



2^{ème} Séminaire des Doctorants & Post-doctorants De la FHU

Mardi 16 janvier 2024

09h00 à 13h00

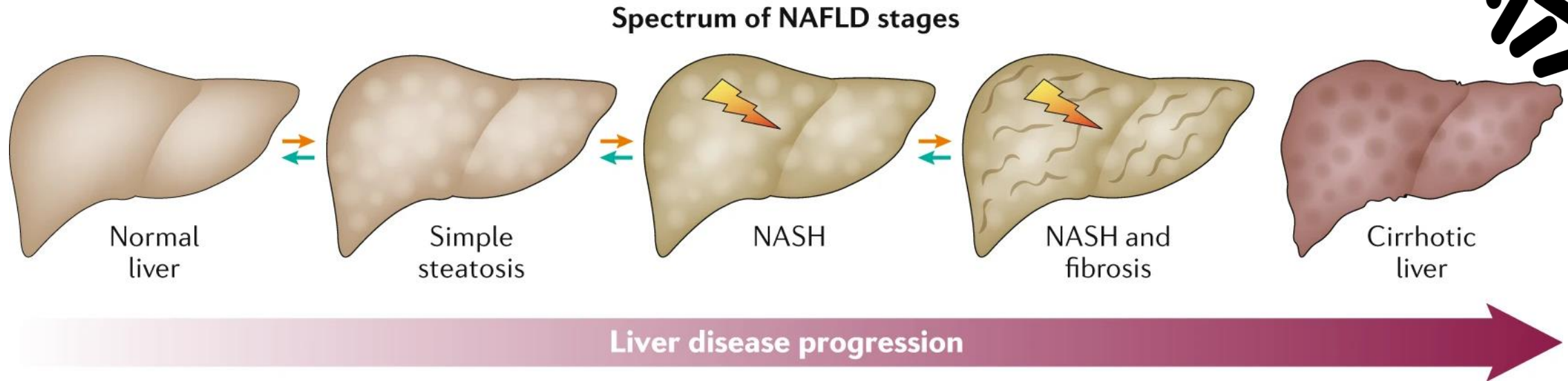
Siège APHP - Hôpital Saint-Antoine, Paris

Titre : Modèle microbien de prediction des alterations hepatiques

Intervenant : Rafael Patiño Navarrete

Equipe : UMRS1269 - Nutriomique

NAFLD: Maladie du “foie gras non alcoolique”. PaCeMM



- Graisse intra-hépatique $\geq 5\%$.
- Stéatose
- Inflammation
- Ballonnement hepato-cellulaire.
- Avec/sans fibrose.

from: Aron-Wisnewsky *et al.* 2020

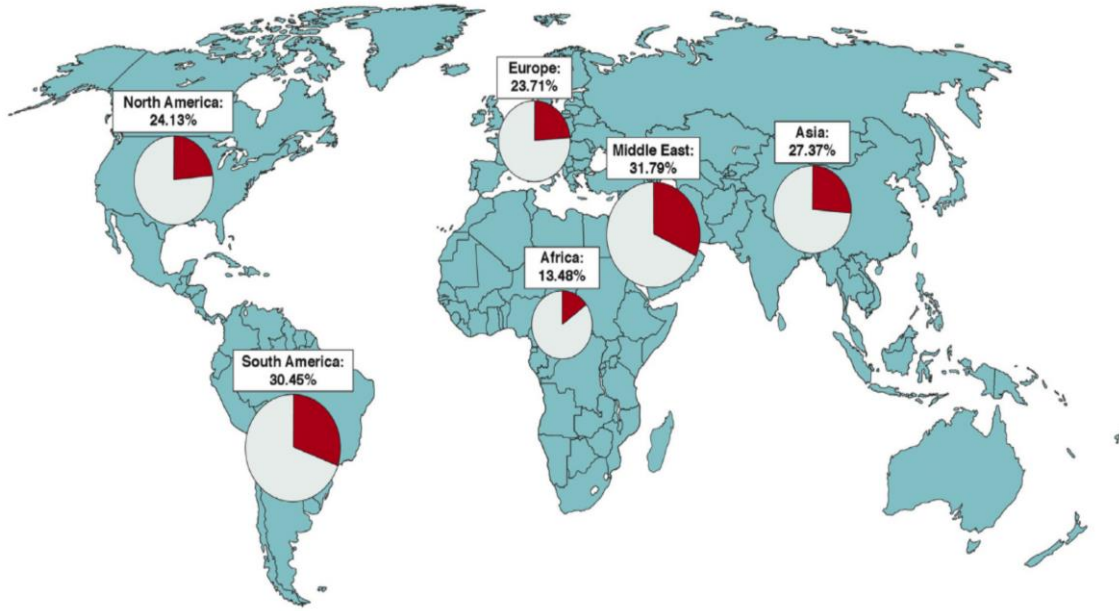
La pathophysiologie implique une interaction complexe entre des facteurs hormonaux, nutritionnels et génétiques...
et le **microbiote intestinal** from: le Roy *et al.* 2013

from: Pappachan *et al.* 2017

NAFLD: Épidémiologie et diagnostic.

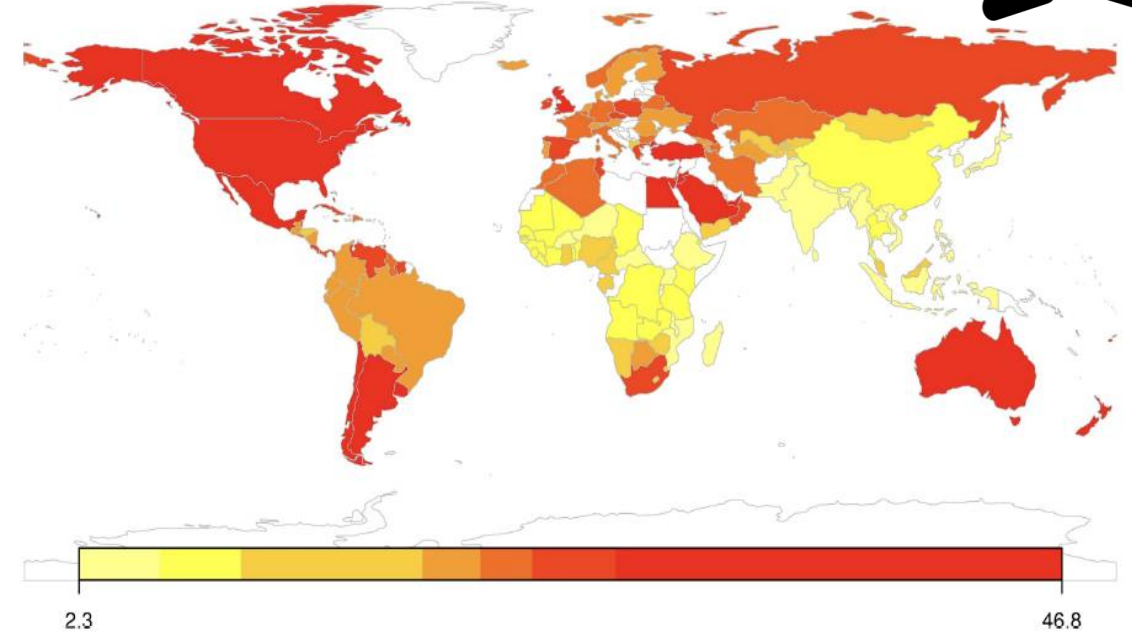


Prevalence NAFLD



from: Younossi *et al.* 2016

Prévalence Obésité



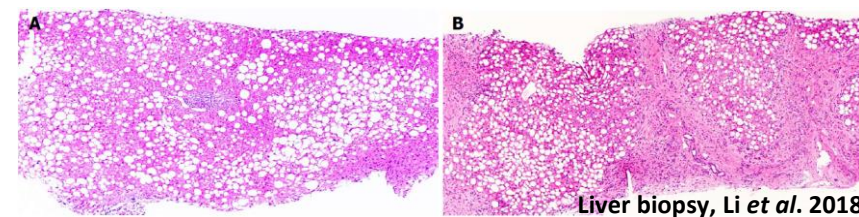
from: Talukdar *et al.* 2020

- La NAFLD est la maladie hépatique chronique la plus répandue dans les pays développés.
- Associé à un DT2 (18-33 %) ou à une résistance à l'insuline (66-83%).
- Âge et obésité.

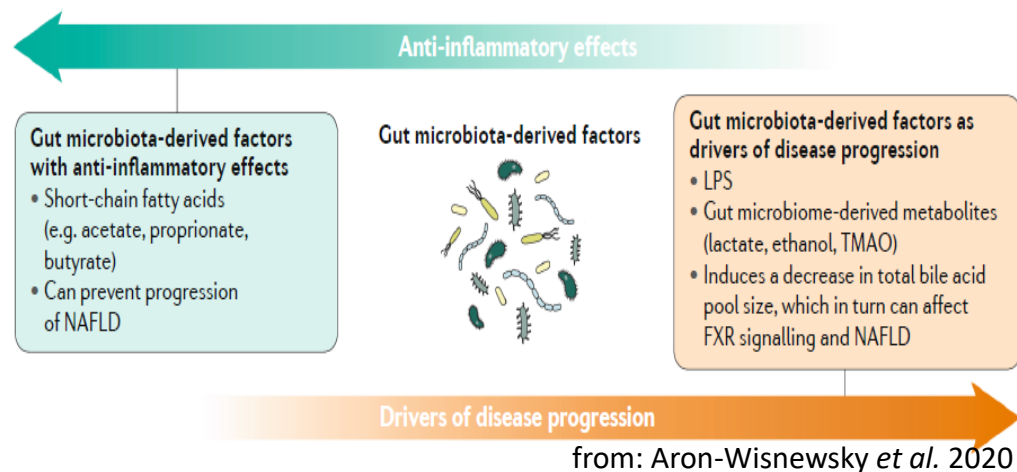


NAFLD: Épidémiologie et diagnostic.

- Asymptomatique (grande proportion).
- **Biopsie du foie**, et analyse histologique. « gold standard »
 - **Invasive, risqué et coûteuse.**



- Nécessité d'une approche diagnostique non invasive et bon marché.
- **MICROBIOTE INTESTINAL ?**



Contrôl. → NAFLD. → NASH. → NASH + Fibrosis. → Cirrhosis.

