

Année 2021 / 2022

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Alexandre BOISSAIS

Né le 05/08/1992 à Clamart (92)

UN MODELE DIAGNOSTIQUE PREDICTIF DE LA VASCULARITE A IMMUNOGLOBULINE DE TYPE A BASE SUR UNE APPROCHE METABOLOMIQUE

Présentée et soutenue publiquement le **30 mai 2022** date devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur François MAILLOT, Médecine interne, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeure Hélène BLASCO, Biochimie et Biologie moléculaire, Faculté de Médecine - Tours

Docteur Adrien BIGOT, Médecine interne, PH, CHU - Tour

**Directrice de thèse : Doctoresse Alexandra AUDEMARD VERGER, Médecine interne, MCU-PH,
Faculté de Médecine – Tours**

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr Henri MARRET

ASSESSEURS

Pr Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*

Pr Mathias BUCHLER, *Relations internationales*

Pr Theodora BEJAN-ANGOULVANT, *Moyens – relations avec l'Université*

Pr Clarisse DIBAO-DINA, *Médecine générale*

Pr François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*

Pr Patrick VOURE'H, *Recherche*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (†) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Pr Georges DESBUQUOIS (†) – 1966-1972

Pr André GOUAZE (†) – 1972-1994

Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON

Pr Gilles BODY

Pr Jacques CHANDENIER

Pr Philippe COLOMBAT

Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr Pascal DUMONT

Pr Dominique GOGA

Pr Gérard LORETTE

Pr Dominique PERROTIN

Pr Roland QUENTIN

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – P. BARDOS – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L. CASTELLANI – A. CHANTEPIE – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – P. COSNAY – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUDEAU – J.L. GUILMOT – O. HAILLOT – N. HUTEN – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE – AM. LEHR-DRYLEWICZ – E. LEMARIE – G. LEROY – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
APETOH Lionel	Immunologie
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BAKHOS David.....	Oto-rhino-laryngologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERHOUE Julien	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BOURGUIGNON Thierry	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESOUBEAUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice.....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri.....	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Médecine intensive – réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GATAULT Philippe.....	Néphrologie
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUILLON Antoine.....	Médecine intensive – réanimation
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
IVANES Fabrice.....	Physiologie
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd.....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique.....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie

MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	Pédiatrie
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clarisse
LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs
POTIER Alain Médecine Générale
ROBERT Jean Médecine Générale

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine Anglais

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AUDEMARD-VERGER Alexandra Médecine interne
BARBIER Louise Chirurgie digestive
BINET Aurélien Chirurgie infantile
BISSON Arnaud Cardiologie (CHRO)
BRUNAUT Paul Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès Biostat., informatique médical et technologies de communication
CARVAJAL-ALLEGRIA Guillermo Rhumatologie (au 01/10/2021)
CLEMENTY Nicolas Cardiologie
DENIS Frédéric Odontologie
DOMELIER Anne-Sophie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane Biophysique et médecine nucléaire
ELKRIEF Laure Hépatologie – gastroentérologie
FAVRAIS Géraldine Pédiatrie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie Anatomie et cytologie pathologiques
GOUILLEUX Valérie Immunologie
GUILLON-GRAMMATICO Leslie Epidémiologie, économie de la santé et prévention

HOARAU Cyrille	Immunologie
LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEFORT Bruno.....	Pédiatrie
LEGRAS Antoine.....	Chirurgie thoracique
LEMAIGNEN Adrien	Maladies infectieuses
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste.....	Radiologie pédiatrique
PARE Arnaud.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille.....	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET Bénédicte	Thérapeutique
STANDLEY-MIQUELESTORENA Elodie	Anatomie et cytologie pathologiques
STEFIC Karl.....	Bactériologie
TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure.....	Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
NICOGLLOU Antonine	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

BARBEAU Ludivine.....	Médecine Générale
ETTORI-AJASSE Isabelle.....	Médecine Générale
PAUTRAT Maxime	Médecine Générale
RUIZ Christophe.....	Médecine Générale
SAMKO Boris.....	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRAE

BECKER Jérôme.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BRIARD Benoit.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
CHALON Sylvie	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
DE ROCQUIGNY Hugues	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
ESCOFFRE Jean-Michel.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GILOT Philippe.....	Chargé de Recherche Inrae – UMR Inrae 1282
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – EA 7501 - ERL CNRS 7001
GOMOT Marie.....	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
KORKMAZ Brice	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
LATINUS Marianne.....	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LAUMONNIER Frédéric.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LE MERREUR Julie.....	Directrice de Recherche CNRS – UMR Inserm 1253
MAMMANO Fabrizio.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
PAGET Christophe	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche Inserm – UMR CNRS 1069
SI TAHAR Mustapha.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SUREAU Camille	Directrice de Recherche émérite CNRS – UMR Inserm 1259
WARDAK Claire.....	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie.....	Praticien Hospitalier

Pour l'Ecole d'Orthoptie

BOULNOIS Sandrine.....	Orthoptiste
SALAME Najwa.....	Orthoptiste

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice.....	Praticien Hospitalier
-----------------------	-----------------------

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

REMERCIEMENTS

Mesdames et Messieurs les membres du jury :

A Monsieur le Professeur François MAILLOT

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury. Je vous suis également reconnaissant de juger ce travail et de l'intérêt que vous y avez porté. Veuillez trouver l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Madame la doctoresse Alexandra AUDEMARD-VERGER

Merci de m'avoir permis de travailler sur ce sujet de m'avoir épaulé dans la méthodologie et la rédaction de cette thèse. Je te suis reconnaissant de m'avoir entraîné et d'avoir été présente lors des communications orales. Enfin, je te remercie de m'encadrer dans la réalisation du mémoire.

A Madame le Professeur Hélène BLASCO

Un grand merci d'avoir accepté de travailler sur ce sujet et de m'avoir apporté les connaissances théoriques et pratiques en métabolomique, nécessaires à sa réalisation.

A Monsieur le docteur Adrien BIGOT

Merci d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse, d'avoir accepté de juger ce travail et de partager ton analyse critique.

À mes chefs et collègues de travail :

- A tous les chefs de Médecine interne du CHRU de Tours, c'est avec vous que j'ai fait mes premiers d'internes et ce fut un plaisir de travailler avec tous. Un grand merci pour ces années.
- Aux chefs de médecine interne de l'Hôpital de Blois, merci de votre bonne humeur et de votre bienveillance

À l'ensemble des équipes paramédicales :

- IDE, AS, ASH, secrétaires... Un grand merci de votre bonne humeur et de vos sourires. Votre soutien a été important car tous les jours de la vie d'un interne ne sont pas évidents.
- Un grand merci particulièrement à Florence et à Camille et à notre amitié. Flo, sache que je ne manquerai pas de demander des conseils. Cam, mon âme baroudeuse m'amènera peut-être avec venir te faire coucou sous les tropiques de Saint-Pierre-et-Miquelon.

À l'équipe du laboratoire de métabolomique et d'analyse chimique de Tours :

- Merci à Monsieur le Professeur Patrick EMOND d'avoir assuré la supervision scientifique de ce travail.
- Merci à Monsieur Antoine Lefèvre, ingénieur de recherche, ayant réalisé les analyses des échantillons de l'étude et sans qui ce travail n'aurait pas été possible.

