



Université Claude Bernard



Lyon 1

# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **20 avril 2022**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame CHOUIK Yasmina**

Titre de la thèse : « *Altérations des microARNs et des lymphocytes T circulants dans la décompensation aiguë de cirrhose* »

## Résumé



### CONTEXTE SCIENTIFIQUE

#### 1- Le risque septique est majoré chez les patients cirrhotiques et péjore le pronostic

La cirrhose est l'évolution naturelle de toute hépatopathie chronique non contrôlée. Les patients cirrhotiques présentent une plus grande propension aux infections en comparaison à la population générale (Fasolato S, Baltim. Md 2007), et sont une cause fréquente de décompensation aiguë (DA) de cirrhose (Bajaj JS, NEJM 2021). Les complications septiques sont un enjeu majeur de la prise en charge des patients cirrhotiques : la mortalité est de 24% à 1 mois et augmente jusqu'à 80% à 3 mois en cas de défaillance d'organe associée (Bajaj et al., 2012; Moreau et al., 2013). Néanmoins, l'inflammation systémique liée à la cirrhose rend le diagnostic de sepsis plus difficile, en biaisant les traditionnels biomarqueurs d'infection (polynucléaires neutrophiles [PNN], protéine réactive C [CRP]) (Bajaj JS, NEJM 2021).

#### 2- Les microARNs (miRs) pourraient être des biomarqueurs d'intérêt dans la cirrhose

Les miRs sont de petits ARN non codants connus pour moduler l'expression génique après transcription en diminuant la stabilité ou l'efficacité traductionnelle de leurs ARN messagers cibles. Les miRs contrôlent un large éventail de processus biologiques, et modulent notamment les réponses immunitaires. Du fait de leur sécrétion dans le sang (liés à des protéines de transport ou dans des vésicules extra-cellulaires) et de leur stabilité, l'analyse des miRs circulants comme biomarqueurs de diverses pathologies semble extrêmement

prometteuse. L'intérêt des miRs circulants comme marqueurs diagnostiques et pronostiques du choc septique a été rapporté dans la population générale.

### **3- Les patients cirrhotiques présentent des déficits immunitaires induits par l'inflammation systémique liée à la cirrhose**

La dysfonction immunitaire innée associée à la cirrhose a été décrite par plusieurs auteurs (Antoniades et al., 2006; Boussif et al., 2016; Bernsmeier C, Gastroenterology 2015 ; Bernsmeier C, Gut 2017; Rolas et al., 2018; Pose et al., 2021). L'association entre altération fonctionnelle des monocytes/macrophages et complications infectieuses des patients cirrhotiques a été précédemment rapportée (Bernsmeier C, Gastroenterology 2015 ; Bernsmeier C, Gut 2017; Pose et al., 2021 ; Weichselbaum L, J Hep 2020). L'excès de stimuli pro-inflammatoires est une des hypothèses mise en avant pour expliquer le développement de la dysfonction immunitaire associée à la cirrhose (Markwick LJL, Gastroenterology 2015; Bernsmeier C, Gastroenterology, 2017; Arroyo V, J Hepatol 2021).

Les données concernant les caractéristiques de la réponse immunitaire adaptative des patients cirrhotiques sont encore limitées. Plusieurs auteurs ont rapporté des modifications phénotypiques et/ ou fonctionnelles de lymphocytes circulants chez les patients cirrhotiques, avec émergence de populations régulatrices corrélées au pronostic (Lebossé F, Ebiomedicine 2019 ; Markwick LJL, Gastroenterology 2015; Rueschenbaum S, Frontiers in Immunol. 2021 ; Khamri W, Gut 2021; Basho K, J Hepatol 2021).

### **4- Le phénotype des cellules immunosuppressives pourrait être induit par des molécules présentes dans le plasma de patients cirrhotiques**

Les travaux de l'équipe ont montré qu'un facteur circulant plasmatique pouvait induire le phénotype des lymphocytes T régulateurs (Lebossé F, Ebiomedicine 2019). Parmi les facteurs circulants pouvant influencer le phénotype et la fonction des cellules immunitaires, les miRs et les molécules issues de la translocation bactérienne pourraient jouer un rôle dans l'induction d'une dysfonction immunitaire associée à la cirrhose. Les miRs peuvent notamment interférer sur la voie de signalisation *pathogen-associated molecular pattern/toll-like receptor* au niveau des monocytes/macrophages (Androulidaki, A. Immunity 2009), et orienter la différenciation des LT en cellules suppressives ou effectrices (Lee, H.-M., Front. Genet. 2014). Plusieurs travaux suggèrent le rôle de certains miRs circulants sur la modulation de la réponse immunitaire dans le contexte des défaillances hépatiques (Seeley JJ, Nature 2018 ; Gao Y, Gene 2017).