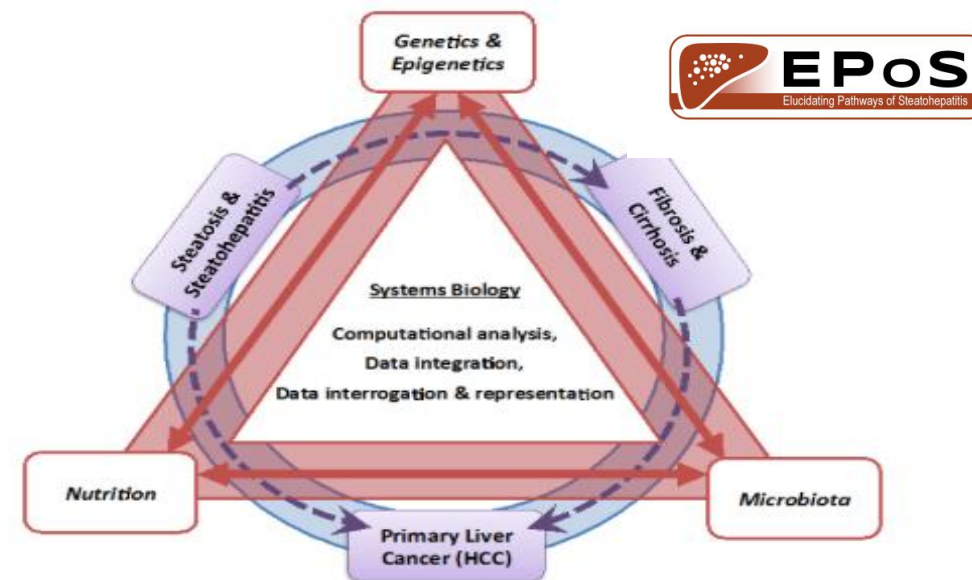


Figure 2: The EPOS Approach to Study of the Interaction between Intrinsic & Extrinsic Factors that Determine NAFLD Progression

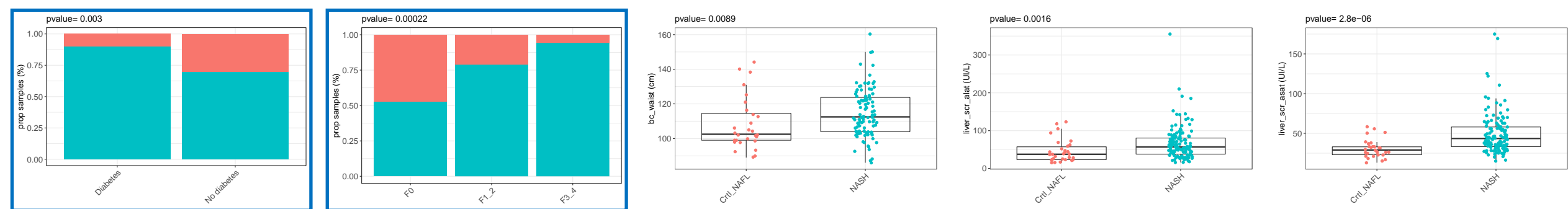
=> Identifier marqueurs bases sur la composition microbienne de l'intestin.

EPOS NAFLD cohort.



	Crtl_NAFL (n=31)	NASH (n=127)	P value
clin_sex: F	10 (32.3%)	52 (40.9%)	0.495
M	21 (67.7%)	75 (59.1%)	
clin_age	60.0 [47.5;69.5]	58.0 [50.5;65.0]	0.605
bc_weight	88.8 [72.5;99.0]	90.0 [80.8;106]	0.294
bc_bmi	31.1 [27.2;35.7]	32.4 [29.0;36.7]	0.104
clin_obesity_stage: Non Obese	15 (48.4%)	43 (33.9%)	0.317
Obese	7 (22.6%)	39 (30.7%)	
Severely Obese	9 (29.0%)	45 (35.4%)	

- Nous n'avons pas trouvé de différences statistiquement significatives entre les principaux paramètres morphologiques dans les différents grades de NAFLD.



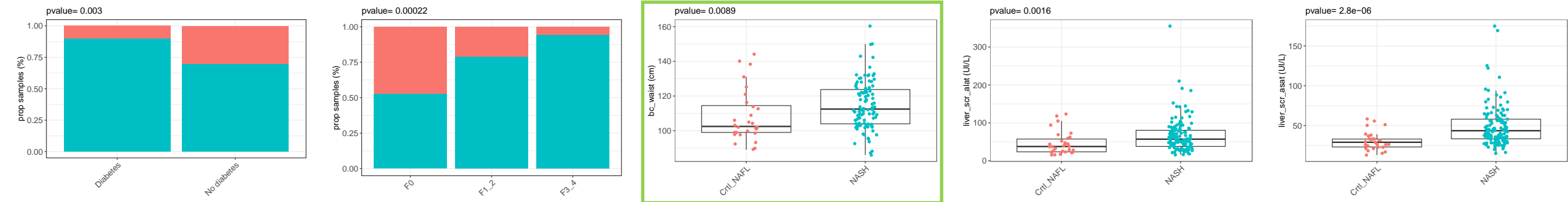
- En revanche, dans le groupe **NASH**, il y a une **plus grande proportion** de **diabétiques** et de **stades avancés de fibrose (F3:4)**, ainsi que des valeurs plus élevées de tour de taille et de taux d'enzymes hépatiques.

EPoS NAFLD cohort.



	Crtl_NAFL (n=31)	NASH (n=127)	P value
clin_sex: F	10 (32.3%)	52 (40.9%)	0.495
M	21 (67.7%)	75 (59.1%)	
clin_age	60.0 [47.5;69.5]	58.0 [50.5;65.0]	0.605
bc_weight	88.8 [72.5;99.0]	90.0 [80.8;106]	0.294
bc_bmi	31.1 [27.2;35.7]	32.4 [29.0;36.7]	0.104
clin_obesity_stage: Non Obese	15 (48.4%)	43 (33.9%)	0.317
Obese	7 (22.6%)	39 (30.7%)	
Severely Obese	9 (29.0%)	45 (35.4%)	

- Nous n'avons pas trouvé de différences statistiquement significatives entre les principaux paramètres morphologiques dans les différents grades de NAFLD.



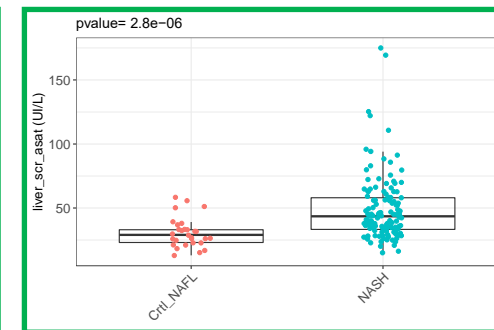
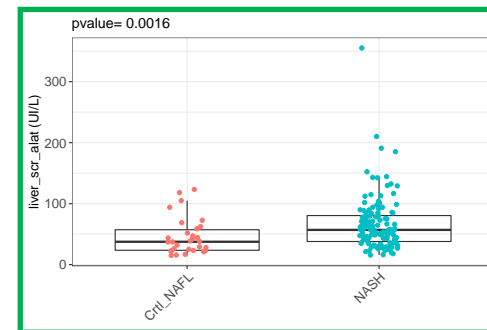
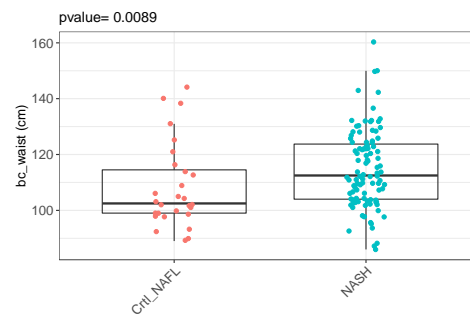
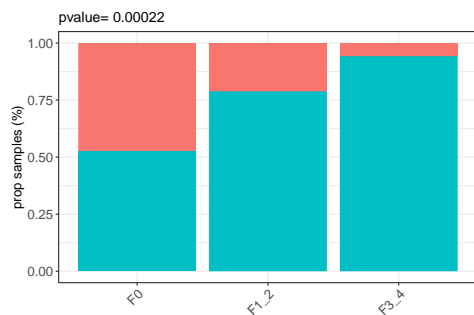
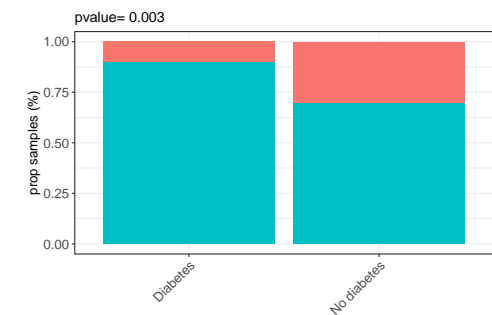
- En revanche, dans le groupe NASH, il y a une plus grande proportion de diabétiques et de stades avancés de fibrose (F3:4), ainsi que des **valeurs plus élevées** de **tour de taille** et de taux d'enzymes hépatiques.

EPoS NAFLD cohort.



	Crtl_NAFL (n=31)	NASH (n=127)	P value
clin_sex: F	10 (32.3%)	52 (40.9%)	0.495
M	21 (67.7%)	75 (59.1%)	
clin_age	60.0 [47.5;69.5]	58.0 [50.5;65.0]	0.605
bc_weight	88.8 [72.5;99.0]	90.0 [80.8;106]	0.294
bc_bmi	31.1 [27.2;35.7]	32.4 [29.0;36.7]	0.104
clin_obesity_stage: Non Obese	15 (48.4%)	43 (33.9%)	0.317
Obese	7 (22.6%)	39 (30.7%)	
Severely Obese	9 (29.0%)	45 (35.4%)	

- Nous n'avons pas trouvé de différences statistiquement significatives entre les principaux paramètres morphologiques dans les différents grades de NAFLD.