À mes co-internes :

- Camille, Maelenn, Charlotte et Yoann : merci à tous les 4 pour ses années. C'est ensemble que nous avons découvert la région et c'est toujours un plaisir de vous retrouver autour d'un verre ou pour un escape game.
- Un grand merci Chloé pour ton soutien au cours de ces quelques semestres en commun. Tu sais toujours faire preuve d'entrain et d'une telle énergie.
- A tous mes autres co-internes : Simon, Alexis, Jean Marie, Kim, Margaud, Marion, Edo, Inès, Jonathan, Marie Charlotte, Anne Laure, Léa, Sarah, Mathilde, Matthieu ; et à tous ceux que j'aurais pu oublier ou que je ne connais pas encore... tous mes vœux de réussite pour la suite de vos études et de vos carrières.

A mes amis :

- A notre groupe de PACES merci à vous pour cette année (ces 2 années pour être plus juste). Malgré le temps et la distance, on a toujours réussi à se retrouver.
Damien, que j'ai connu dès le primaire, un grand bravo pour ton parcours. C'est incroyable tout ce chemin parcouru. Garde toujours ton esprit et ton sens de l'ironie.
Deydey, continue toujours de nous faire rire et surtout n'arrête jamais de rire de mes blagues.
Pauline, garde toujours cette énergie de vivre et cette envie de faire la fête.
Kéké reste toujours « mdr » en toute circonstance.
- A la Team de KB, merci à vous pour toutes ces années. A nous tous, on couvre la France entière. Et pourtant on a su rester là, les uns pour les autres.
A Christelle continue toujours de mettre de la bonne humeur à chaque instant et n'arrête pas tes efforts pour apprendre à dire Non (ou du moins essaye).
A Stéph (alias Dardou ou aussi VBDE), garde toujours ton sourire et sache que je n'oublierai jamais cette imitation (involontaire) du chameau ; à moins de quelques tournées à la Rhumerie.
Linda, merci à toi pour ces années d'externats. Tu es toujours là pour les autres ; ne change pas. Encore félicitations pour cette union ; tous mes vœux de bonheur aux mariés.
À Al et Odilus mes rhumatos préférées (oui, personne n'est parfait...) continuez de me faire rire et sachez que pour un 'Tourment d'Amour' et un 'Spanakópita' je suis toujours là.
A Témini, notre danseuse de flamenco, sache que malheureusement la dance pour moi c'est peine perdue mais reste la même.
- A Valou et Soso, merci d'être vous. Vous êtes complètement barges et c'est super. Ne changez pas. J'ai hâte de refaire des guinguettes et des week-end avec vous.
- A la team de la Réa : Sophie, Céline, Camélia, Clara, Marie, Fanny, Marc. Un grand merci à vous pour l'un des stages les plus difficiles ; en cette période compliquée. J'ai toujours pu compter sur vous et nos sorties orléanaises étaient de grandes bouffées d'air frais. Je me demande encore pourquoi la tirelire de la salle de staff n'est pas plus

remplie ; et n'oubliez pas : « jamais plus de 4 dossiers à présenter le lundi matin en staff ».

- A Julien : un grand merci à toi, je te souhaite le meilleur ainsi qu'à ta famille. Un bisou à Alexandra et à la petite Béatrice.
- A Cécile merci aussi. Je te souhaite le meilleur pour la suite. Un bisou à Benjamin et au petit Tristan.
- Une mention spéciale à toi Clarisse que j'ai connue grâce à Deydey. Ce week-end à Londres, avec toute la bande restera mémorable. Mes félicitations à Gautier et à toi pour votre union ; je vous souhaite tous mes vœux de bonheur.

A Elzéar :

A notre rencontre et à la découverte de cette magnifique ville qu'est Tours. Merci d'être présent et de ta patience pour cette dernière ligne droite. Merci d'être là et d'être toi.

A nos futurs voyages à travers le monde.

À ma famille :

A mes parents, qui m'ont toujours soutenu et poussé à travailler pour faire ce qu'il me plait dans la vie. Merci pour votre amour sans faille et de l'éducation que vous m'avez inculqué. Merci d'être toujours là pour moi.

A mes grands-parents : A Mamie Danièle, à Mimi et à Mamie Yolande merci de m'encourager et de me soutenir. J'espère vous rendre fier et vous me manquer tant. (Un gros câlin à Lola).

A mon frère, Roro, merci d'être là pour moi. Je sais que je pourrai toujours compter sur toi pour tout et notamment pour ce qui s'agit de l'immobilier. Je compte sur toi pour le jour de la livraison. Je sais également que je peux compter sur toi pour toutes les bonnes adresses de

restaurants. En nous regardant, qui pourrait croire qu'on est jumeaux ? Et pourtant on se complète tellement bien.

Un gros bisou à Andréa, merci de ta bonne humeur et de la joie que tu apportes à mon frère.

Enfin, un gros câlin à Chipie, ma petite boule de poil. Je peux compter sur toi pour me réveiller plusieurs fois par nuit ; cela me donne de l'entraînement pour les gardes aux urgences.

RESUME

Contexte : La vascularite à IgA est une maladie systémique rare qui met en jeu le pronostic vital principalement en raison de l'atteinte digestive ou rénale. Le diagnostic est difficile à établir chez environ un quart des patients, du fait d'absence de dépôt d'IgA au sein du derme des patients.

Objectif : L'objectif de cette étude était d'explorer le métabolome sérique de patients atteints de vascularite à IgA afin d'identifier d'éventuels biomarqueurs diagnostiques.

Méthodes : Nous avons réalisé une étude comparant le métabolome sérique de patients adultes atteints de vascularite à IgA, et de témoins atteints de spondylarthrite ; appariés en âge et en sexe. L'analyse des échantillons sériques a été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à de la spectrométrie de masse. Les données ont été analysées par analyse univariée et multivariée supervisée et non supervisée. En cas de modèle diagnostique performant, une validation sur population indépendante a été effectuée afin d'évaluer son intérêt en routine.

Résultats : Nous avons comparé le métabolome de 55 patients atteints de vascularite à IgA à celui de 77 témoins souffrant de spondylarthrite. L'âge médian des patients atteints de vascularite à IgA était de 53 ans [30 ; 61]. Deux tiers des patients étaient des femmes (n= 32). Au diagnostic de la vascularite, la totalité des patients présentait une atteinte cutanée. Une atteinte rénale était observée chez 69% des patients (n= 38), une atteinte articulaire chez 56% (n= 31) et une atteinte digestive chez 42% (n= 23).

L'analyse multivariée du métabolome a permis de discriminer significativement les patients atteints de vascularite à IgA de ceux atteints de spondylarthrite avec une précision supérieure à 90 % (test de permutation $p < 0,01$). Ce modèle a révélé d'excellentes valeurs prédictives sur des cohortes indépendantes : sensibilité à 98 %, spécificité à 98 %, valeur prédictive positive à 97 % et valeur prédictive négative à 98 %. Ces modèles ont mis en évidence 4 métabolites discriminants : le 1-méthyladénosine, l'acide L-glutamique, la sérotonine et la thymidine.

Conclusion : Cette étude a permis de mettre en évidence un excellent modèle prédictif diagnostique de la vascularite à IgA basé sur le métabolome sérique. Ces résultats devront être confirmés au sein cohorte indépendante de patients atteints de vascularite à IgA.

