Avis de Soutenance

Monsieur Jonathan GARNIER

Biologie-Santé - Spécialité Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Profil d'impact immunitaire lié à la chirurgie pancréatique

dirigés par Monsieur Daniel OLIVE

Thèse soutenue le ***mercredi 20 décembre 2023*** à 17h00
Lieu : Institut Paoli Calmettes 232 Boulevard de Sainte Marguerite 13009 Marseille
Salle : Amphi IPC2

Composition du jury proposé

M. Daniel OLIVE	Aix Marseille Université	Directeur de thèse
Mme Nathalie BENDRISS-VERMARE	Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon Centre Leon Berard	Rapporteure
M. Laurent SULPICE	Hopital Pontchaillou et INSERM	Rapporteur
Mme Anne-Sophie CHRETIEN	Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille	Co-directrice de thèse
M. Jean-Louis MEGE	Faculté des sciences médicales et paramédicales Aix-Marseille Université	Président
Mme Fathia MAMI-CHOUAIB	IGR, INSERM U1186	Examinatrice
M. Olivier TURRINI	Institut Paoli Calmettes	Invité

Mots-clés : pancreatectomie,immunologie,survie,chirurgie,

Résumé :

IMPORTANCE La chirurgie pancréatique est une procédure chirurgicale qui met en jeu le pronostic vital, et l'adénocarcinome canalaire pancréatique (ADKP) est l'un des cancers au pronostic le plus sombre, pour lequel il n'existe pas de traitement suffisamment efficace. Il existe encore beaucoup d'inconnues en ce qui concerne la compréhension du rôle de la chirurgie pancréatique dans la stratégie oncologique. OBJECTIF Construire le premier atlas cellulaire à haute résolution de la dynamique du système immunitaire après une chirurgie pancréatique réalisée dans un centre expert. Nos objectifs secondaires sont d'examiner si la signature immunitaire pourrait aider à identifier les patients d'intérêt clinique : 1) diagnostic préopératoire d'un ADKP, 2) prédiction postopératoire précoce d'une fistule pancréatique (FP) ultérieure. MATERIEL, METHODES ET PARTICIPANTS Cette étude monocentrique (NCT03978702), a inclus consécutivement 39 patients ayant eu une pancréatectomie à visée curative (n=37) ou une laparotomie exploratrice (n= 2) dans le département d'oncologie chirurgicale de l'Institut Paoli Calmettes à Marseille, de Février à Juillet 2021. Les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) ont été collectées à différents

moments, de façon longitudinale. Les patients ont été appariés en âge avec des volontaires sains (n=17). CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL ET MESURES Le critère de jugement principal est la mesure des sous-populations immunitaires circulantes en cytométrie de masse avec l'analyse de regroupement par voisinage hiérarchique-stochastique et l'intégration de données à l'aide d'algorithmes utilisant l'intelligence artificielle (IA). RESULTATS Trente-trois patients (84,5 %) ont eu une pancréatectomie pour cancer, dont 13 patients (33 %) atteints d'ADKP. Onze patients (28 %) ont développé une FP après l'opération. La mortalité à 90 jours était de 2,5 %. Nous avons réalisé un profilage de 156 échantillons de PBMC provenant des quatre périodes péri-opératoires les plus représentatives. 1) Après la pancréatectomie, la proportion de cellules myéloïdes (26 % à 34 %, p=0,018) a augmenté de manière significative. Les cellules Natural Killer (NK) se sont contractées au premier jour postopératoire (POD 1) à un niveau plus bas qu'en préopératoire (7 vs 12% ; p<0,001). Les lymphocytes T CD8+ et CD4+ ont diminué de manière significative après la pancréatectomie (diminution de 25 %, p<0,001 et 40 %, p<0,001 respectivement). Le modèle basé sur l'IA de la variation immunitaire au premier jour après la pancréatectomie (J1) était caractérisé par la combinaison d'une diminution des NK, d'une diminution des T naïfs (à la fois CD8+ et CD4+) et des TEM CD8+ BTN3+. La seule sous-population de lymphocytes T augmentée était les TEM CD103+. Grâce à cette combinaison il est possible de différencier l'état immunitaire à J1 des patients ayant eu une pancréatectomie de ceux ayant eu une laparotomie exploratrice avec une performance élevée (régression de Ridge, AUC=0,94, p =2,56e-02). 2) Prédiction préopératoire d'un ADKP : le taux de survie était de 69% pour les patients atteint d'un PDAC et de 100% pour les lésions bénignes, sans mortalité postopératoire. La prédiction préopératoire des patients atteints d'un ADKP est possible (Random forrest, AUC=0.86, p =1.35e-02). 3) Prédiction postopératoire de la FP: nous avons identifié la signature immunitaire de la FP (PFLS-1) à J1 en comparant les patients avec et sans FP. Les modèles dérivés ont séparé les patients avec une FP avec une performance élevée (régression logistique, AUC=0,75, p =1,87e-02) à POD1. La combinaison du score de risque de fistule peropératoire et de la PFLS-1 a significativement amélioré la prédiction (AUC= 0.78). CONCLUSIONS ET INTERET Cet atlas cellulaire à haute dimension de la dynamique du système immunitaire périphérique après une chirurgie pancréatique ouvre la voie à une évaluation plus poussée de l'immuno-modulation.