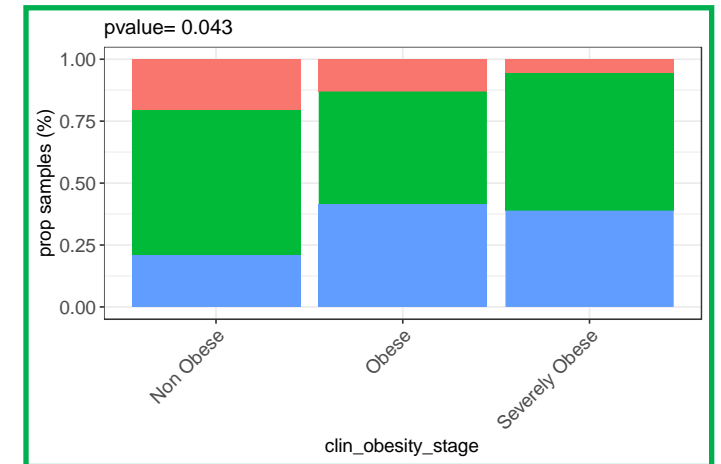
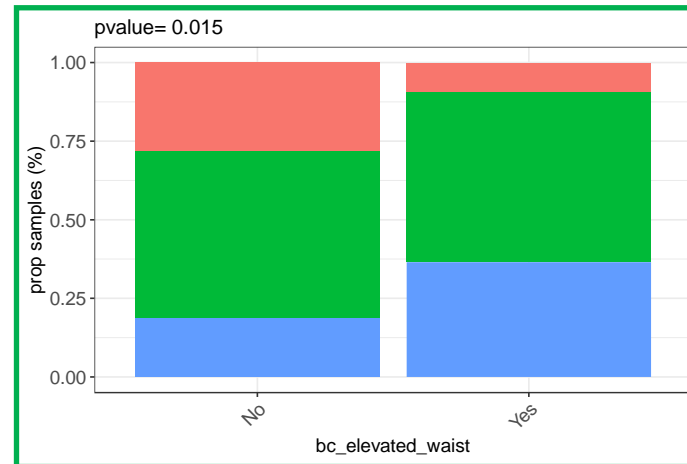
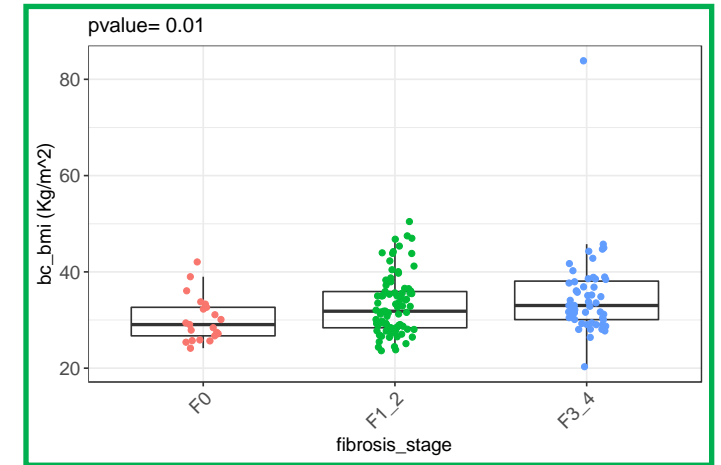
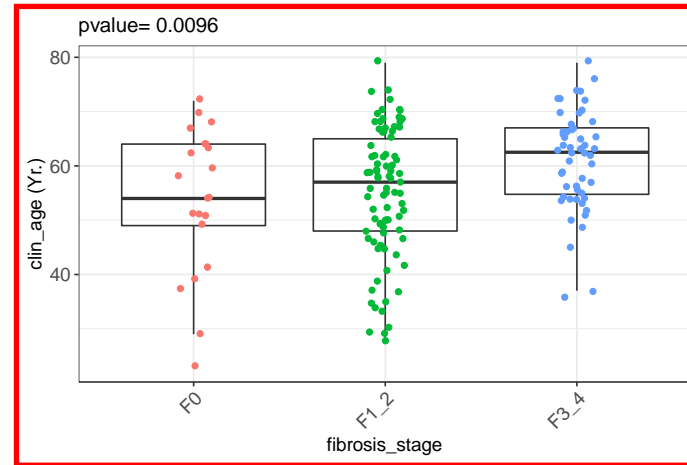


- En revanche, dans le groupe NASH, il y a une plus grande proportion de diabétiques et de stades avancés de fibrose (F3:4), ainsi que des valeurs **plus élevées** de tour de taille et de **taux d'enzymes hépatiques**.

EPoS NAFLD cohort.

En revanche, beaucoup plus de variables sont affectées par le degré de fibrose, avec l'aggravation de la fibrose :

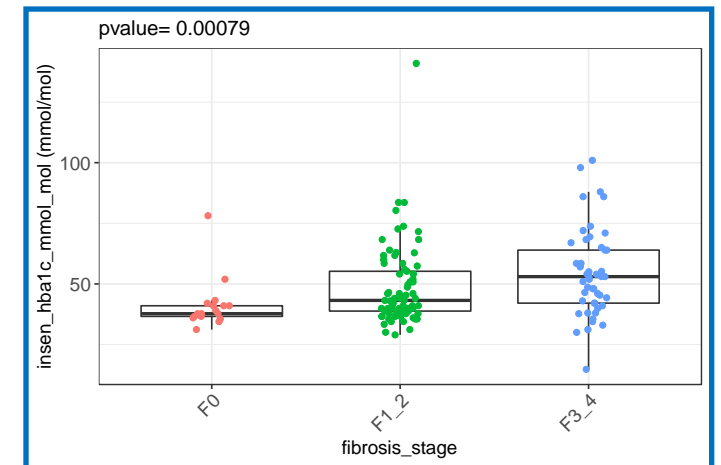
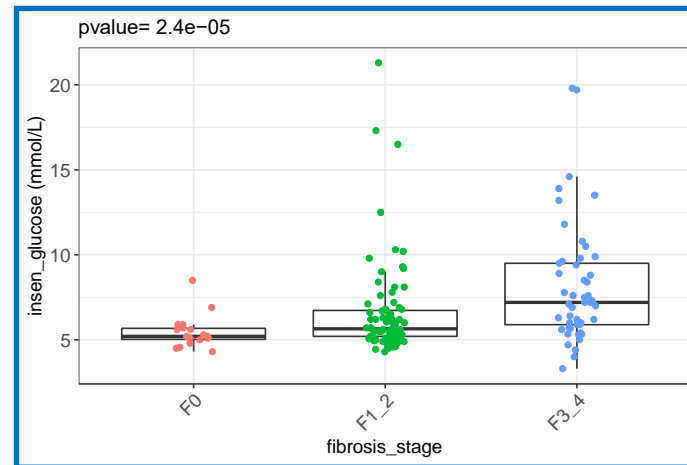
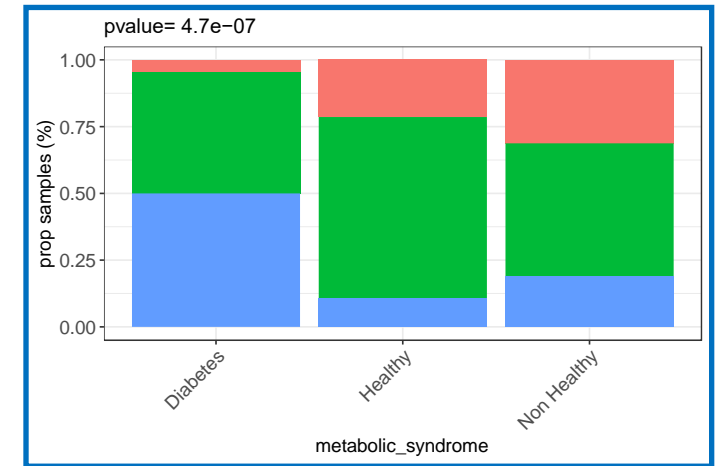
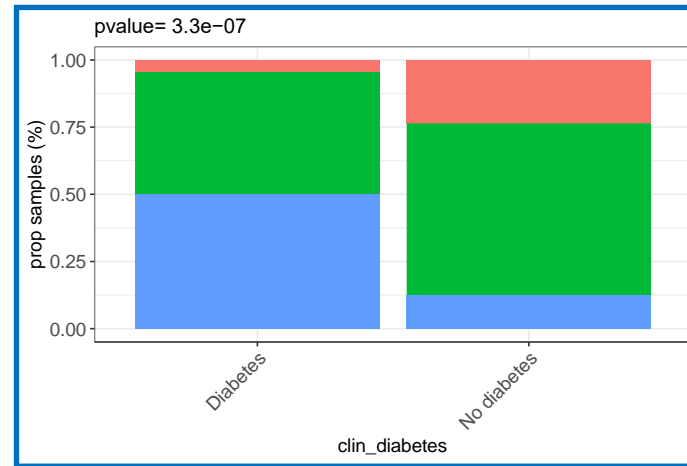
- Augmentation de l'**AGE**.
- Augmentation de l'**obésité** et des caractéristiques associées.
- Mauvaise santé métabolique.
- Une proportion importante d'autres maladies ou altérations comme l'hypertension et la dyslipidémie.



EPoS NAFLD cohort.

En revanche, beaucoup plus de variables sont affectées par le degré de fibrose, avec l'aggravation de la fibrose :

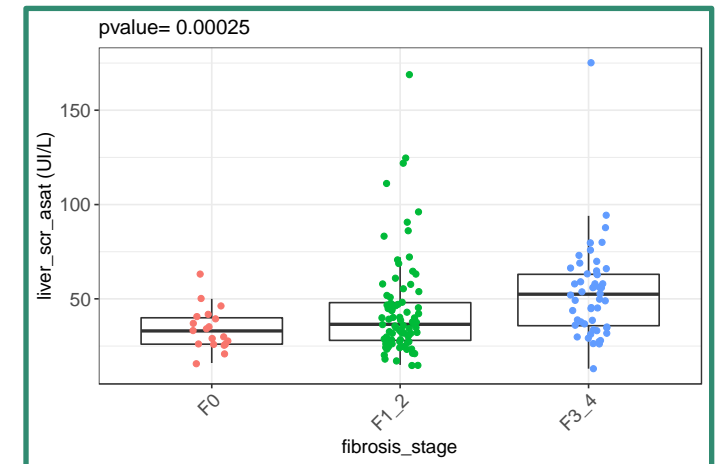
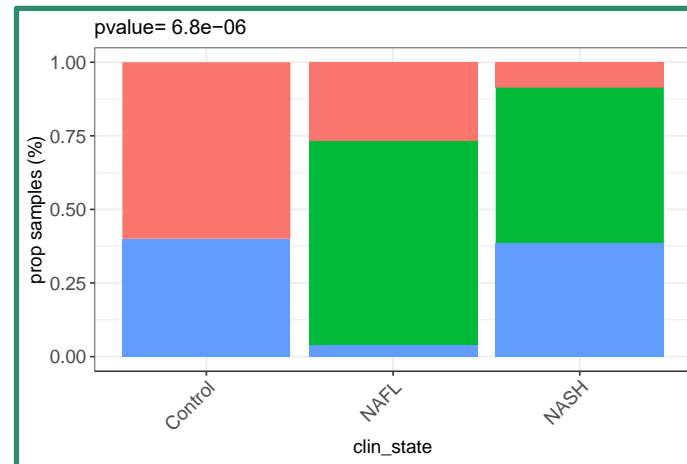
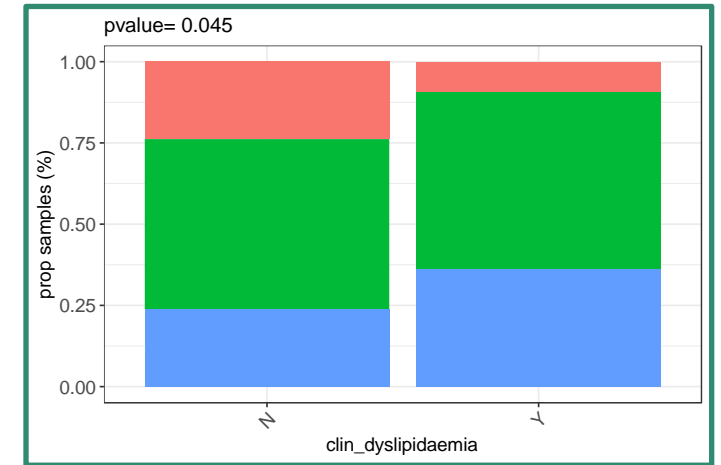
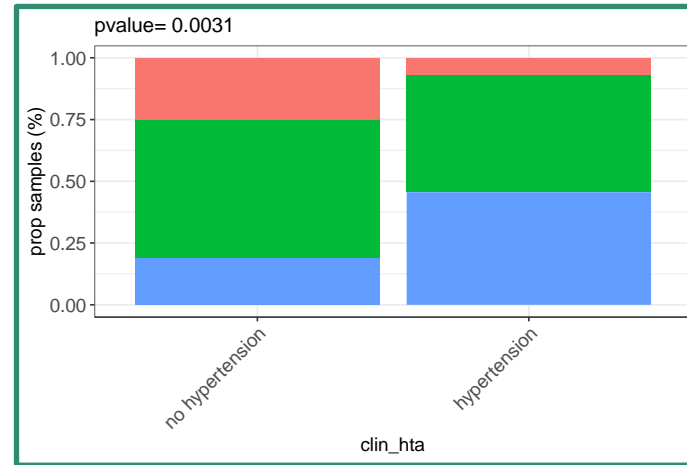
- Augmentation de l'AGE.
- Augmentation de l'obésité et des caractéristiques associées.
- **Mauvaise santé métabolique.**
- Une proportion importante d'autres maladies ou altérations comme l'hypertension et la dyslipidémie.