Mots clés : vascularite à IgA ; métabolomique ; biomarqueur ; spondylarthrite

ABSTRACT

Background: IgA vasculitis is a rare systemic disease that is life-threatening mainly due to digestive or renal involvement. The diagnosis is difficult to establish in about a quarter of the patients, due to the absence of IgA deposition in the dermis.

Objective: The objective of this study was to explore the serum metabolome of patients with IgA vasculitis to identify potential diagnostic biomarkers.

Methods: We performed a study comparing the serum metabolome of adult patients with IgA vasculitis, and controls with spondyloarthritis; matched for age and gender. Serum samples were analyzed by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. Data were analyzed by supervised and unsupervised univariate and multivariate analysis. In the case of a successful diagnostic model, a validation on an independent population was performed in order to evaluate its interest on routine.

Results: We compared the metabolome of 55 patients with IgA vasculitis to 77 controls with spondyloarthritis. The median age of IgA vasculitis patients was 53 years [30; 61]. Two-thirds of the patients were female (n=32). At diagnosis of vasculitis, all patients had skin involvement. Renal involvement was observed in 69% of patients (n= 38), joint involvement in 56% (n= 31) and digestive involvement in 42% (n= 23).

Multivariate analysis of the metabolome significantly discriminated patients with IgA vasculitis from those with spondyloarthritis with an accuracy of >90% (permutation test $p<0.01$). This model showed excellent predictive values in independent cohorts: sensitivity 98%, specificity 98%, positive predictive value 97%, and negative predictive value 98%. These models identified 4 discriminative metabolites: 1-methyladenosine, L-glutamic acid, serotonin, and thymidine.

Conclusion: This study demonstrated an excellent diagnostic predictive model for IgA vasculitis based on the serum metabolome. These results need to be confirmed in an independent cohort of IgA vasculitis patients.

Keywords: IgA vasculitis; metabolomic; biomarker; spondyloarthritis

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	15
MATERIALS & METHODS	16
Patients and controls.....	16
Study design.....	16
Metabolic analysis.....	17
Statistical analyses	18
Univariate analysis	18
Multivariate analysis	18
Metabolic pathways analysis	19
RESULTS.....	20
Patients	20
Metabolomic profiles	20
The metabolomics profile allows predicting the diagnosis in an independent population	21
The metabolomics profile does not allow the determination of the endophenotype of patients with IgA vasculitis.....	21
DISCUSSION	23
CONCLUSION	25
FIGURE AND LEGENDS.....	26
Figure 1.....	26
Figure 2.....	27
BIBLIOGRAPHY.....	28
APPENDIX.....	30
Appendix 1.....	30
Appendix 2.....	31
Appendix 3.....	32

INTRODUCTION

Immunoglobulin A vasculitis (IgAV) is a vasculitis induced by deposits of immune complexes mostly containing IgA-1 leading to purpura, arthralgia, abdominal pain and/or glomerulonephritis. This vasculitis occurring is more frequent during childhood and has a good prognosis (1). In the adults, the disease is more scarce but remains for the physicians a real challenge due to a worse prognosis with occurrence in some patients chronic glomerulonephritis (2–5) and acute digestive involvement with a risk of perforation (6,7).

IgAV is known to occur after infection and is known as a “seasonal” disease demonstrated by occurrence of epidemiological peak: autumn and winter in pediatric populations and spring and summer in the adults ones (5). In most of patients, a viral, bacterial or drug triggers leading to the occurrence of the disease is recorded (8–11). The diagnosis is evoked on both clinical symptoms and laboratory parameters. In the adults the diagnosis is performed by analysis of a histological sample, e.g, skin or kidney sample, highlighting IgA deposits. However, in approximately 20% of the cases, IgA deposits are absent of the cutaneous biopsy (12). In case of renal involvement, a renal biopsy is performed to establish the diagnosis (13). Therefore, the identification of both non-invasive and robust diagnostic biomarkers is mandatory. Metabolomics is based on a free hypothesis approach, searching for a wide of metabolites, defined as small molecules, to providing a metabolic signature. This approach is nowadays used to identify specific metabolic profiles for both diagnosis and prognostic biomarkers.

So far, in the field of IgAV, metabolomic studies have been overlooked, most of the studies focusing on the pivotal role of the immune system. However, inflammation is known to disturb metabolic pathways and reciprocally metabolic imbalance can modify immune system homeostasis.

Hereby, we aim to explore, the plasma metabolome of adults IgAV patients to identify potential diagnostic biomarkers.

MATERIALS & METHODS

Patients and controls

The samples analyzed were serum from adult IgAV enrolled in the "HSPrognosis" cohort (14). The local ethical committee of Assistance Publique–Hôpitaux de Paris (AP-PH, approval number 10.649bis) approved this study, and written informed consent was obtained from the parents of all the included children before any study-related procedure was performed. Inclusion criteria for both studies were: (1) age >18 years old, (2) IgA vasculitis, and (3) diagnosis of IgAV between January 1990 and January 2015. Patients were considered to have IgAV if they presented (1) purpura, (2) histologically-proven small vessel vasculitis, (3) histologically confirmed IgA deposits and (4) involvement of at least one organ among the kidney, joint, or intestinal tract. Patients were excluded if there was no skin rash; if they had been treated with immunosuppressive drugs or glucocorticosteroids (GS) within 2 weeks before the onset of a skin rash; if they had thrombocytopenia; and if they did not consent and/or were under the age of 18 years old. Age and sex matched axial spondyloarthritis were included as controls. The sera were taken from the COMARIS1 cohort including patients with axial spondyloarthritis according to the ASAS 2009 criteria (15). The study was performed in accordance with the ethical standards of the Declaration of Helsinki and was approved by the Institutional Review Board. Patients consent was obtained. Controls were excluded if they have been treated with GS, DMARDs and/or biologics.

Study design

We first aimed to identify a diagnostic model for IgA vasculitis. This we studied and compared the serum metabolome of patients with IgA vasculitis and controls including spondyloarthritis (SpA) patients, using metabolomic approach.

A secondary objective of this study was to highlight at the metabolomics profile of IgA vasculitis according to the various clinical phenotypes (endophenotypes). For this purpose, we separated the patients into clinical categories according to the organ involvements: skin, joint, digestive or renal damages (all patients had a skin involvement).

