1 expression was prominent in 49% of fibroblastic foci. *In vitro*, FOXF1 mRNA and protein were expressed at higher levels in IPF compared to normal lung fibroblasts. In normal lung fibroblasts, FOXF1 knockdown induced proliferation, repressed FAS-induced apoptosis, and increased expression of COL1 mRNA and protein, whereas FOXF1 expression induced migration and repressed COL1. *Ex vivo*, FOXF1 knockdown increased survival of human lung fibroblasts into uninjured mouse lungs. mRNA microarrays and subsequent RTPCR validation identified Actin-Related Protein 2/3 Complex Subunit 2 (ARPC2) as a putative FOXF1 target. ARPC2 knockdown repressed fibroblast viability and COL1 expression, consistent with a role in the mediation of the FOXF1-induced phenotype.

**Conclusion:** FOXF1 expression was maintained in adult lung where it was restricted to cell types consistent with mesenchymal specificity. In normal lung fibroblasts, FOXF1 acted as a tumor suppressor and regulated core cellular functions such as collagen expression, with ARPC2 as a candidate downstream effector. Pro-migratory functions of FOXF1 suggest that heritable FOXF1 overexpression in IPF lung fibroblasts may participate in spatial progression of the disease.

Acknowledgments: This work was supported by grants from CARDIF and Assistance Publique-Hôpitaux de Paris.

- **SAOS dans l'asthme sévère non contrôlé : prévalence et influence sur les caractéristiques de l'asthme.**

TAILLÉ C<sup>1</sup>, ROUVEL-TALLEC A.<sup>2</sup>, STOICA M.<sup>2</sup>, DANIEL C.<sup>3</sup>, DEHOUX M.<sup>4</sup>, AUBIER M.<sup>1</sup>, D'ORTHO M.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Service de Pneumologie A

<sup>2</sup>Centre du Sommeil, Service de Physiologie-Explorations Fonctionnelles

<sup>3</sup>Service d'Anatomopathologie

<sup>4</sup>Service de Biochimie, Hôpital Bichat, Paris, France

**Introduction:** Un risque élevé de syndrome d'apnées obstructives du sommeil (SAOS) chez les patients asthmatiques non-contrôlés par le traitement a été rapporté (1), mais la prévalence du SAOS et les caractéristiques des patients n'ont pas été systématiquement étudiées.

**Méthodes:** 47 patients asthmatiques sévères non contrôlés (ACT<20) se plaignant de fatigue ou de symptômes nocturnes ont été évalués prospectivement par polygraphie ventilatoire nocturne. La présence d'un SAOS était définie par un index d'apnées-hypopnées (IAH) > 5.h-1, dont 80% d'évènements obstructifs.

**Résultats:** La prévalence du SAOS était de 49%(23/47). L'IAH median du groupe SAOS était de 12 [5-35], avec un IAH>15 chez 35% d'entre eux . Les score d'Epworth et le CES-D n'étaient pas différents entre les deux groupes (respectivement  $9.7 \pm 1.1$  vs  $12.8 \pm 1.3$  et  $24.5 \pm 2.5$  vs  $21.9 \pm 2.7$ ). Le score de contrôle de l'asthme était comparable entre SAOS et non SAOS ( $10.5 \pm 1$  en moyenne), de même que l'âge de début de l'asthme, l'IMC, le sexe ratio, les doses moyennes de stéroïdes inhalés et oraux, et la fonction respiratoire. En revanche les patients SAOS étaient moins souvent atopiques (30 vs 79%, p=0.005), avaient moins de rhinite (60 vs 95%, p=0.0065) et de polypose nasosinusienne (17% vs 45%, p=0.037). Les asthmatiques SAOS avaient une neutrophilie dans l'expectoration induite plus élevée que les non SAOS ( $46.8 \pm 9.4$  vs  $15.7 \pm 8.6\%$ ) alors que l'éosinophilie était comparable ( $18.5 \pm 7.5$  vs  $19 \pm 8.1\%$ ). Les taux d'IL-8 et de VEGF étaient plus élevés chez les SAOS que chez les non SAOS, avec une corrélation entre le taux d'IL-8 et de PNN. L'histologie bronchique a été obtenue chez 23 patients, elle montrait une lame basale plus fine chez les SAOS que chez les non SAOS ( $6.1 \pm 0.3$  vs  $7.9 \pm 0.4 \mu\text{m}$ , p=0.012), la surface du muscle lisse et la densité vasculaire étaient identiques entre les 2 groupes. Il n'y avait pas de corrélation entre l'épaisseur de la membrane basale et l'IAH, l'index de désaturation, le taux de PNN ou d'IL-8.

**Conclusion:** la prévalence du SAOS chez les asthmatiques sévères non contrôlés est élevée, avec un IAH>15 dans 35% des cas malgré un score d'Epworth peu élevé. La présence d'un SAOS est associée à une inflammation neutrophilique plus importante. L'intérêt d'un traitement du SAOS est à évaluer.

(1) Chest 2010, Sep ; 138(3) : 543