LE DOYEN

Georges LEONETTI

Résumé

Le test de génération de thrombine (TGT) est un examen global de la coagulation qui évalue la capacité du plasma à produire de la thrombine au cours du temps, offrant ainsi une vue d'ensemble de l'équilibre hémostatique d'un individu. L'objectif de cette étude était d'identifier de nouveaux déterminants biologiques de la génération de thrombine en utilisant une approche multi-omique. Les associations entre les paramètres du TGT et les niveaux plasmatiques 236 protéines candidates (ciblées par 377 anticorps) liées au risque cardiovasculaire ont été examinées au moyen d'une analyse de régression linéaire multiple dans un sous-groupe de 770 individus atteints de maladie thrombo-embolique de l'étude MARTHA. Dix-huit protéines étaient associées ($p<1,33x10^{-4}$) à au moins trois paramètres du TGT chez les sujets de l'étude MARTHA, dont 13 ont présenté des associations similaires dans une population indépendante d'individus en bonne santé (EFS-AM). Les protéines du complément C5 et C9 présentaient les associations les plus marquées dans les deux groupes. La supplémentation ex vivo du plasma appauvri en plaquettes de volontaires en bonne santé avec de la protéine C9 purifiée a eu un effet significatif dose-dépendant sur les paramètres de génération de thrombine, tandis qu'aucun effet n'a été observé lors de la supplémentation avec de la protéine C5 purifié. Plusieurs variants génétiques associées aux niveaux plasmatiques de C5 et C9 ont été identifiés. La plus forte association concernait le variant faux-sens rs17611 du gène C5. En effet, l'allèle mineur du rs17611 était associé à une diminution des niveaux de C5, de l'aire sous la courbe du thrombogramme et du pic de génération de thrombine dans l'étude MARTHA. Si l'association entre le rs17611 et les niveaux de C5 a été confirmée dans la population EFS-AM, aucune association avec les paramètres du TGT n'a été observée.

En conclusion, notre étude a identifié les protéines du complément C5 et C9 comme des facteurs importants influençant la génération de thrombine. Ces résultats, ainsi que ceux qui concernent les autres protéines associées de manière significative, méritent des investigations épidémiologiques et expérimentales ultérieures.

Mots-clés : Thrombine, Génération de thrombine, Protéomique, Multi-omique, Système du complément, Complément C5, Complément C9, Génomique, Thrombose veineuse.

Abstract

The thrombin generation assay (TGA) is a global coagulation assay that measures the potential of plasma to generate thrombin over time, providing a global picture of an individual's hemostatic balance. This work aimed to identify novel biological determinants of thrombin generation using a multi-omics approach. Associations between TGA parameters and plasma levels of 236 unique candidate proteins for cardiovascular risk targeted by 377 antibodies were tested using multiple linear regression analysis in 770 individuals with venous thrombosis from the MARTHA study. Eighteen proteins were associated ($p<1.33x10^{-4}$) with at least three TGA parameters in MARTHA subjects, among which 13 demonstrated a similar pattern of associations in an independent population of healthy individuals (EFS-AM). Complement proteins C5 and C9 were found to have the strongest associations in both groups. Ex vivo supplementation of platelet-poor plasma from healthy volunteers with purified C9 protein had a significant dose-dependent effect on thrombin generation parameters whereas no effect was observed when supplemented with purified C5. We identified several single nucleotide polymorphisms associated with C5 and C9 plasma levels. The strongest association was for the C5 missense variant rs17611, which was associated with a decrease in C5 levels, ETP and Peak in MARTHA. No association of this variant with TGA parameters was observed in EFS-AM population.

In conclusion, this study identified complement proteins C5 and C9 as important factors influencing thrombin generation. Fine mapping of these findings deserves further epidemiological and experimental investigations.

Keywords: Thrombin, Thrombin generation, Proteomics, Multi-omics, Complement system, Complement C5, Complement C9, Genomics, Venous Thromboembolism.