

APPEL A PROJETS 2021

Proposé par la Filière Nationale de Santé ORKiD

La Filière ORKiD propose à tous ses acteurs (médecins, paramédicaux, chercheurs, ...) un appel à projets qui concerne le :

Soutien à 6 projets de recherche clinique, fondamentale ou translationnelle dans le domaine des maladies rénales rares

Après analyse par des experts néphrologues pédiatres et adultes de la filière ORKiD, les **6 projets retenus** se verront attribuer un **financement maximal de 15 000€ TTC**.

Ce financement ne pourra pas servir au financement de personnel.

Le dossier dûment complété est à envoyer :

- Avant le **vendredi 26 novembre 2021 à minuit**
- Par email à l'adresse contact@filiereorkid.com avec en copie j-radenac@chu-montpellier.fr

Un email de confirmation vous sera adressé après réception du dossier.

Le résultat de cet appel à projets est prévu pour le **mardi 14 décembre 2021**, après étude des dossiers par les experts de la Filière.

Conditions : Le porteur principal du projet, s'il est médecin, doit être âgé de moins de 45 ans.

Ce dossier comprend 3 parties :

1. Partie administrative
2. Partie scientifique
3. Partie financière

1. DOSSIER ADMINISTRATIF

► Identification du projet

Titre du projet	PAPER. FACe Proteomic of A mniotic fluid to Pr Edict R enal function in F etuses with A ntenatal C akut
Objectif principal du projet	Inclure la lecture d'une signature pronostique performante dans le parcours de soins des foetus atteints de CAKUT.
Durée du projet en mois (<u>12 mois maximum</u>)	12 mois

► Porteur de projet

NOM Prénom	SIMON Thomas
Fonction	Praticien Hospitalier
Email	simon.t@chu-toulouse.fr
<input type="checkbox"/> Service <input type="checkbox"/> Unité de recherche <input type="checkbox"/> Encadrant éventuel	Néphrologie, rhumatologie, médecine interne pédiatrique
Adresse de correspondance	Service de néphrologie pédiatrique, Hôpital des enfants CHU Toulouse 330 avenue de Grande Bretagne 31300 Toulouse
Téléphone	+330534558458
Discipline médicale (si applicable)	Néphrologie pédiatrique

► Partenaires (si projet collaboratif)

Liste des partenaires			
N°	NOM Prénom (du responsable du projet)	Email	<input type="checkbox"/> Service <input type="checkbox"/> Unité de recherche <input type="checkbox"/> Encadrant éventuel
1	BREUIL Benjamin	benjamin.breuil @inserm.fr	INSERM U1297 Toulouse
2	BUFFIN-MEYER Bénédicte	Benedicte.buffin-meyer@inserm.fr	INSERM U1297 Toulouse
3	DECRAMER Stéphane	decramer.s@chu-toulouse.fr	Médecine Interne - Néphrologie - Rhumatologie - Hypertension Pédiatrique Centre de Référence des Maladies Rénales Rares du Sud-Ouest, SORARE Hôpital des Enfants, Toulouse
4	KLEIN Julie	julie.klein@inserm.fr	INSERM U1297 Toulouse
5	SCHANSTRA Joost	joost-peter.schanstra@inserm.fr	INSERM U1297 Toulouse
6	SIMON Thomas	simon.t@chu-toulouse.fr	Hôpital des Enfants, Toulouse
7	Liste des partenaires cliniques		Cf PJ

Description du projet : 1500 mots maximum au total

Contexte

- ***Prédiction anténatale de l'évolution des grossesses CAKUT : actuellement une impasse***

Les malformations des reins et des voies urinaires (CAKUT, ORPHA : 93545) sont des maladies rares, souvent d'origine génétique, qui représentent 30% des anomalies diagnostiquées *in utero* et touchent 4 000 fœtus en France chaque année (100 000 en Europe) (1). Les atteintes se traduisent par des hypoplasies (reins de petite taille) ou à l'extrême des agénésies (reins absents), des dysplasies (parenchymes rénaux désorganisés, mal différenciés et peu fonctionnels) et des reins hyperéchogènes ou kystiques. Ces anomalies congénitales génèrent un large éventail de phénotypes, de bénin avec une fonction rénale quasi normale à la naissance à très sévère conduisant à la mort anténatale. Elles constituent une préoccupation de santé importante dans la mesure où elles représentent la première cause d'insuffisance rénale terminale chez l'enfant (50% des cas) (2).