EPoS NAFLD cohort.

En revanche, beaucoup plus de variables sont affectées par le degré de fibrose, avec l'aggravation de la fibrose :

- Augmentation de l'AGE.
- Augmentation de l'obésité et des caractéristiques associées.
- Mauvaise santé métabolique.
- Une proportion importante **d'autres maladies ou altérations** comme l'hypertension et la dyslipidémie.

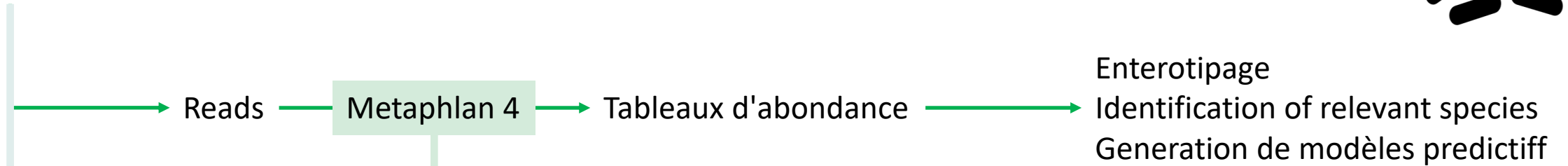


Approche expérimentale.

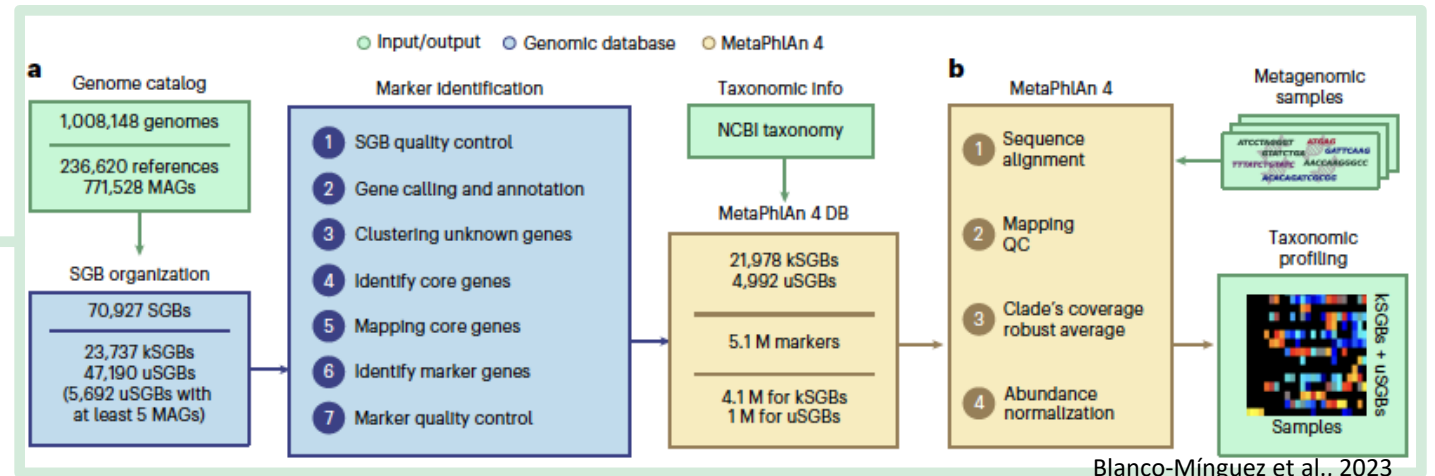
PaCeMM



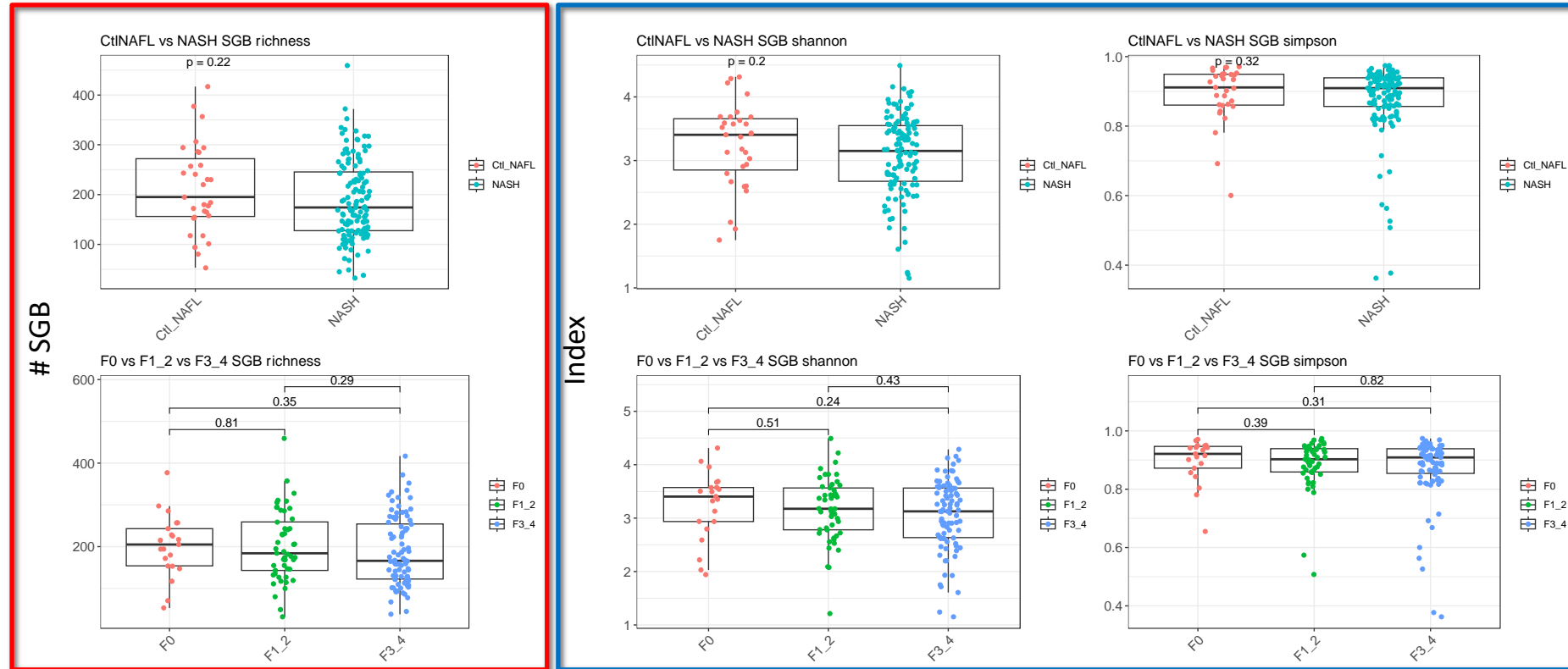
Échantillons de selles



Allemagne
France
Italie
Royaume Uni



Richesse et diversité génétique microbienne.

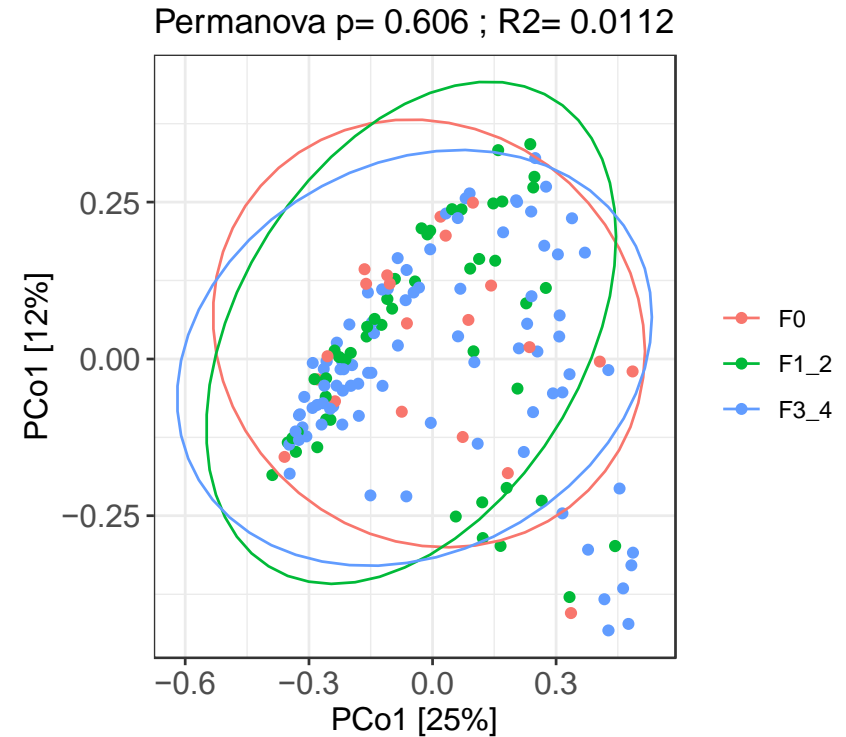
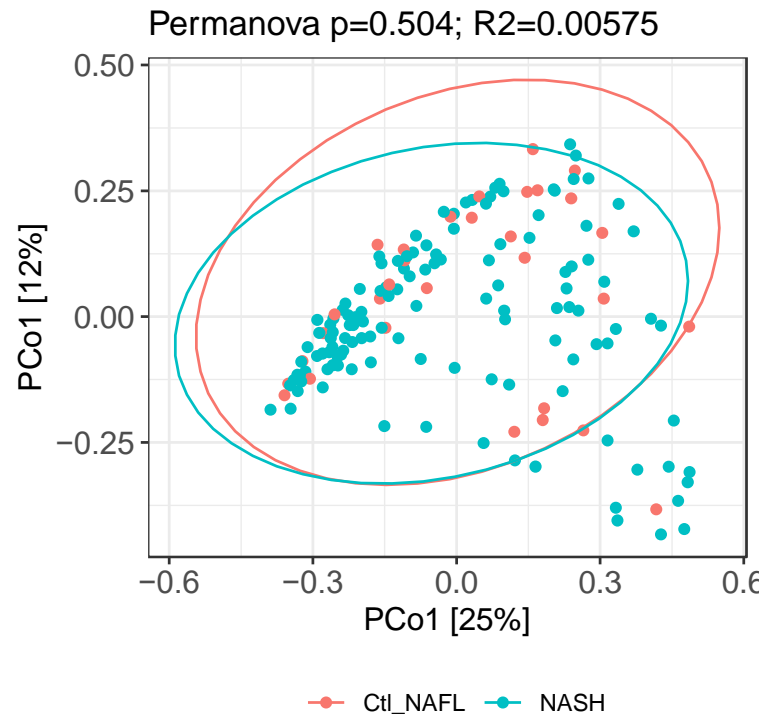


Nous n'avons pas trouvé de différences statistiquement significatives dans la **richesse totale des SGB** et dans les **indices de diversité** en fonction du degré de NAFLD et du stade de fibrose.