Metabolic analysis

The analysis of the sera was performed by High Performance Liquid Chromatography coupled to mass spectrometry as described in the literature (16) after extraction with 100 μ L of methanol from 20 μ L of serum, a UPLC Ultimate WPS-3000 system coupled to a Q-Exactive mass spectrometer and operated in positive and negative electrospray ionization modes (analysis for each ionization mode) was used for this analysis. Liquid chromatography was performed using a Phenomenex Kinetex 1.7 μ m XB—C18 column (100 mm $\times$ 2.10 mm) maintained at 40 °C. Two mobile phase gradients (preceded by an equilibrium time of 3 min; A: H₂O + 0.1% formic acid; B: methanol + 0.1% formic acid) were used. The gradient was maintained at a flow rate of 0.4 mL/min. The multistep gradient was programmed as follows: 0–2 min, 0.1% B; 2–6 min, 0.1–25% B; 6–10 min, 25 – 80% B; 10 – 12 min, 80–90% B; 12–16.5 min, 90–99.9% B; 16.5–20 min, 99.9–0.1% B. Two different columns were used to increase the metabolic coverage. Accordingly, a hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) column (CORTECS UPLC HILIC 150 mm $\times$ 2.1 mm $\times$ 1.6 μ m (WATERS)) was also used. Two mobile phase gradients were also used (A: H₂O + 10 mM formate NH₄ + 0.5% formic acid; B: acetonitrile + 10 mM formate NH₄ + 0.5% formic acid) and the gradient was maintained at a flow rate of 0.3 mL/ min. The multistep gradient was programmed as follows: 0–1.5 min, 95% B; 1.5–8 min, 95–82% B; 8–15 min, 82–75% B; 15–15.5 min, 75–25% B; 15.5–16 min, 25–3% B; 16–22 min, 3–95% B. The volume of injection was 5 μ L. During the full-scan acquisition, which ranged from 58 to 870 m/z, the instrument operated at 70,000 resolution (m/z = 200). As required for all biological analyses, pre-analytical and analytical steps of the experiment were validated by findings of Quality Control (QC) samples. Quality control solution was prepared from a mix of 20 random samples from our cohort. Thus, this pool was representative of our cohort and they were extracted exactly with the same process as patients' samples. Consequently, they represented both, technical variation and extraction variation. Coefficients of variation [CV% = (the standard deviation/ mean) $\times$ 100], were calculated from all metabolites data. Metabolites with a CV in QCs > 30% were excluded from the final dataset. QCs were analyzed at the beginning of the run, every 10 samples and at the end of the run. A targeted analysis was applied on the samples, based on a library of standard compounds (Mass Spectroscopy Metabolite Library (MSML) of standards, IROA Technologies). The following criteria were followed to identify the metabolites: (1) retention time of the detected metabolite within $\pm$ 20 s of the standard reference, (2) exact measured molecular mass of the metabolite within a

range of 10 ppm around the known molecular mass of the reference compound, and (3) correspondence between isotopic ratios of the metabolite and the standard reference. The signal value was calculated using Xcalibur software (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA) by integrating the chromatographic peak area corresponding to the selected metabolite. At this step, the dataset contained the identity of the metabolites and the corresponding area for all the samples after analysis and validation by the specialist of mass spectrometry. Data were normalized to the sum, log-transformed and autoscaled before statistical analysis.

Statistical analyses

Univariate analysis

The matching between the 2 groups was performed with the online statistical software: Medistica.pvalue.io (Available on: <https://www.pvalue.io/fr>).

The analysis of qualitative variables was performed by a Chi-squared test and the comparison of quantitative was performed by the Welsh two sample t-test.

The univariate analysis was represented by the volcano plot that is based on the Fold Change (FC) value and the significance level based on the Wilcoxon non-parametric test via the free software Metaboanalyst version 5.0

(<https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/ModuleView.xhtml>). To highlight the most discriminating parameters, we used the False Discovery Rate. We highlighted only metabolites with a FC > 1.5 or < 0.8 and an adjusted p-value < 0.1

Multivariate analysis

Metabolome profiles were also analysed by a multivariate approach to identify a diagnostic prediction model as described previously. The classification of the samples was performed by an unsupervised multivariate descriptive analysis called Principal Component Analysis (PCA) in order to determine the distribution of the samples and possible outsiders but also by a supervised analysis based on Partial Least-Squares Discriminant Analysis (PLS-DA). The score plot shows the distribution of the classified samples. The value of Variable Influence on Projection (VIP) represents the importance of the metabolites according to the PLS-DA supervised model. To test the relevance of both the highlighted metabolites and the model, accuracy, accuracy evaluation and the permutation test were performed. To test the pertinence and the quality of the model, we used 2 independent cohorts to establish independent validity

of the diagnostic model. For this purpose, we randomly divided our database into a training set comprising approximately two thirds of samples from the IgAV group and two thirds from the spondyloarthritis group. The rest of the samples constituted the "test set": this group includes one third of the IgA vasculitis samples and one third of the samples with SpA for which the diagnosis is anonymized.

Receiver Operating Characteristic (ROC) curves were generated by Monte Carlo cross validation (MCCV) using balanced sub-sampling. In each MCCV, 2/3 of the samples were used to identify the most important metabolites and were then used in the classification model to infer the diagnosis of the remaining 1/3 of the samples. The classification method was PLS-DA as previously defined. We generated different models according to the supervised multivariate analysis PLS-DA. From the training set, we selected the model with the higher area under the curve, being significant and we only kept the 15 most significant metabolites. Then we predicted the diagnosis of patients from the test set. We independently repeated this process 10 times to estimate an average of sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of prediction in the test set.

Metabolic pathways analysis

Metabolic pathways and enrichment analyses were systematically realized with the five most discriminant metabolites highlighted by PLS-DA model. Metabolic pathway enrichment and pathway topology analysis were conducted using MetaboAnalyst version 5.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) in order to determine a probability for each metabolic pathway identified its relevance.

The value of pathway impact was calculated as the sum of importance measures of the metabolites, normalized by the sum of importance measures of all metabolites in each pathway. Metabolic pathways are represented as a network of chemical compounds with metabolites as nodes and reactions as edges.

RESULTS

Patients

Fifty-five patients with IgAV and 77 control patients with spondyloarthritis (SpA) were enrolled. The main clinical and biological characteristics of IgA patients are shown in **Table 1**. Briefly, IgVA patients all presents at baseline skin involvement, 69% renal involvement (n= 38), joint involvement in 56% (n= 31), and 42% had gastro intestinal involvement in (n= 23). SpA controls were age and sex matched as showed in **Table 1**.

Metabolomic profiles

Volcano plot analysis (**Fig. 1A**) highlighted a significant difference in concentrations of 38 metabolites (on the 96 metabolites measured) between IgAV and SpA with an adjusted p-value < 0.05 . The 10 more discriminant metabolites were 1-methyladenosine (adjusted p-value $2,08.10^{-35}$, FC = 11,195), L-glutamic acid (adjusted p-value $1,44.10^{-19}$, FC = -0,30), Thymidine (adjusted p-value $1,64.10^{-18}$, FC = 8,23), Serotonin (adjusted p-value $4,21.10^{-12}$, FC = 2,58), Catechol (adjusted p-value $9,01.10^{-12}$, FC = 3,02), Methyl Jasmonate (adjusted p-value $9,01.10^{-12}$, FC = 1,99), Nicotinamide (adjusted p-value $1,03.10^{-11}$, FC = -0,28), Thyroxine (adjusted p-value $2,93.10^{-11}$, FC = 1,67), N-acetyl-tryptophan (adjusted p-value $8,6.10^{-11}$, FC = 2,2), L-Arginine (adjusted p-value $2,79.10^{-10}$, FC = 1,66). The whole set of 38 metabolites highlighted by the univariate volcano plot are reported in additional data (**Appendix 1**).

The unsupervised analysis (PCA) did not find any outsiders among the samples. The multivariate analysis supervised by PLS-DA allows splitting the samples into 2 distinct groups as shown in the score plot (**Fig. 1B**). The performance of the model was robust with a predictivity test of 95% and a significant permutation test ($p < 0.01$) highlighting its robustness. The important features contributing to this model is representing in **Fig. 1C**. The set of metabolites shown in the graph representing the most important features based on PLS-DA analysis were identical to those found after the univariate analysis. The 3 metabolites having a VIP score > 1.8 were also the first 3 metabolites identified in univariate analysis: 1-methyladenosine, L-glutamic acid and Thymidine. The metabolic pathways analysis from the

discriminating metabolites highlighted by the PLS-DA model did not reveal any significant metabolic pathway (**Appendix 2**).