Actuellement, le diagnostic prénatal repose sur la combinaison de deux types d'analyses :

i) l'échographie fœtale qui mesure la quantité de liquide amniotique, la taille des reins, leur échostructure et ii) la biochimie fœtale pour déterminer la concentration de β 2-microglobuline et sodium sérique et/ou urinaire (3–6). L'ensemble de ces analyses ne permet de prédire correctement la fonction rénale postnatale que dans les formes extrêmes de CAKUT. Ainsi, lorsque l'atteinte rénale est unilatérale, le pronostic est bon du fait de la compensation qui s'opère dans le rein controlatéral; à l'opposé, les agénésies rénales bilatérales ou la présence de deux reins multikystiques associés à un volume de liquide amniotique très abaissé ou nul sont toujours de très mauvais pronostic. En revanche, plusieurs études suggèrent que l'échographie, tout comme les analyses biochimiques fœtales étudiées à ce jour, ne suffisent pas pour évaluer la sévérité et la progression des atteintes rénales bilatérales de forme intermédiaire, c'est à dire quand le volume amniotique est normal ou faiblement réduit (~25% des CAKUT, ~1 000 fœtus en France/an). Les conséquences sont des interruptions médicales de grossesse (IMG) effectuées de manière cliniquement injustifiée (~40% des IMG) et, inversement, des poursuites de grossesses accompagnées d'un décès prénatal tardif ou d'un décès néonatal précoce avec un manque d'anticipation des soins palliatifs (7,8). **Il est donc urgent de développer des stratégies pour prévoir *in utero* le devenir après la naissance des enfants atteints de CAKUT.**

- ***Mesure par spectrométrie de masse d'une signature amniotique : la solution***

Les biomarqueurs individuels ont une utilité relativement limitée en clinique pour évaluer avec précision la sévérité d'une maladie dans la mesure où ils ne peuvent refléter à eux seuls tous les mécanismes physiopathologiques (9,10). En revanche, les signatures qui combinent plusieurs biomarqueurs sont plus adaptées : elles couvrent mieux la complexité des maladies qui, souvent, sont multifactorielles ; elles sont également plus robustes car les modifications des molécules individuelles n'entraînent pas de changement marqué du panel. L'utilisation des signatures

multimoléculaires est donc pertinente pour évaluer la sévérité des pathologies rénales et prédire efficacement leur issue (11,12). La spectrométrie de masse (SM) est une technologie particulièrement utile pour la détection de telles signatures. Les analyses par SM, lorsqu'elles sont couplées à des techniques séparatives, permettent en effet de mesurer simultanément l'abondance de milliers de molécules présentes dans un échantillon donné avec une très haute sensibilité et une forte reproductibilité, le tout en un temps limité (2 heures) pour un coût relativement réduit (11,13).

Récemment, grâce à la technologie de SM et l'utilisation d'une « amniothèque » unique de fœtus porteurs de CAKUT bilatéral (178 patients, suivis jusqu'à 2 ans de vie dans le cadre d'un PHRC national prospectif coordonné par le CHU Toulouse et l'Inserm U1048 (14)), nous avons identifié dans le liquide amniotique un ensemble de 98 petites protéines (peptides) fortement associées à la sévérité des malformations rénales (15). Ces 98 peptides ont été combinés dans un modèle mathématique pour générer une équation qui permet d'attribuer un score de gravité aux patients en fonction de l'abondance dans le liquide amniotique de chacun des peptides. Cette signature est extrêmement performante puisqu'elle a permis de prédire avec justesse et de manière objective le devenir postnatal rénal chez plus de 94% des fœtus CAKUT (sensibilité : 88%, spécificité : 97%) avec une AUC_{ROC} à 0.96 (15). Elle est significativement bien meilleure que les méthodes d'imagerie actuellement utilisées (justesse 86%, AUC 0.84) (15).