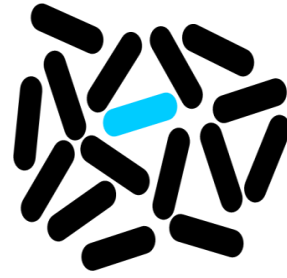
Diversité et richesse : diversité bêta.



Analyse PERMANOVA distances de Bray-Curtis au niveau du genre.

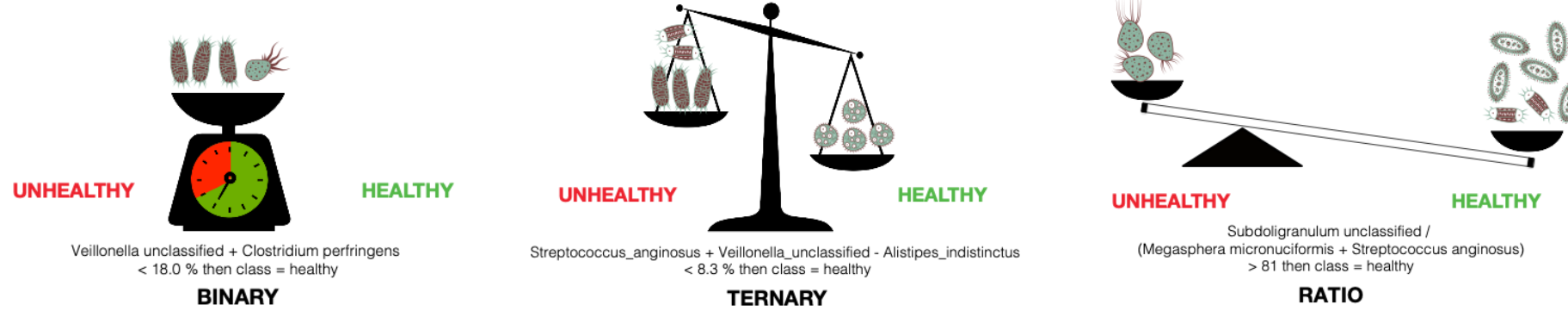


Ni le degré de NAFLD ni le stade de fibrose n'ont eu d'impact statistiquement significatif sur la variance de la communauté microbienne intestinale.



Modèles prédictifs.

- Les approches actuelles de ML (SOTAs - State Of The Art) produisent des modèles avec un grand nombre de variables difficiles à interpréter.
- Predomics (prifti et al. 2020) : inspiré par les relations écologiques, propose des modèles Bin/Ter/Ratio (BTR), qui quantifient les interactions en comparant les abondances.



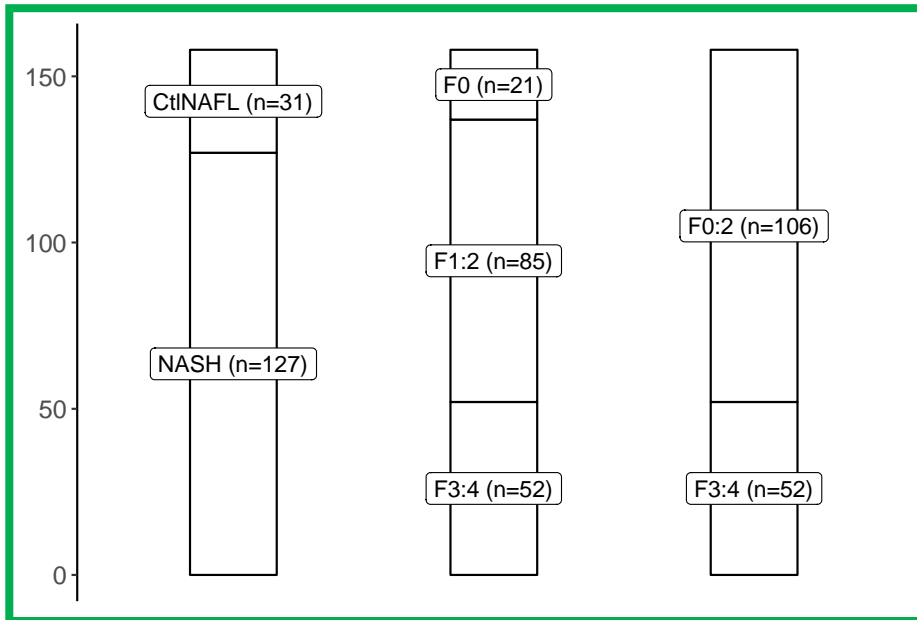
Des scores ont été générés pour chaque échantillon en combinant les abondances d'un nombre réduit d'espèces, puis la décision est prise en fonction du fait que la valeur du score dépasse (ou non) un certain seuil.



Modèles prédictifs.

- Les approches actuelles de ML (SOTAs - State Of The Art) produisent des modèles avec un grand nombre de variables difficiles à interpréter.
- Predomics (prifti et al. 2020) : inspiré par les relations écologiques, propose des modèles Bin/Ter/Ratio (BTR), qui quantifient les interactions en comparant les abondances.

Génération des modèles prédictifs pour F3:4 sur la cohorte EPoS. 10 fois 10 fois cv.

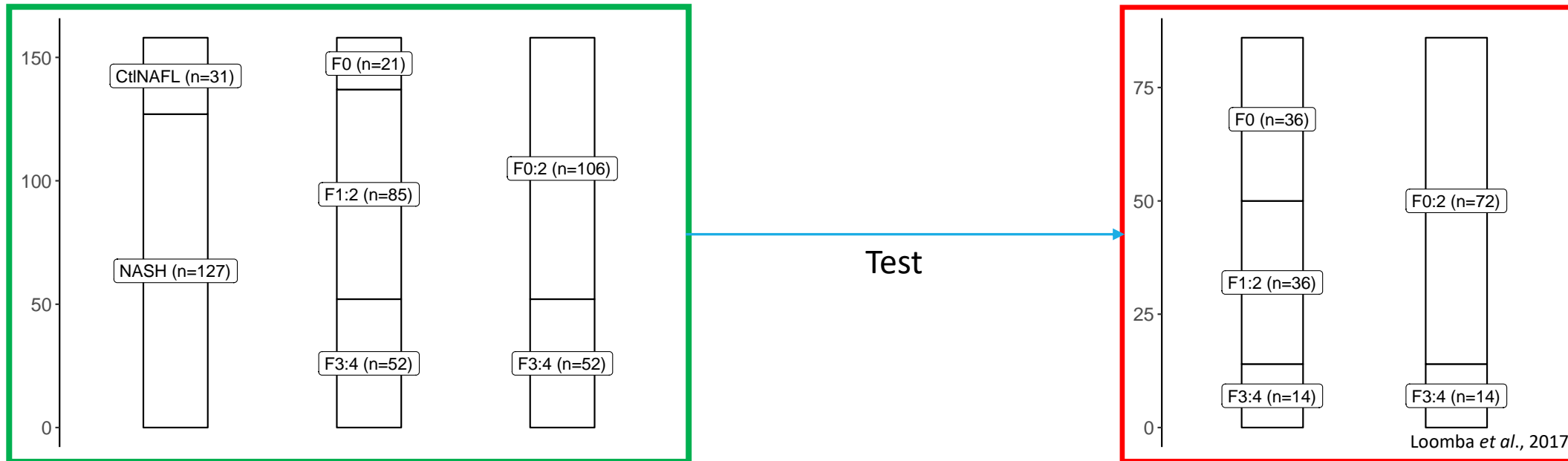




Modèles prédictifs.

- Les approches actuelles de ML (SOTAs - State Of The Art) produisent des modèles avec un grand nombre de variables difficiles à interpréter.
- Predomics (prifti et al. 2020) : inspiré par les relations écologiques, propose des modèles Bin/Ter/Ratio (BTR), qui quantifient les interactions en comparant les abondances.

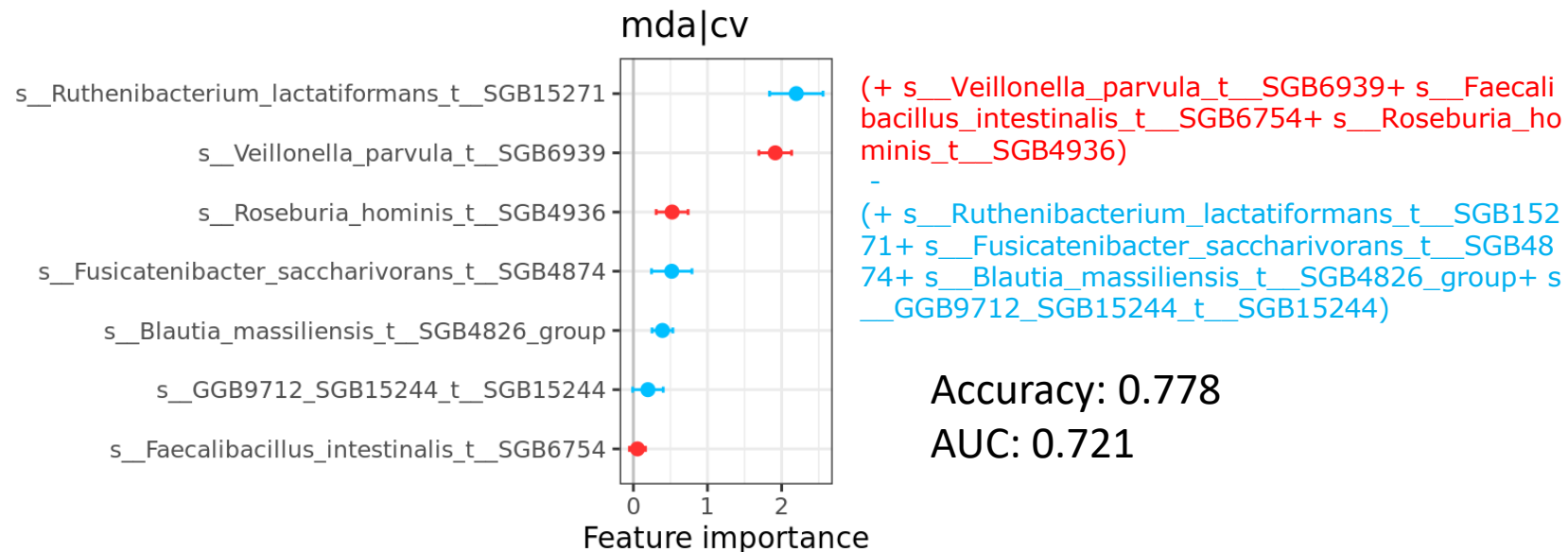
Génération des modèles prédictifs pour F3:4 sur la cohorte EPOS. 10 fois 10 fois cv. Test le modèle dans une **cohort de validation**





Modèles prédictifs.