The metabolomics profile allows predicting the diagnosis in an independent population

As the multivariate model was significant to predict the diagnosis of IgAV on the entire cohort, we applied the same strategy previously described to test the performance of diagnosis prediction in an independent cohort.

The PLS DA diagnosis models built from the metabolome of patients from the 10 independent training set showed excellent performances. Accordingly, the ROC curves based on the PLS-DA model from a number of features showed excellent criteria such as an AUC at 0.988 ($p < 0.01$) based on a model from less than 10 features.

Moreover, the performances of the PLS DA diagnosis models of patients in the test sets were also excellent. **Figure 2** is an example of prediction as previously described in order to predict the diagnosis in the test set, showing a ROC curve with AUC at 0.994 ($p < 0.01$). Overall, we obtained a very good reproducibility with similar predictive values, i.e. sensitivity, specificity, PPV and NPV $> 97\%$ in the test set.

Via Venn diagrams 4 metabolites stood out because there were present in the 10 independent predictions (among the multivariate and univariate analyses performed): 1-methyladenosine, L-glutamic acid, Serotonin and Thymidine.

The metabolomics profile does not allow the determination of the endophenotype of patients with IgA vasculitis

We also investigated whether metabolome analysis of IgA vasculitis patients could distinguish the different clinical phenotypes (endophenotypes) according to the organ involved. For this purpose, we gathered the patients according to the organ involvement (skin, renal, articular or digestive).

Then we conducted statistical analyses of the metabolomics profiles as previously described, comparing the different endophenotypes 2 by 2 for more clarity and comparability. The PLS-DA model did not allow us to split significantly, each group, IgA vasculitis and skin involvement versus patients with IgA vasculitis with skin and joint involvement (**Appendix**

3). The PLS-DA model was able to separate the 2 groups despite but accuracy was poor, with a non-significant permutation test ($p = 0.68$).

Thus, the metabolomic profile does not appear to discriminate the different endophenotypes within IgA vasculitis patients. Therefore, analyses metabolic pathways were not further explored.

DISCUSSION

So far, a lot of studies have focused on the pivotal role of the immune system during the course of adult IgA vasculitis. This study is to our knowledge the first to use a metabolomics approach in this rare vasculitis showing a baseline “metabolic signature” in IgAV patients. Rather enrolled healthy controls, we enrolled patients suffering from others auto immune disease such as axial spondyloarthritis. This option was carried out to point out a specific profile of IgAV rather than a metabolomics signature of auto immune disease.

Using this approach, with a robust statistical method, we were able to build a diagnostic model using the metabolomics approach highlighting theses 4 metabolites could be used as diagnostic biomarkers in daily practice. Indeed, both positive predictive value and negative predictive value were $> 97\%$ to predict IgA diagnostics.

Obviously, these results need to be confirmed in an independent cohort. Moreover, it is known mandatory to study the metabolome of others vasculitis such as ANCA vasculitis or giant cell arteritis in order to clarify if the signature is specific of IgA vasculitis rather than others vasculitis. This latest point is needed to help clinician in the diagnosis of IgAV especially in the 20 % of the patients in which IgA deposits are lacking. Of note, despite the excellent predictive values of this model, we did not demonstrate a metabolic pathway involved that could explain the pathophysiological mechanisms of this disease.

Regarding the role of the 4 metabolites identified in our study: 1-methyladenosine belongs to the class of purine nucleosides. It is a constituent of messenger RNA. Glutamic acid is a non-essential amino acid that plays an important role in excess nitrogen removal. It is also a neurotransmitter. Serotonin also operates as a neurotransmitter, synthesized from L-tryptophan. It is mainly found in the digestive system where it regulates intestinal movements; but also, in the platelets and, in smaller concentrations, in the central nervous system where it acts as a neurotransmitter. Thymidine is a pyrimidine deoxynucleoside known as the T-nucleotide of DNA in association with deoxyadenosine. In pharmaceuticals, thymidine derivatives are used in drugs, notably against HIV, and act by inhibiting reverse transcriptase.

As previously mentioned, using metabolomics approach in adult IgA vasculitis has so far not been performed. However, we could mention a Turkish study using a non-targeted metabolomics approach to search for prognostic biomarkers of occurrence of renal damage in a IgAV pediatric population (17). Of the 45 patients, 6 developed renal involvement at 6

months during the follow up. They suggest that DHAP, prostaglandin D2/I2, porphobilinogen, 5-methyltetrahydrofolic acid, and N-Acetyl-4-O-acetylneuraminic acid/N-Acetyl-7-O-acetylneuraminic acid may serve as biomarkers for predicting kidney disease.

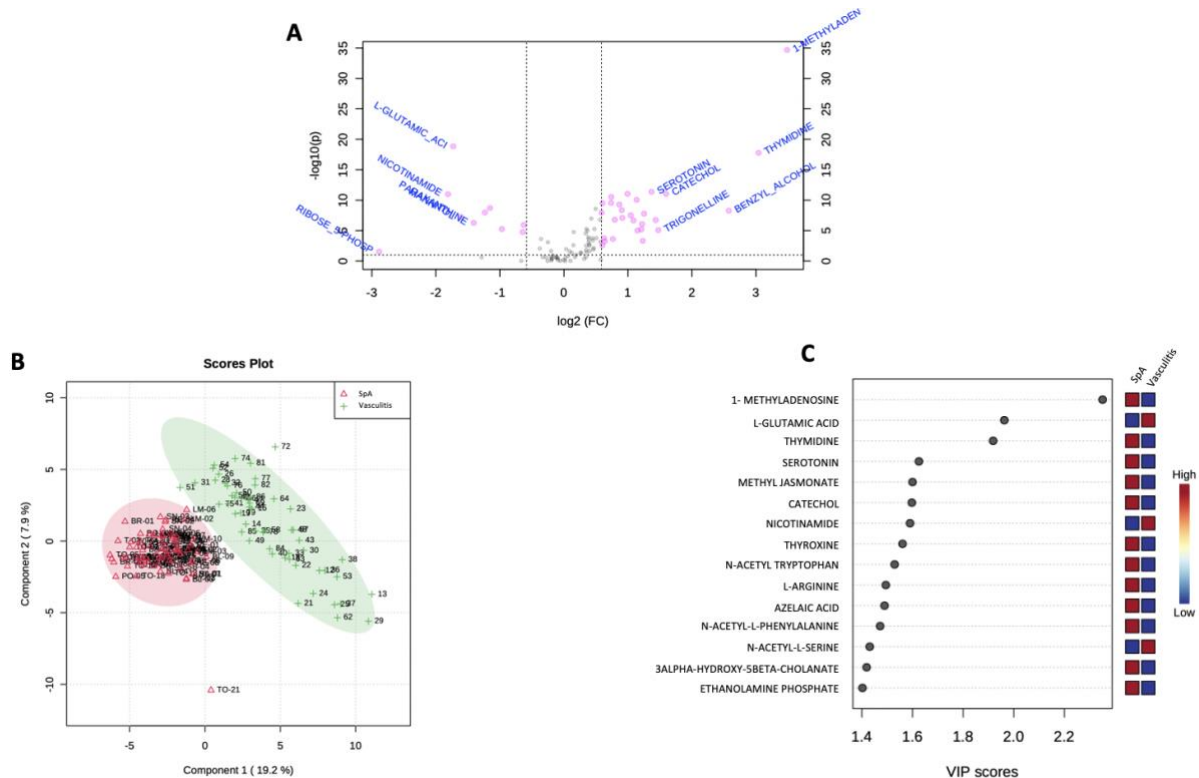
These results were not in concordance with ours results that did not any showed any specific profiles of patients with renal involvement and could be explained by the population studied (pediatric population versus adult population). From a more general point of view, to our knowledge, these 4 metabolites have not been involved in other autoimmune diseases, in particular in vasculitis but so far studies remain scarce.