La signature a également été utilisée pour prédire la fonction rénale chez 8 fœtus CAKUT ayant subi une IMG alors que la fœtopathologie, analysée rétrospectivement par 3 cliniciens indépendants, montrait la présence de lésions rénales peu sévères, compatibles avec une vie normale. De manière très intéressante, la signature a prédit une fonction rénale postnatale normale pour 6 fœtus, indiquant par là même que l'utilisation de la signature peptidique aurait pu potentiellement éviter 6 IMG cliniquement injustifiées (15). **Cette prédiction, qui était jusque-là impossible à réaliser avec les outils à disposition des cliniciens, constitue donc une avancée majeure pour réduire l'impasse pronostique dans le domaine et améliorer la prise en charge des patients CAKUT et de leur famille.** Elle fait l'objet d'une valorisation sous forme d'un brevet étendu pour l'international (WO2020053380-A1, Publ. Date – 19 Mar 2020).

- ***Vers une implémentation de la signature prédictive du CAKUT dans le parcours de soins : le projet***

La signature amniotique est déjà utilisée ponctuellement en pratique clinique courante. En effet, à la demande de cliniciens/familles confrontés à des grossesses CAKUT, nous analysons régulièrement par SM la composition moléculaire du liquide amniotique de fœtus CAKUT en attente d'un conseil prénatal, à la recherche des 98 peptides prédictifs du devenir rénal des bébés. Une demande nous a également été adressée *via* le site Orphanet directement par des parents attendant un enfant CAKUT. Depuis fin 2017, 26 analyses de prédiction ont ainsi été effectuées au fil de l'eau. La plupart des patients que nous avons scorés (24/26) étaient suivis au CHU Toulouse et non ailleurs. Deux explications à cela : i) la proximité géographique entre le lieu de prélèvement du liquide amniotique (CHU Toulouse - site Purpan) et le lieu de l'analyse SM (notre laboratoire Inserm au CHU Toulouse - site Rangueil, 12 km) qui simplifie le transfert des échantillons amniotiques ; ii) la collaboration étroite et très ancienne entre le CHU Toulouse et notre laboratoire pour la découverte de biomarqueurs utiles en néphrologie clinique pédiatrique et anténatale (16,17). Le résultat du score pronostique est rendu en 2 semaines, délai court mais nécessaire pour un contrôle

échographique toujours proposé aux familles en cas de découverte d'une anomalie sévère du développement rénal. **Maintenant, il nous paraît primordial d'offrir aux autres CHU français la possibilité d'introduire en routine l'analyse par SM de la signature amniotique dans le parcours de soin des fœtus CAKUT.** Cela passera nécessairement par une prise en charge financière du transfert des échantillons de liquide amniotique dans notre laboratoire. En parallèle, et en étroite collaboration avec le laboratoire de Biologie médicale du CHU Toulouse, nous effectuons des démarches qualité pour faire entrer le test dans la nomenclature en biochimie.

L'ensemble des participants au consortium BIOMAN vont participer à ce projet.

Objectif principal (et objectifs secondaires, si applicable)

L'objectif est de subventionner le rapatriement à Toulouse des échantillons de liquide amniotique prélevés chez des fœtus CAKUT diagnostiqués dans différents CHU français pour que soit mesurée ensuite la signature prédictive des atteintes rénales.

Méthodes :

Détaillez les principaux éléments méthodologiques

La procédure se déroule en 7 phases, sa durée totale est de 15 jours maximum.

- 1- Diagnostic anténatal d'une anomalie CAKUT (CHU X)
- 2- Amniocentèse (CHU X)
- 3- Transfert des échantillons de liquide amniotique du CHU X vers notre laboratoire Inserm à Toulouse*
- 4- Mesure par SM de l'abondance des 98 peptides de la signature (Inserm Toulouse)
- 5- Normalisation des abondances (Mosaique Diagnostics, Hanovre/Allemagne)
- 6- Etablissement du score de gravité (Inserm Toulouse)
- 7- Retour du score de gravité au CHU d'origine avec la procédure d'interprétation

**L'étape 3 est celle pour laquelle la subvention ORKID est demandée.*

Les étapes 4 à 6 seront prises en charge par notre laboratoire Inserm.