- Les approches actuelles de ML (SOTAs - State Of The Art) produisent des modèles avec un grand nombre de variables difficiles à interpréter.
- Predomics (prifti et al. 2020) : inspiré par les relations écologiques, propose des modèles Bin/Ter/Ratio (BTR), qui quantifient les interactions en comparant les abondances.



> - **0.00035** then class = **F3:4**

L'utilisation d'un **petit facteur de pénalité (0.005)**, qui permet d'augmenter la taille du modèle plus facilement. Nous avons obtenu un modèle ternaire de 7 espèces qui permet de déterminer si un échantillon est au stade F3:4 si la soustraction entre la somme des abondances relatives des espèces en **rouge**, associées au **F3:4**, et la somme des espèces associées au **F0:2**, en **bleu**, est supérieure au **seuil**.

Modèles prédictifs.



Le modèle a été testé dans la cohorte analysée dans Loomba '17.

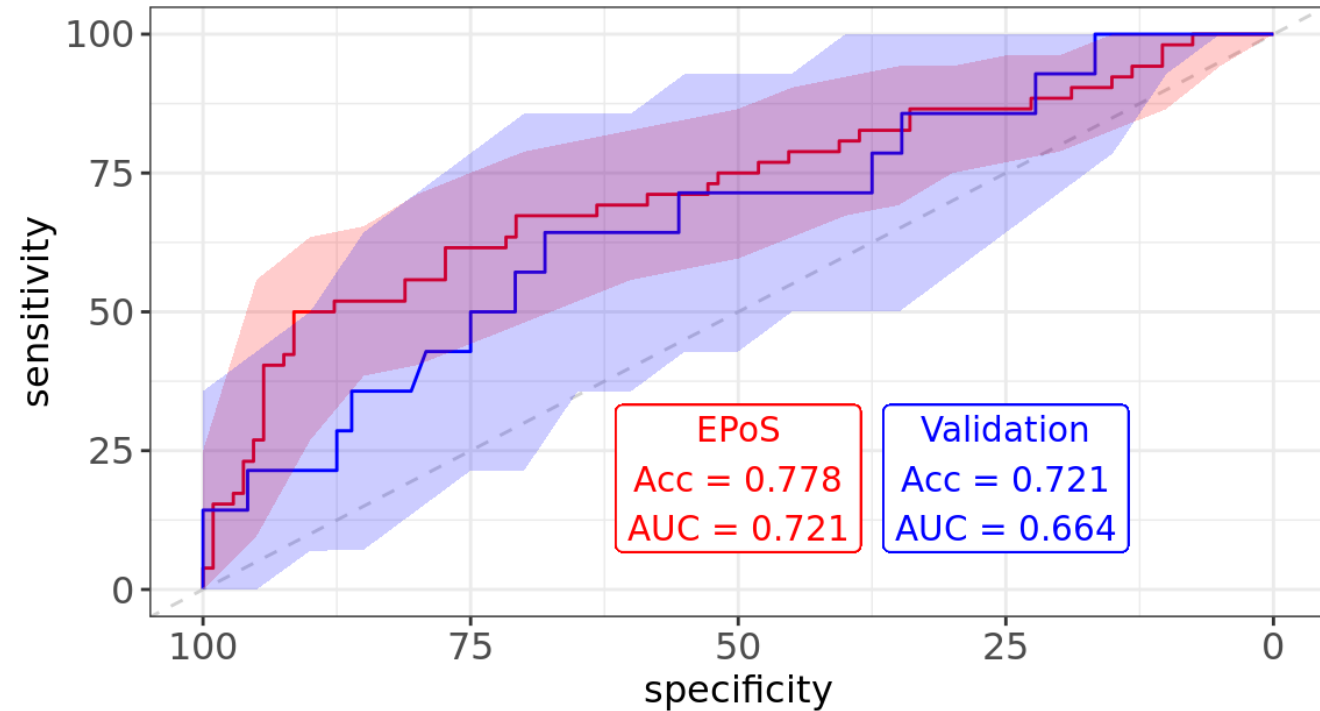
(+ s__Veillonella_parvula_t__SGB6939+ s__Faecali_bacillus_intestinalis_t__SGB6754+ s__Roseburia_hominis_t__SGB4936)

-
(+ s__Ruthenibacterium_lactatiformans_t__SGB15271+ s__Fusicatenibacter_saccharivorans_t__SGB4874+ s__Blautia_massiliensis_t__SGB4826_group+ s__GGB9712_SGB15244_t__SGB15244)

Best model for AUC

metal.terinter

prevalence_filter_20; penal_0.005





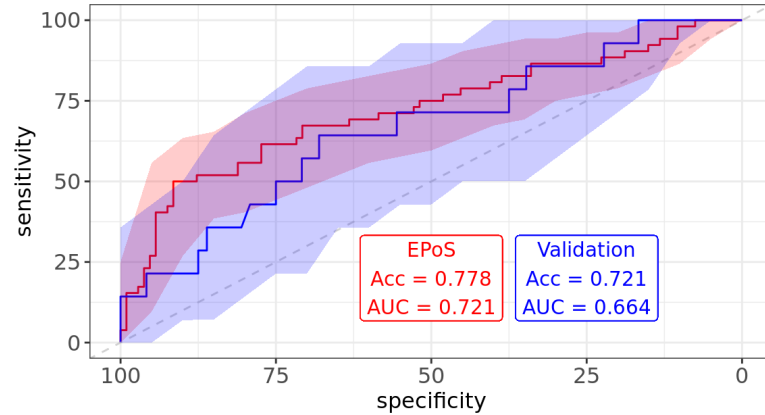
Modèles prédictifs.

Modèle 'ternary' génère avec predomics pour la fibrose avancée.

Best model for AUC

metal.terinter

prevalence_filter_20; penal_0.005

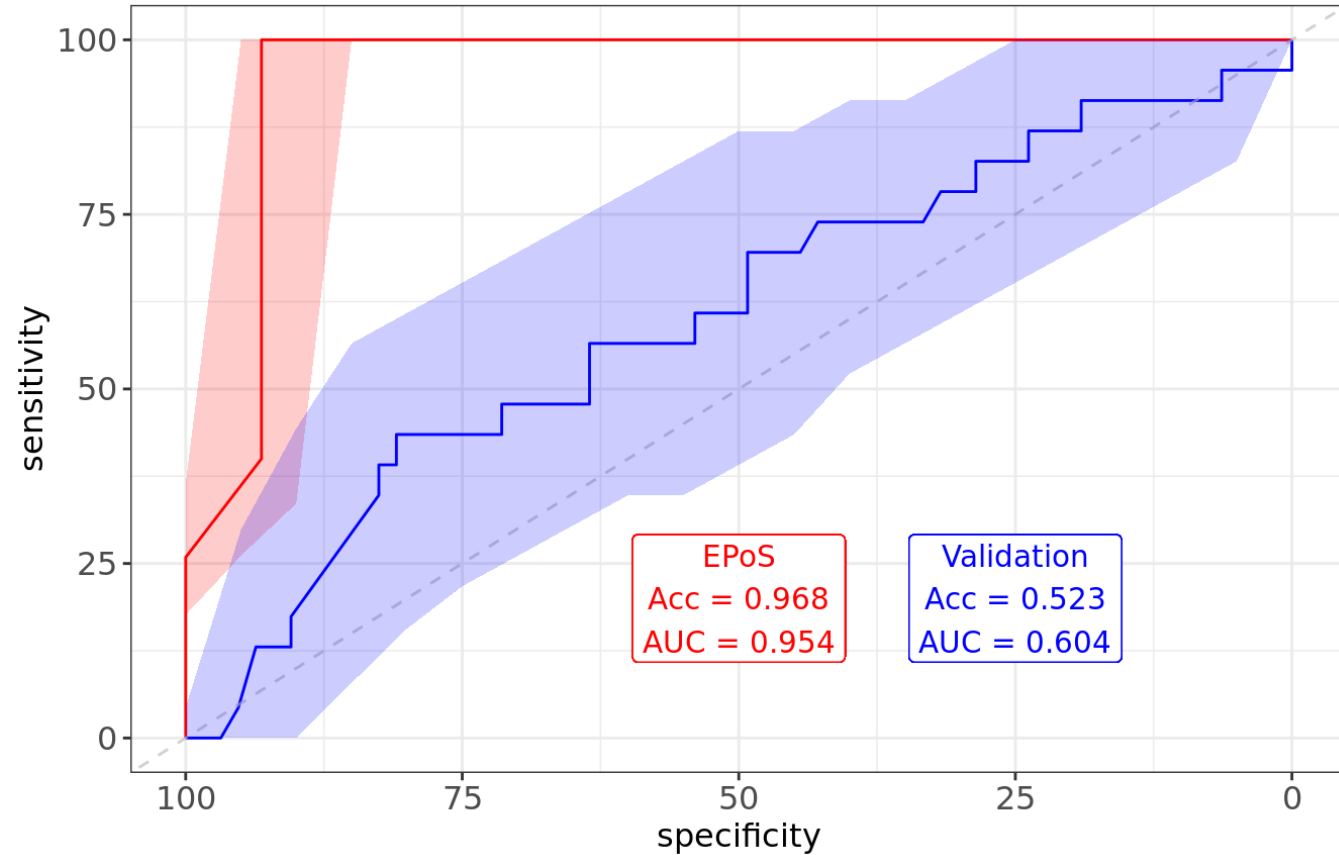


Les modèles générés à l'aide d'approches classiques d'apprentissage automatique donnent d'assez bons résultats en validation croisée au sein de la cohorte EPOs, mais leur généralisation est assez médiocre.