CONCLUSION

To our knowledge, this study is the first to use the metabolomic approach for diagnostic purposes in adult IgA vasculitis highlighting a specific diagnostic metabolome signature. These results need to be confirmed in an independent cohort including controls suffering from others vasculitis to use this metabolic signature as a reliable diagnostic biomarker.

FIGURE AND LEGENDS

Figure 1

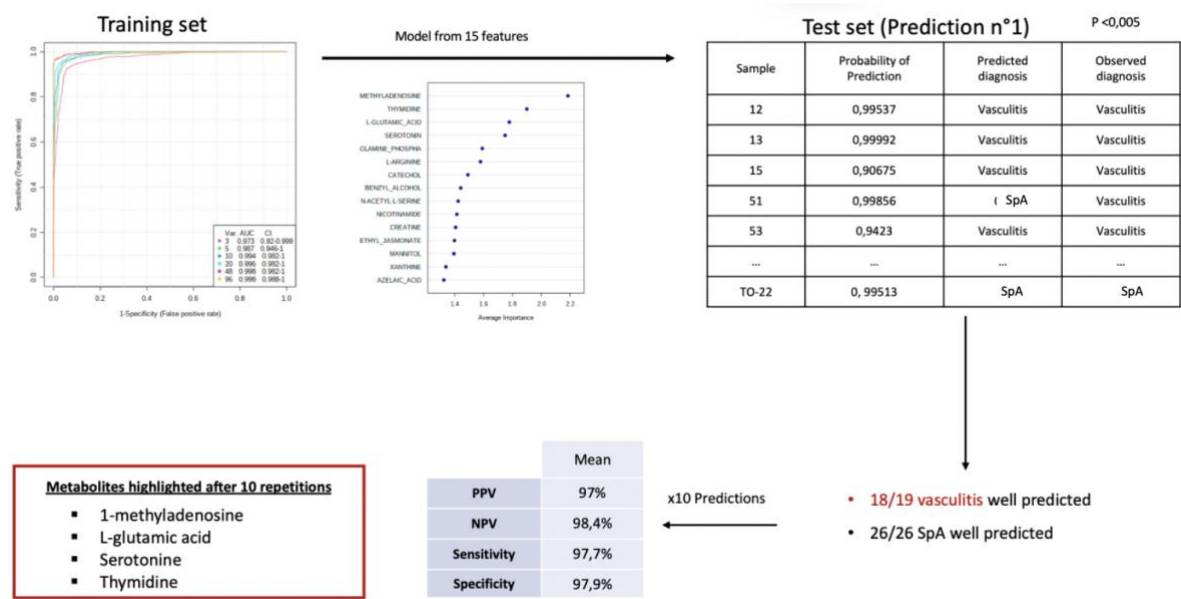


A. Univariate analyses via volcano plot based on fold changed and adjusted p-value, highlighting 38 metabolites. The x-axis represents the Fold Change between groups (log scale) while the y-axis represents adjusted p-value obtained by a t-test of the difference in metabolite concentrations (negative log scale).

B. Score scatter plot based on PLS-DA models to explain the diagnosis (green cross for patients with IgA vasculitis and red triangle for patients with spondyloarthritis)

C. Classification of the top 15 of metabolites highlighted with PLS-DA model according to the VIP score on the x-axis. The colored boxes on the side of figure represents the relative concentration for each metabolite in each group (a red box means an increase of the relevant concentration of the metabolite whereas a blue box means a decrease of the concentration of the metabolite).

Figure 2



Prediction of IgA vasculitis in an independent cohort from plasma metabolome profile of the patients from the training set. ROC curves, obtained after PLS-DA models, allowed to compare the diagnosis prediction to the observed diagnosis.

BIBLIOGRAPHY

1. Gardner-Medwin JMM, Dolezalova P, Cummins C, Southwood TR. Incidence of Henoch-Schönlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins. *Lancet*. 19 oct 2002;360(9341):1197-202.
2. Watts RA, Lane S, Scott DGI. What is known about the epidemiology of the vasculitides? *Best Pract Res Clin Rheumatol*. avr 2005;19(2):191-207.
3. Yang YH, Hung CF, Hsu CR, Wang LC, Chuang YH, Lin YT, et al. A nationwide survey on epidemiological characteristics of childhood Henoch-Schönlein purpura in Taiwan. *Rheumatology (Oxford)*. mai 2005;44(5):618-22.
4. Pillebout E, Thervet E, Hill G, Alberti C, Vanhille P, Nochy D. Henoch-Schönlein Purpura in adults: outcome and prognostic factors. *J Am Soc Nephrol*. mai 2002;13(5):1271-8.
5. García-Porrúa C, Calviño MC, Llorca J, Couselo JM, González-Gay MA. Henoch-Schönlein purpura in children and adults: clinical differences in a defined population. *Semin Arthritis Rheum*. déc 2002;32(3):149-56.
6. Audemard-Verger A, Terrier B, Dechartres A, Chanal J, Amoura Z, Le Gouellec N, et al. Characteristics and Management of IgA Vasculitis (Henoch-Schönlein) in Adults: Data From 260 Patients Included in a French Multicenter Retrospective Survey. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2017;69(9):1862-70.
7. Ebert EC. Gastrointestinal manifestations of Henoch-Schonlein Purpura. *Dig Dis Sci*. août 2008;53(8):2011-9.
8. Brandy-García AM, Santos-Juanes J, Suarez S, Caminal-Montero L. IgA vasculitis as a presentation of human immunodeficiency virus infection. *Reumatol Clin*. 15 mai 2018;
9. Itoh I, Kasuno K, Yamamoto C, Takahashi N, Shimizu H, Ojima T, et al. IgA Vasculitis Developed as an Adverse Effect of Tofacitinib Taken for Rheumatoid Arthritis. *Intern Med*. 15 mars 2020;59(6):817-21.
10. Endo Y, Negishi K, Hirayama K, Suzuki H, Shimizu A. Bevacizumab-induced immunoglobulin A vasculitis with nephritis: A case report. *Medicine (Baltimore)*. nov 2019;98(45):e17870.
11. Mazumder S, Ma M, Champigny M, Adeyemo A. A Case of Adult-onset Henoch-Schönlein Purpura Triggered by Fire Ants. *Cureus*. 20 mars 2020;12(3):e7341.
12. Ozen S, Marks SD, Brogan P, Groot N, de Graeff N, Avcin T, et al. European consensus-based recommendations for diagnosis and treatment of immunoglobulin A vasculitis-the SHARE initiative. *Rheumatology (Oxford)*. 1 sept 2019;58(9):1607-16.