Grâce à deux essais cliniques (14,18) et trois réseaux européens (ERKNet, eUROGEN, EURenOmics), notre laboratoire a instauré depuis plusieurs années une étroite collaboration avec des cliniciens français (~90 obstétriciens/néphropédiatres/urologues/chirurgiens) travaillant dans 25 centres différents de diagnostic prénatal qui prennent en charge les grossesses CAKUT. Les CAKUT bilatérales de forme intermédiaire – pour lesquelles le recours à la signature pronostique est primordial – concernent ~1000 fœtus par an en France. Sachant qu'une (grosse) région comme

l'Occitanie en suit annuellement ~50, la subvention accordée par ORKID (15 000 euros) devrait permettre d'assurer l'analyse SM du liquide amniotique de l'ensemble des patients suivis dans les 25 centres avec lesquels nous collaborons activement (Cf mails des cliniciens).

Résultats espérés et perspectives

Les bénéfices liés à l'introduction de la signature amniotique dans le suivi des grossesses CAKUT en France devraient être nombreux :

- **médical** : la vision du devenir rénal postnatal des fœtus sera plus sûre et objective, ce qui facilitera l'élaboration du conseil prénatal par les médecins ;
- **sociétal** : la prise en charge des patients et de leur famille sera améliorée. En particulier, on peut s'attendre à i) une réduction du nombre de grossesses interrompues à tort, ii) une anticipation du démarrage à la naissance d'une dialyse ou des soins palliatifs éventuels si la poursuite de la grossesse est décidée chez des fœtus prédits à haut risque d'insuffisance rénale, iii) une baisse de l'anxiété des parents liée à l'incertitude du bien-être de leur futur bébé et iv) un allègement du poids psychologique associé à leur décision de poursuivre ou non la grossesse ;
- **méthodologique** : après confrontation de la prédiction avec l'état clinique postnatal du patient, ce projet servira de validation indépendante de la signature dans une nouvelle cohorte multicentrique, ouvrant de ce fait la voie à une généralisation de son implémentation en clinique ;
- **rayonnement** : unique en France, ce projet devrait contribuer au rayonnement du CHU Toulouse, de l'Inserm et de la région Occitanie, cette dernière devenant de fait la Région référence pour la prise en charge des CAKUT.

Ce projet est aussi en accord avec la stratégie nationale (Plan national Maladies rares 2018-22) (19) et régionale (« Occitanie santé 2022 ») (20) en matière de santé dans la mesure où il devrait améliorer le diagnostic prénatal ainsi que le parcours de soins à la naissance des enfants concernés en favorisant l'accès à des stratégies innovantes.

Bibliographie (20 références maximum pour les projets de recherche)

1. Nicolaou N, Renkema KY, Bongers EMHF, Giles RH, Knoers NVAM. Genetic, environmental, and epigenetic factors involved in CAKUT. Nat Rev Nephrol. déc 2015;11(12):720-31.
2. Harambat J, van Stralen KJ, Kim JJ, Tizard EJ. Epidemiology of chronic kidney disease in children. Pediatr Nephrol. mars 2012;27(3):363-73.
3. Morris RK, Malin GL, Khan KS, Kilby MD. Antenatal ultrasound to predict postnatal renal function in congenital lower urinary tract obstruction: systematic review of test accuracy. BJOG. sept 2009;116(10):1290-9.