Random Forest model pour fibrose avancée

sota.rf

prevalence_filter_20; penal_0.015

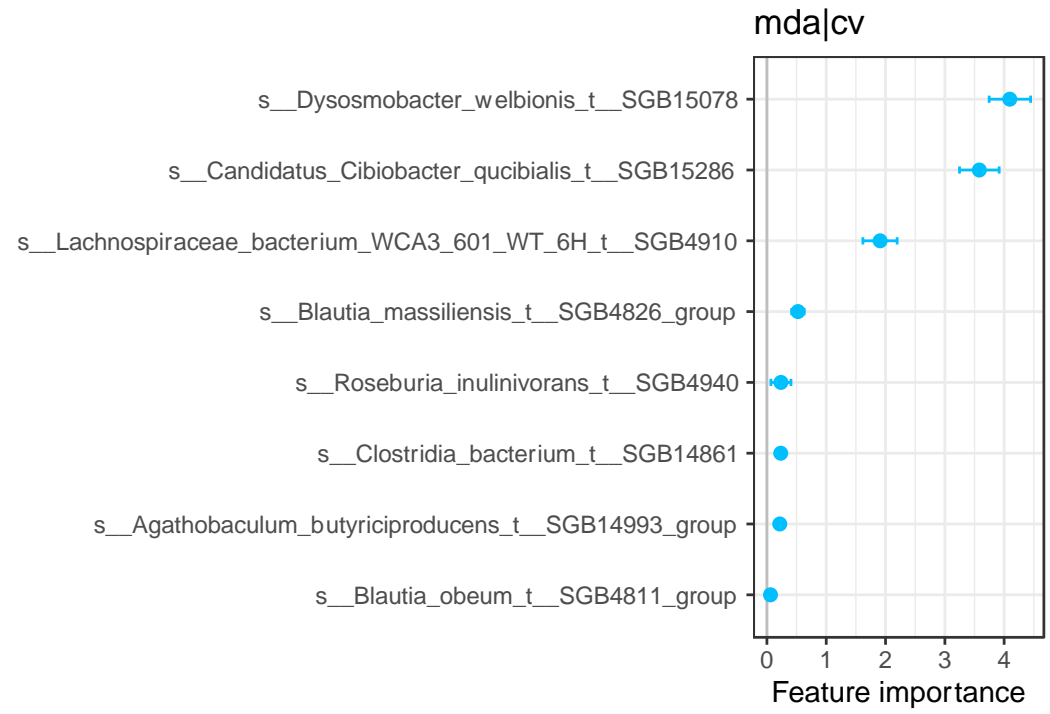


Modèles prédictifs. Pour la fibrose légère

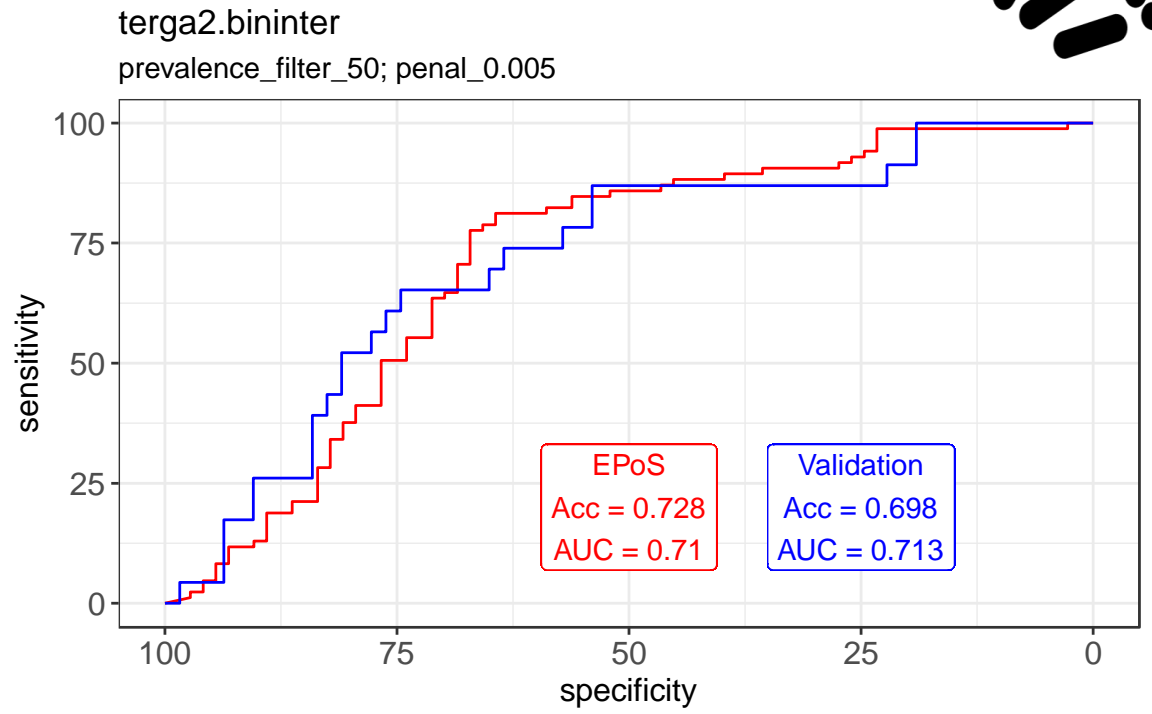


F0:1 (n=73) vs F2:4 (n=85)

Best model for AUC.test



Best model for AUC.test



modèle binaire avec une pénalité de 0,005 qui a atteint une AUC de 0,71, avec et une AUC de 0,69, avec 8 espèces.

Conclusions

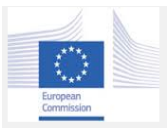
- Nous n'avons trouvé aucune différence de diversité ou de richesse entre les différents grades de NAFLD ou les différents stades de fibrose.
- Les analyses de la diversité bêta n'indiquent pas non plus de différences dans la structure du microbiome associées à l'état du foie.
- Nous avons pu générer des modèles prédictifs qui se sont relativement bien généralisés dans les cohortes de validation avec un nombre bas d'espèces.
- Les méthodes classiques d'apprentissage automatique génèrent apparemment de meilleurs modèles, du moins dans le cadre du processus VC, mais leur généralisation est plutôt médiocre dans la cohorte américaine.



nutriomics



CRNH Ile de France



LEDUCQ FOUNDATION



Karine Clément
Jean Debedat, Lise Voland, Pierre Bel Lassen, Judith Aron, Solia Adriouch, Rafael Patiño-Navarrete, Tiphaine Le Roy, Rohia Alili, Flavien Jacques Patricia Serradas, Agnès Ribeiro, Chloé Amouyal, Fabrizio Andreelli, Sébastien André, Christine Poitou, Béatrice Dubern, Alice Bellicha, Florence Marchelli, Véronique Pelloux, Nataliya Sokolovska, Hedi Soula, Isabelle Dugail, Geneviève Marcelin, Michèle Guerre Millo, Florian Marquet, Christine Rouault, Celine Osinski, Fatiha Merabtene

JD Zucker, Edi Prifti, Youcef Sklab

Jean-Michel Oppert :
Nutrition Dept.



Coordinator Prof. Quentin Anstee
Newcastle



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO



Clinical centers.

APHP (Pr. Vlad Ratziu), Angers (Pr Jérôme Boursier), Newcastle (Pr Quentin Anstee), Mainz (Joern Schattenberg), Torino (Pr Elisabetta Bugianesi). Wurzburg (Pr Andreas Geier), Amsterdam (Max Nieuwdorps)



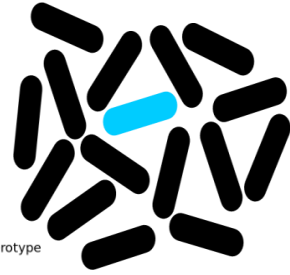
Tim Swartz
Eugeni Belda, Nils Giordano,
Stéphanie Rinks



Supplementary support slides

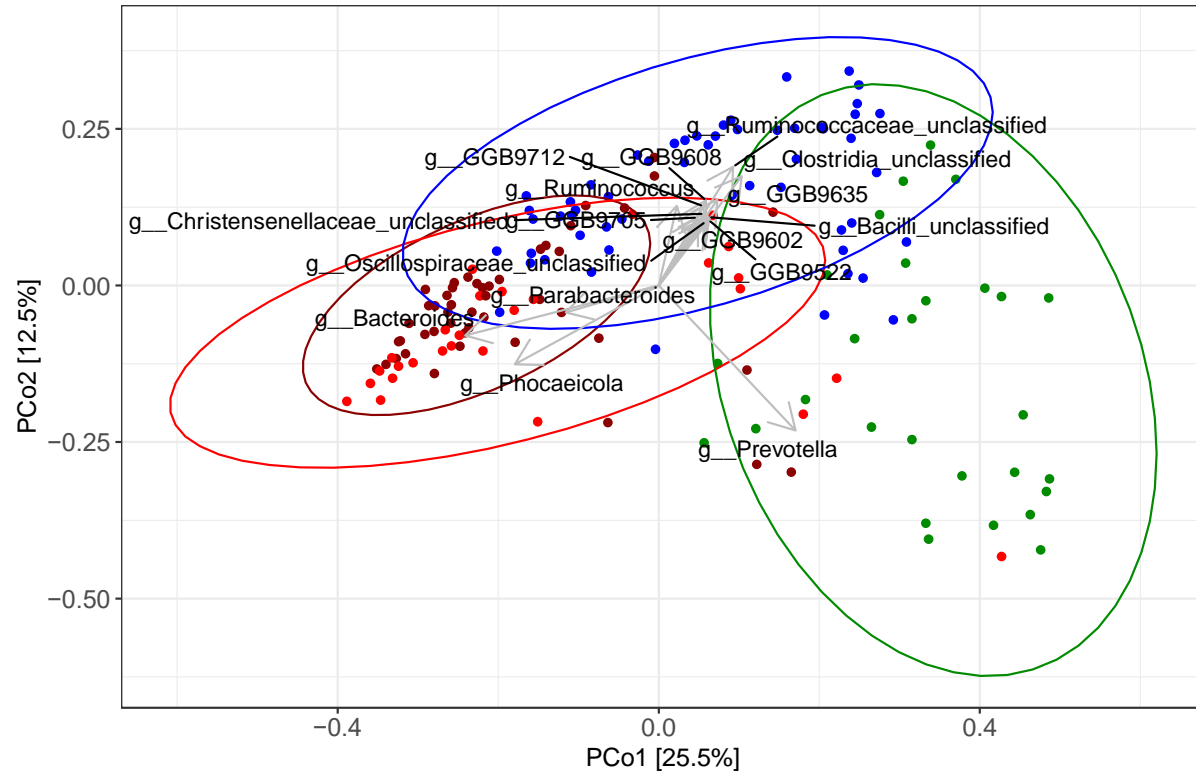
Enterotype.