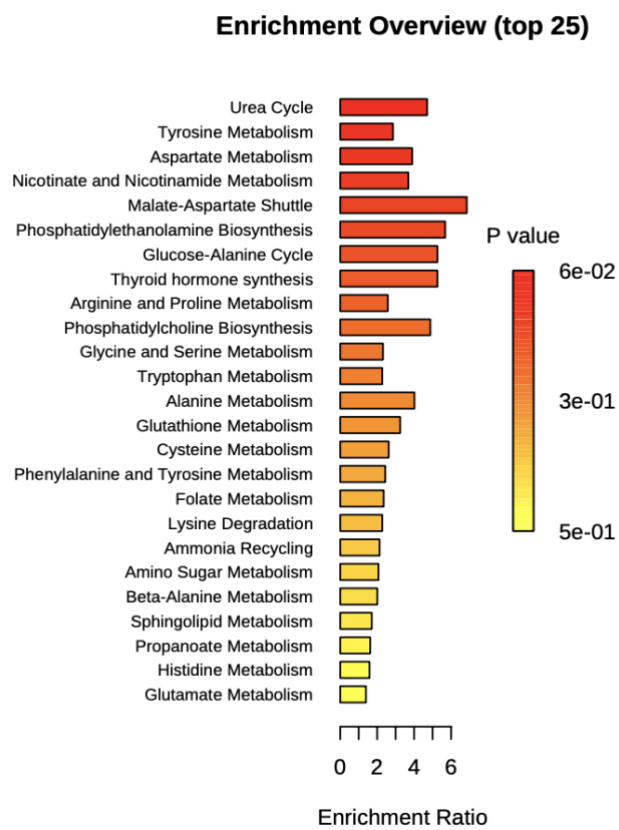
13. Mills JA, Michel BA, Bloch DA, Calabrese LH, Hunder GG, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schönlein purpura. *Arthritis Rheum.* août 1990;33(8):1114-21.
14. Berthelot L, Jamin A, Viglietti D, Chemouny JM, Ayari H, Pierre M, et al. Value of biomarkers for predicting immunoglobulin A vasculitis nephritis outcome in an adult prospective cohort. *Nephrol Dial Transplant.* 1 sept 2018;33(9):1579-90.
15. SAMAIN Marine. Effet du méthotrexate associé à l'adalimumab sur la maintenance thérapeutique de l'adalimumab dans la spondyloarthrite axiale 32 pages. Thèse : Médecine : Tours. 2019.
16. Madji Hounoum B, Blasco H, Nadal-Desbarats L, Diémé B, Montigny F, Andres CR, et al. Analytical methodology for metabolomics study of adherent mammalian cells using NMR, GC-MS and LC-HRMS. *Anal Bioanal Chem.* nov 2015;407(29):8861-72.
17. Demir S, Kaplan O, Celebier M, Sag E, Bilginer Y, Lay I, et al. Predictive biomarkers of IgA vasculitis with nephritis by metabolomic analysis. *Semin Arthritis Rheum.* déc 2020;50(6):1238-44.

APPENDIX

Appendix 1: List of the 38 metabolites highlighted via univariate analysis (Cf. Figure 1A representing the volcano plot)

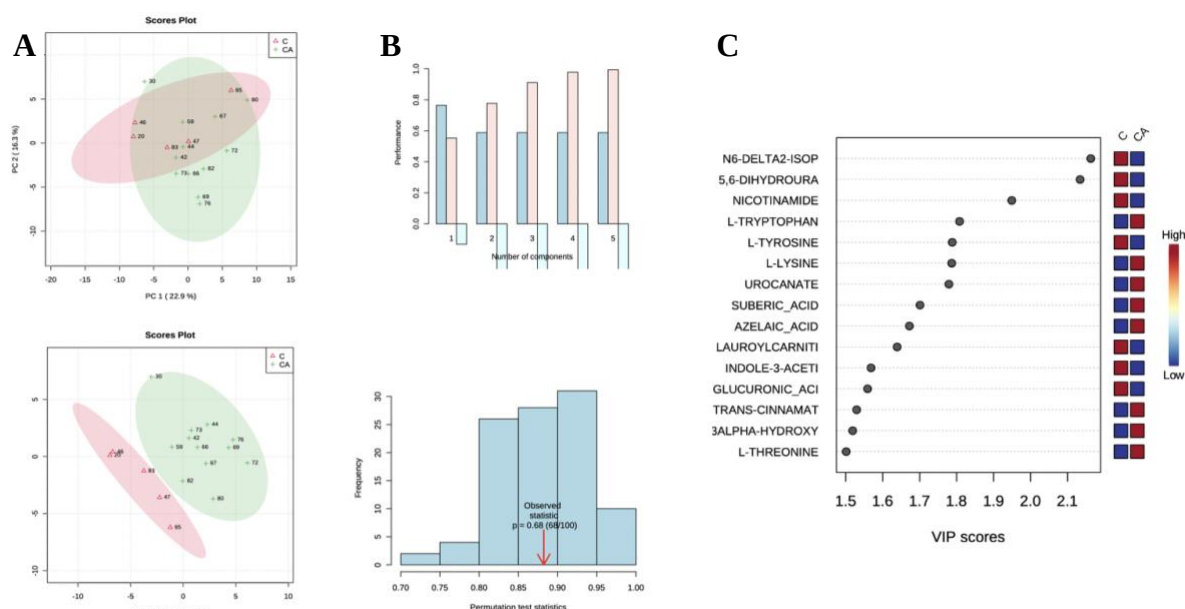
	Compounds	FC	log2(FC)	p.adjusted	-log10(p)
1	1-METHYLADENOSINE	11.195	3.4848	2.0751e-35	34.683
2	L-GLUTAMIC_ACID	0.30151	-1.7297	1.4382e-19	18.842
3	THYMIDINE	8.2285	3.0406	1.6423e-18	17.785
4	SEROTONIN	2.5812	1.368	4.2109e-12	11.376
5	CATECHOL	3.021	1.595	9.0085e-12	11.045
6	METHYL_JASMONATE	1.9896	0.99247	9.0085e-12	11.045
7	NICOTINAMIDE	0.28492	-1.8114	1.0295e-11	10.987
8	THYROXINE	1.6685	0.73855	2.9257e-11	10.534
9	N-ACETYL-TRYPTOPHAN	2.198	1.1362	8.5995e-11	10.066
10	L-ARGININE	1.6646	0.73515	2.7945e-10	9.5537
11	AZELAIC_ACID	1.5179	0.60208	3.0459e-10	9.5163
12	N-ACETYL-L-PHENYLALANINE	1.8216	0.86518	5.1779e-10	9.2858
13	N-ACETYL-L-SERINE	0.44911	-1.1549	1.9533e-09	8.7092
14	ETHANOLAMINE_PHOSPHATE	1.8708	0.90365	4.348e-09	8.3617
15	BENZYL_ALCOHOL	5.9601	2.5753	5.4834e-09	8.2609
16	CREATINE	0.42508	-1.2342	1.09e-08	7.9626
17	TAURINE	1.5034	0.58824	1.1258e-08	7.9485
18	THEOPHYLLINE	2.3805	1.2513	1.7199e-08	7.7645
19	FUMARATE	2.0619	1.044	3.1709e-08	7.4988
20	MANNITOL	0.32827	-1.607	6.0269e-08	7.2199
21	XANTHINE	1.8799	0.91069	8.3556e-08	7.078
22	L-CYSTEINE	1.7324	0.79276	1.6981e-07	6.77
23	THEOBROMINE	2.7009	1.4334	1.8529e-07	6.7321
24	LAUROYLCARNITINE	2.1223	1.0856	2.2009e-07	6.6574
25	PARAXANTHINE	0.37661	-1.4089	5.54e-07	6.2565
26	HIPPURATE	2.3317	1.2214	8.6221e-07	6.0644
27	CITRULLINE	0.64727	-0.62757	1.2357e-06	5.9081
28	4-HYDROXY-L-PROLINE	0.51093	-0.96881	5.6595e-06	5.2472
29	LEUKOTRIENE_B4	2.314	1.2104	6.6014e-06	5.1804
30	TRIGONELLINE	2.7782	1.4741	8.481e-06	5.0716
31	3-2-HYDROXYPHENYLPROPANOATE	2.2171	1.1487	1.0055e-05	4.9976
32	L-THREONINE	0.63986	-0.64417	1.7792e-05	4.7498
33	L-TRYPTOPHAN	1.5424	0.6252	0.00018156	3.741
34	METHYLINDOLE-3-ACETATE	1.6993	0.76492	0.00024924	3.6034
35	DEOXYCHOLATE	2.3476	1.2312	0.0005023	3.299
36	GLYCOCHOLATE	1.5556	0.63743	0.00057931	3.2371
37	CORTISOL	1.5181	0.60231	0.0027257	2.5645
38	RIBOSE_5-PHOSPHATE	0.13535	-2.8853	0.029422	1.5313