## **OBJECTIFS DE L'ETUDE ET STRATEGIE EXPERIMENTALE**

L'étude vise à réaliser une description globale des miRs et lymphocytes T circulants chez des patients en décompensation aiguë de cirrhose, comparativement à des patients avec cirrhose compensée. Les enjeux cliniques sont d'identifier dans la DA de cirrhose des biomarqueurs diagnostiques du sepsis et de la dysfonction immunitaire, et pronostiques du risque d'infection secondaire et de décès. De plus, ce projet vise à identifier des cibles éventuelles pour moduler l'état d'immunodéfaillance lié à la cirrhose.

Nous avons construit une cohorte prospective incluant des patients en DA de cirrhose dans les service d'Hépatologie et de Réanimation Chirurgicale de l'Hôpital de la Croix Rousse (Hospices Civils de Lyon). Le diagnostic d'infection bactérienne a été posé selon les critères préalablement publiés (Bajaj JS, Hepatology 2012). Les données cliniques ont été recueillies jusqu'à 6 mois après l'inclusion.

L'analyse des miRs a été réalisée par la technologie Nanostring™, permettant l'analyse simultanée d'environ 800 miRs circulants. L'analyse phénotypique des populations lymphocytaires a été réalisée par cytométrie spectrale multicolore (Cytek® Aurora) permettant l'analyse d'un grand nombre de marqueurs de surface de façon simultanée (panel 26 couleurs).

## **RESULTATS ET PERSPECTIVES**

Quatre-vingt-dix-sept patients ont été inclus dans l'étude (67 en DA, et 30 patients avec cirrhose compensée). Soixante-huit pourcent étaient des hommes et 57,7% présentaient une cirrhose liée à l'alcool. Parmi les patients en DA, 23 avaient une infection bactérienne à l'admission à l'hôpital (34,3%). Treize patients additionnels provenant d'un autre centre ont été inclus rétrospectivement (Hôpital Beaujon, Clichy).

L'analyse des miRs circulants a été effectuée chez 81 patients, dont 57 patients en DA. Un grand nombre de miR étaient significativement dysrégulés dans la DA, avec une diminution globale de leur niveau de détection. Les voies de signalisation associées à ces miRs étaient reliées notamment à la carcinogenèse, la fibrogenèse et le rythme circadien. Parmi les patients en DA, un score composite comprenant les PNN, la CRP et le miR-362-3p permettait de diagnostiquer une infection bactérienne avec une aire sous la courbe (AUC) de 0,825 (IC 95% = 0,671-0,980;  $p < 0,001$ ). Ses performances diagnostiques étaient supérieures à chacun de ses composants pris séparément. Plusieurs miRs étaient également prédictifs du risque d'infection nosocomiale et de décès à 6 mois.

L'analyse en cytométrie spectrale des lymphocytes T circulants a porté sur 27 patients en DA, 10 patients avec cirrhose compensée et 7 sujets sains. Nous avons mis en évidence une inversion du rapport entre réponses lymphocytaires T de type 1 et 2 (rapports Th1/Th2 et Tc1/Tc2) lors de la progression de la cirrhose, et la diminution de lymphocytes Th17 dans l'infection bactérienne. Le rapport Th1/Th2 était prédictif de la survenue d'une infection nosocomiale, alors que les Th17 pouvaient prédire la mortalité à 6 mois. Cette population lymphocytaire, connue pour être induite par la translocation digestive, était significativement corrélée au miR-362-3p.

En conclusion, nos données indiquent que les miRs circulants sont fortement dérégulés dans la DA de la cirrhose par rapport à la cirrhose compensée et sont utiles pour identifier des sous-groupes de patients ayant une évolution clinique et un pronostic différents. Notamment, la combinaison des miRs et des paramètres biologiques surpasse tous les biomarqueurs conventionnels pour le diagnostic des infections bactériennes. En outre, les lymphocytes T présentent des altérations phénotypiques dans la DA et le sepsis, dont certaines sont significativement corrélées aux miRs dérégulés. L'analyse des miRs et des réponses adaptatives T dans la cirrhose semble d'un grand intérêt pour améliorer la prise en charge des patients.