4. Morris RK, Quinlan-Jones E, Kilby MD, Khan KS. Systematic review of accuracy of fetal urine analysis to predict poor postnatal renal function in cases of congenital urinary tract obstruction. *Prenat Diagn.* oct 2007;27(10):900-11.
5. Nicolini U, Spelzini F. Invasive assessment of fetal renal abnormalities: urinalysis, fetal blood sampling and biopsy. *Prenat Diagn.* nov 2001;21(11):964-9.
6. Spaggiari E, Faure G, Dreux S, Czerkiewicz I, Stirnemann JJ, Guimiot F, et al. Sequential fetal serum β 2-microglobulin to predict postnatal renal function in bilateral or low urinary tract obstruction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* mai 2017;49(5):617-22.
7. Decramer S, Parant O, Beaufils S, Clauin S, Guillou C, Kessler S, et al. Anomalies of the TCF2 gene are the main cause of fetal bilateral hyperechogenic kidneys. *J Am Soc Nephrol.* mars 2007;18(3):923-33.
8. Hogan J, Dourthe M-E, Blondiaux E, Jouannic J-M, Garel C, Ulinski T. Renal outcome in children with antenatal diagnosis of severe CAKUT. *Pediatr Nephrol.* mars 2012;27(3):497-502.
9. Hurst RE. Does the biomarker search paradigm need re-booting? *BMC Urol.* 27 févr 2009;9:1.
10. Rifai N, Gillette MA, Carr SA. Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility. *Nat Biotechnol.* août 2006;24(8):971-83.
11. Mischak H, Schanstra JP. CE-MS in biomarker discovery, validation, and clinical application. *Proteomics Clin Appl.* févr 2011;5(1-2):9-23.
12. Pontillo C, Mischak H. Urinary peptide-based classifier CKD273: towards clinical application in chronic kidney disease. *Clin Kidney J.* avr 2017;10(2):192-201.
13. Jannetto PJ, Fitzgerald RL. Effective Use of Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory. *Clin Chem.* janv 2016;62(1):92-8.
14. Essai-clinique-BIOMAN-2010-2016, NCT02675686. Amniotic Biomarkers for the Prediction of Postpartum Renal Function.
15. Klein J, Buffin-Meyer B, Boizard F, Moussaoui N, Lescat O, Breuil B, et al. Amniotic fluid peptides predict postnatal kidney survival in developmental kidney disease. *Kidney Int.* mars 2021;99(3):737-49.
16. Decramer S, Wittke S, Mischak H, Zürbig P, Walden M, Bouissou F, et al. Predicting the clinical outcome of congenital unilateral ureteropelvic junction obstruction in newborn by urinary proteome analysis. *Nat Med.* avr 2006;12(4):398-400.
17. Klein J, Lacroix C, Caubet C, Siwy J, Zürbig P, Dakna M, et al. Fetal urinary peptides to predict postnatal outcome of renal disease in fetuses with posterior urethral valves (PUV). *Sci Transl Med.* 14 août 2013;5(198):198ra106.
18. Essai-clinique-ANTENATAL-2017-2023, NCT03116217. Validation of a Fetal Urine Peptidome-based Classifier to Predict Post-natal Renal Function in Posterior Urethral Valves.

Calendrier prévisionnel et étapes clés
(durée de 12 mois maximum) (½ page maximum)

La lecture par spectrométrie de masse de la signature pronostique dans le liquide amniotique se fera au fil de l'eau, au fur et à mesure des diagnostics anténataux des CAKUT. Chaque lecture nécessitera un délai de 2 semaines entre la date du prélèvement amniotique et le rendu au clinicien du score de gravité.

Indicateurs de suivi et d'évaluation

RAPPORT (M12) : Bilan des analyses par spectrométrie de masse de la signature amniotique des fœtus CAKUT.

3. DOSSIER FINANCIER

Détails de l'utilisation du budget de 15 000€ (outils éducatifs ou d'information : petit matériel, impression, réactifs de laboratoire...)

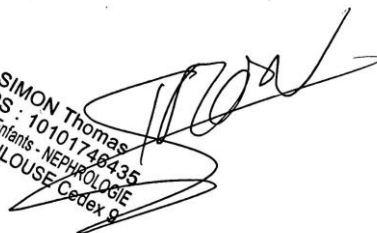
Type de prestation	Coût TTC	Prestataire
Prestation de service pour le transport dans de la carboglace des échantillons de liquide amniotique vers Inserm - CHU Toulouse, site Rangueil	137.5 euros TTC par échantillon	Société Transporteo International
	X	
	110 échantillons	
Total € TTC :	15 000	

Date, signature et nom du responsable du projet

Le ...22/11/2021.....

Nom du responsable du projet : Thomas SIMON

Dr SIMON Thomas
N°RPPS : 10101748435
Hôpital des Enfants - NEPHROLOGIE
31059 TOULOUSE Cedex 9



Signature