PaCeMM



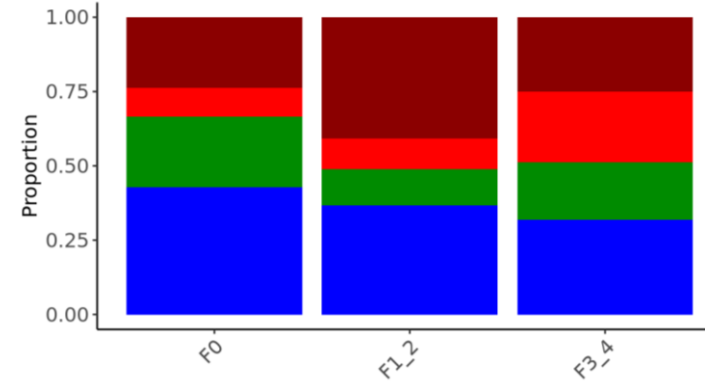
Permanova $p=0.001$; $R^2=0.24$

● Bact-1 ● Bact-2 ● Prevotella ● Ruminococcus



Fibrosis stage distribution; DMMK4.sep

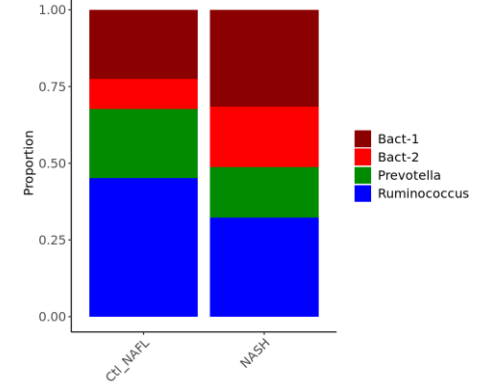
Chi sqr pvalue: 0.16



EPOs enterotype

NAFLD grade distribution

Chi sqr pvalue: 0.287

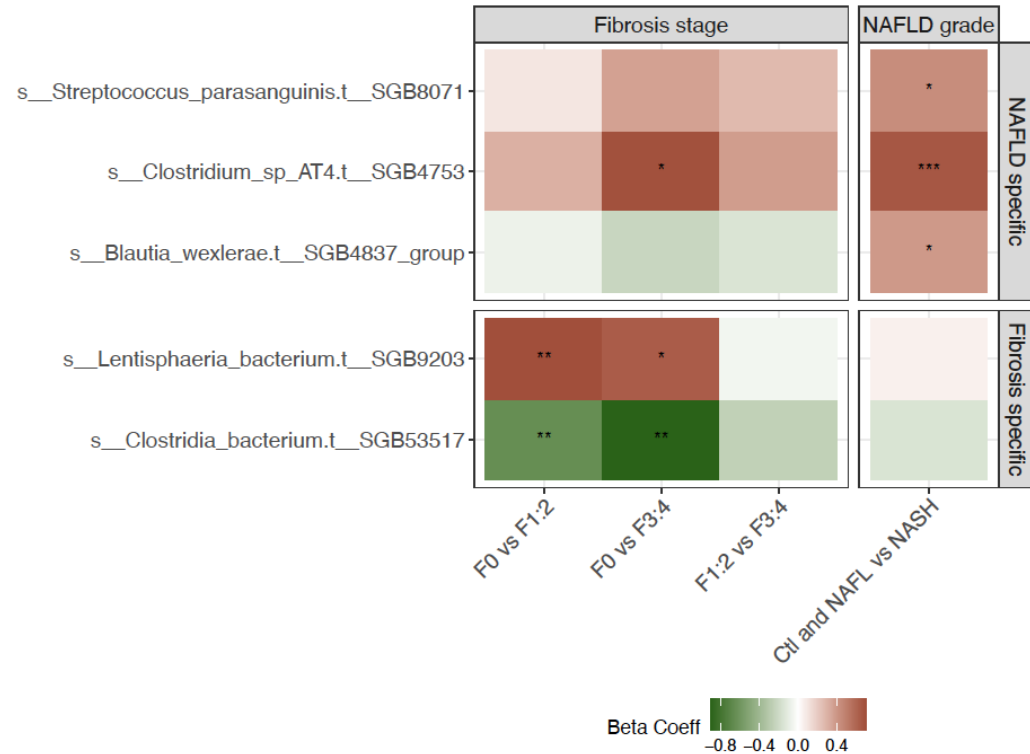


Bien que nous ayons détecté les quatre entérotypes, nous n'avons pu associer aucun d'entre eux à l'un des grades de nafld ou à l'un des stades de fibrose..

Signatures microbiennes.

Scaled(SGB abn) ~ Liver status+ Adjustments Adjustments: clin_sex+clin_age+clin_diabetes+clin_obesity_stage+Statin+center

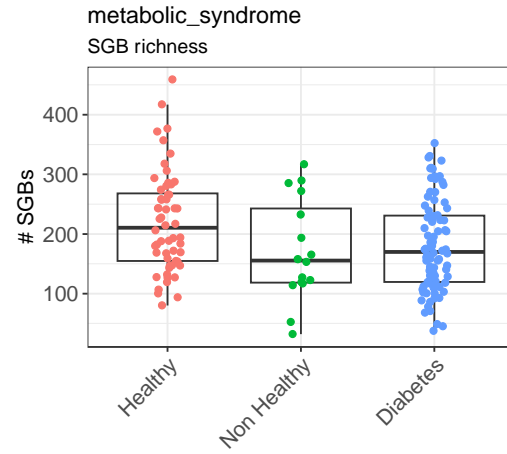
Jusqu'à 17 modèles ont montré des valeurs p globales significatives (FDR < 0,05), cependant seulement dans 5 des SGB le statut du foie a eu un impact significatif sur l'abondance des SGB, trois associés à la NAFLD et deux associés au stade de la fibrose.



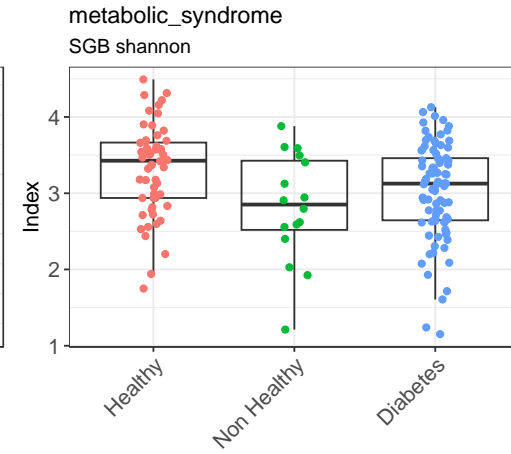
*, pval < 0.05; **, pval < 0.01; ***, pval < 0.001



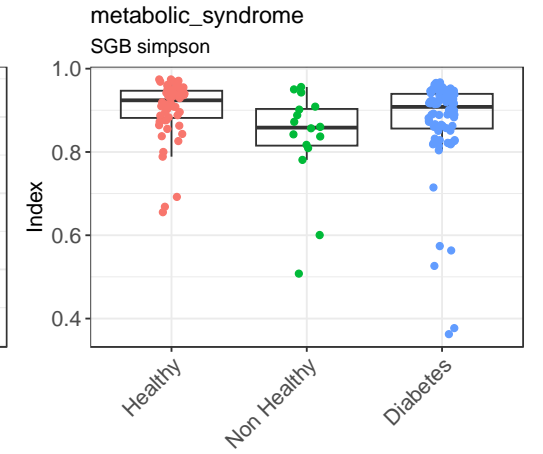
Diversity and richness: other features affected



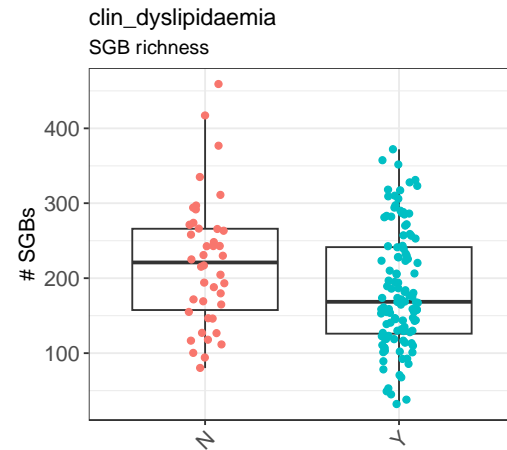
KW p-value = 0.023



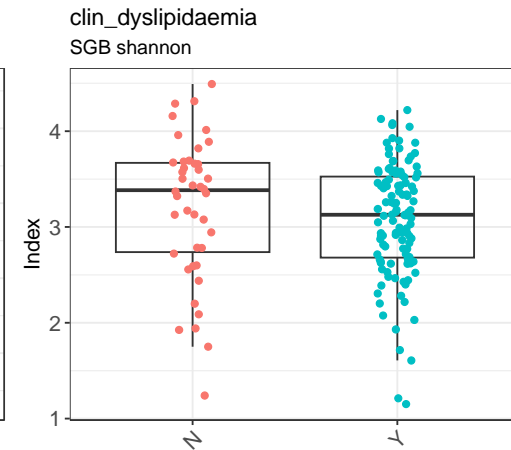
KW p-value = 0.01



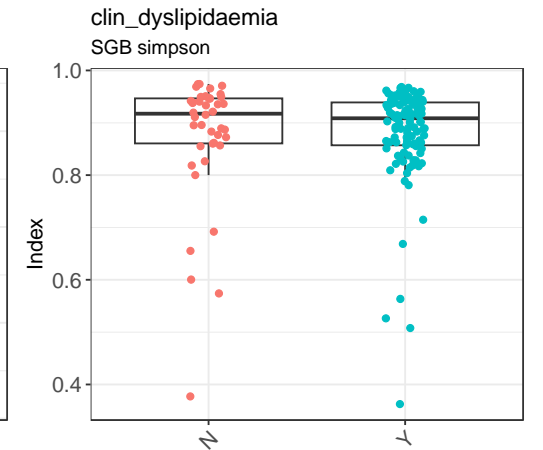
KW p-value = 0.0115



KW p-value = 0.0256



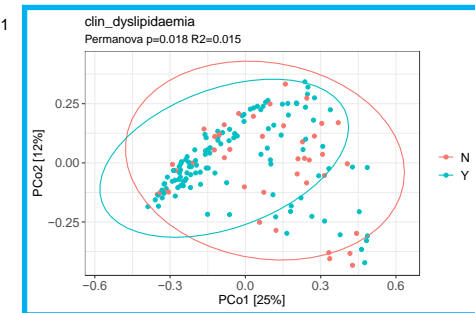
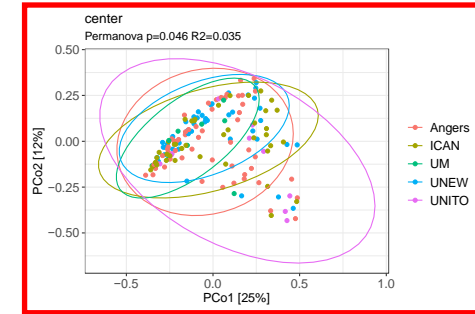
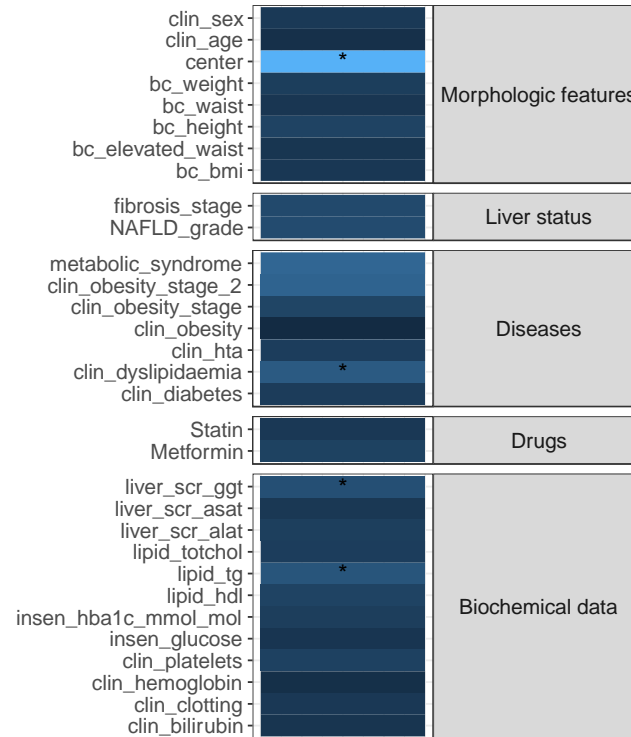
KW p-value = 0.172



KW p-value = 0.436

In contrast, we detected a reduction in richness and diversity in the diabetic samples, or the participants with insulin resistance, and in the group of participants with dyslipidaemia we only detected a reduction in the richness.

Beta diversity, all clinical features



Four variables show a statistical significant impact on the gut microbial community structure, levels of triglycerides and liver GGT, the recruitment **centre** and the presence of **dyslipidaemia**

PERMANOVA Rsquares; * pval < 0.05