Appendix 2: Metabolic pathway analyses from the 15 discriminating metabolites highlighted by the PLS-DA model. No significant metabolic pathway is highlighted.



Appendix 3: Multivariate analysis from serum metabolome profile of IgA vasculitis with skin involvement (C) and IgA vasculitis with skin and articular involvement (CA).

- (A) Score scatter plot based on PCA analysis of patients according to the organ involved
- (B) Score scatter plot based on PLS-DA models to explain endophenotypes in IgA vasculitis (green cross for patients with IgA vasculitis with skin and articular involvement and red triangle for patients with IgA vasculitis with skin involvement only).
- (C) Prediction accuracy is not significant as with the Permutation test. To conclude, this model does not allow the separation of endophenotypes.
- (D) Classification of the top 15 of metabolites highlighted with PLS-DA model according to the VIP score on the x-axis. The colored boxes on the side of figure represents the relative concentration for each metabolite in each group (a red box means an increase of the relevant concentration of the metabolite whereas a blue box means a decrease of the concentration of the metabolite).



D

	Total	Expected	Hits	Raw p	-log10(p)	Holm adjust	FDR	Impact
Arginine biosynthesis	14	0.12	2	5.59E-03	2.25E+00	4.69E-01	4.69E-01	0.19
Arginine and proline metabolism	38	0.32	2	3.85E-02	1.41E+00	1.00E+00	9.90E-01	0.14
Nitrogen metabolism	6	0.05	1	4.94E-02	1.31E+00	1.00E+00	9.90E-01	0.00
D-Glutamine and D-glutamate metabolism	6	0.05	1	4.94E-02	1.31E+00	1.00E+00	9.90E-01	0.50
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	48	0.40	2	5.89E-02	1.23E+00	1.00E+00	9.90E-01	0.00
Butanoate metabolism	15	0.13	1	1.19E-01	9.24E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.00
Nicotinate and nicotinamide metabolism	15	0.13	1	1.19E-01	9.24E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.19
Histidine metabolism	16	0.13	1	1.27E-01	8.97E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.00
Sphingolipid metabolism	21	0.18	1	1.63E-01	7.88E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.01
Glutathione metabolism	28	0.23	1	2.12E-01	6.74E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.02
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	0.23	1	2.12E-01	6.74E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.20
Porphyrin and chlorophyll metabolism	30	0.25	1	2.25E-01	6.48E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.00
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	32	0.27	1	2.38E-01	6.23E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.00
Glycerophospholipid metabolism	36	0.30	1	2.64E-01	5.78E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.02
Pyrimidine metabolism	39	0.33	1	2.83E-01	5.48E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.06
Tryptophan metabolism	41	0.34	1	2.95E-01	5.30E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.10
Tyrosine metabolism	42	0.35	1	3.01E-01	5.21E-01	1.00E+00	1.00E+00	0.00

Vu, le Directeur de Thèse

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'A. B. B.', written over a horizontal line.

**Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le**

Boissais Alexandre

34 pages – 2 figures

Résumé :

Contexte : La vascularite à IgA est une maladie systémique rare qui met en jeu le pronostic vital principalement en raison de l'atteinte digestive ou rénale. Le diagnostic est difficile à établir chez environ un quart des patients, du fait d'absence de dépôt d'IgA au sein du derme des patients.

Objectif : L'objectif de cette étude était d'explorer le métabolome sérique de patients atteints de vascularite à IgA afin d'identifier d'éventuels biomarqueurs diagnostiques.

Méthodes : Nous avons réalisé une étude comparant le métabolome sérique de patients adultes atteints de vascularite à IgA, et de témoins atteints de spondylarthrite ; appariés en âge et en sexe. L'analyse des échantillons sériques a été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à de la spectrométrie de masse. Les données ont été analysées par analyse univariée et multivariée supervisée et non supervisée. En cas de modèle diagnostique performant, une validation sur population indépendante a été effectuée afin d'évaluer son intérêt en routine.

Résultats : Nous avons comparé le métabolome de 55 patients atteints de vascularite à IgA à celui de 77 témoins souffrant de spondylarthrite. L'âge médian des patients atteints de vascularite à IgA était de 53 ans [30 ; 61]. Deux tiers des patients étaient des femmes (n= 32). Au diagnostic de la vascularite, la totalité des patients présentait une atteinte cutanée. Une atteinte rénale était observée chez 69% des patients (n= 38), une atteinte articulaire chez 56% (n= 31) et une atteinte digestive chez 42% (n= 23).

L'analyse multivariée du métabolome a permis de discriminer significativement les patients atteints de vascularite à IgA de ceux atteints de spondylarthrite avec une précision supérieure à 90 % (test de permutation $p < 0,01$). Ce modèle a révélé d'excellentes valeurs prédictives sur des cohortes indépendantes : sensibilité à 98 %, spécificité à 98 %, valeur prédictive positive à 97 % et valeur prédictive négative à 98 %. Ces modèles ont mis en évidence 4 métabolites discriminants : le 1-méthyladénosine, l'acide L-glutamique, la sérotonine et la thymidine.

Conclusion : Cette étude a permis de mettre en évidence un excellent modèle prédictif diagnostique de la vascularite à IgA basé sur le métabolome sérique. Ces résultats devront être confirmés au sein d'une cohorte indépendante de patients atteints de vascularite à IgA.

Mots clés : vascularite à IgA ; métabolomique ; biomarqueur ; Spondylarthrite

Jury :

Président du Jury :	Professeur François MAILLOT
Directeur de thèse :	<u>Doctoresse Alexandra AUDEMARD VERGER</u>
Membres du Jury :	Professeure Hélène BLASCO
	Professeur Patrick EMOND
	Docteur Adrien BIGOT

Date de soutenance : 30/05/2022