

Année 2023/2024

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

Par

Valentin AMAR

Née le 03 novembre 1995 à Levallois-Perret (92300)

TITRE

Profil métabolomique et inflammatoire dans la phase aiguë des hémorragies intracérébrales spontanées

Présentée et soutenue publiquement le 22 octobre 2024 devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Philippe CORCIA, Neurologie, Faculté de médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Hélène BLASCO, Biochimie et biologie moléculaire, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Grégoire BOULOUIS, Radiologie et imagerie médicale, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Marco PASI, Neurologie, Faculté de Médecine – Tours

UNIVERSITE DE TOURS FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Denis ANGOULVANT

VICE-DOYEN

Pr David BAKHOS

ASSESSEURS

Pr Philippe GATAULT, *Pédagogie*

Pr Caroline DIGUISTO, *Relations internationales*

Pr Clarisse DIBAO-DINA, *Médecine générale*

Pr Pierre-Henri DUCLUZEAU, *Formation Médicale Continue*

Pr Hélène BLASCO, *Recherche*

Pr Pauline SAINT-MARTIN, *Vie étudiante*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Carole ACCOLAS

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

Pr Patrice DIOT – 2014-2024

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON

Pr Gilles BODY

Pr Philippe COLOMBAT

Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr Patrice DIOT

Pr Luc FAVARD

Pr Bernard FOUQUET

Pr Yves GRUEL

Pr Frédéric PATAT

Pr Loïc VAILLANT

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – A. AUDURIER – A. AUTRET – D. BABUTY – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L. CASTELLANI – J. CHANDENIER – A. CHANTEPIE – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN – P. DUMONT – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – D. GOGA – 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 – G. LORETTE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – D. PERROTIN – L. POURCELOT – R. QUENTIN – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER – J.C. ROLLAND – P. ROSSET – D. ROYERE – A. SAINDELLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AMELOT Aymeric	Neurochirurgie
ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
APETOH Lionel	Immunologie
AUDEMARD-VERGER Alexandra.....	Médecine interne
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BACLE Guillaume.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
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
BOULOUIS Grégoire	Radiologie et imagerie médicale
BOURGUIGNON Thierry	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNAUT Paul	Psychiatrie d'adultes, addictologie
BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CAILLE Agnès	Biostat., informatique médical et technologies de communication
CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent	Psychiatrie d'adultes
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DEQUIN Pierre-François	Thérapeutique
DESMIDT Thomas.....	Psychiatrie
DESOUBEAUX Guillaume	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DI GUISTO Caroline.....	Gynécologie obstétrique
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri.....	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
EHRMANN Stephan.....	Médecine intensive – réanimation
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
ELKRIEF Laure	Hépatologie – gastroentérologie
ESPITALIER Fabien.....	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle.....	Anatomie & cytologie pathologiques
GATAULT Philippe	Néphrologie
GAUDY-GRAFFIN Catherine	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GUERIF Fabrice.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUILLON Antoine	Médecine intensive – réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
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
LE NAIL Louis-Romée	Cancérologie, radiothérapie
LECOMTE Thierry	Gastroentérologie, hépatologie
LEFORT Bruno.....	Pédiatrie
LEGRAS Antoine	Chirurgie thoracique
LEMAIGNEN Adrien.....	Maladies infectieuses
LESCANNE Emmanuel	Oto-rhino-laryngologie
LEVESQUE Éric	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
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
MOREL Baptiste.....	Radiologie pédiatrique
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
PARE Arnaud	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
PASI Marco.....	Neurologie
PERROTIN Franck.....	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean.....	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent.....	Physiologie
REMERAND Francis.....	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe.....	Biologie cellulaire
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
SAUTENET-BIGOT Bénédicte.....	Thérapeutique
THOMAS-CASTELNAU Pierre.....	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
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

LIMA MALDONADO Igor.....Anatomie
MALLET Donatien.....Soins palliatifs

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine.....Anglais

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

CANCEL Mathilde	Cancérologie, radiothérapie
CARVAJAL-ALLEGRIA Guillermo.....	Rhumatologie
CHESNAY Adélaïde.....	Parasitologie et mycologie
CLEMENTY Nicolas.....	Cardiologie
DE FREMINVILLE Jean-Baptiste	Cardiologie
DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GARGOT Thomas	Pédopsychiatrie
GOUILLEUX Valérie	Immunologie
HOARAU Cyrille	Immunologie
KERVARREC Thibault.....	Anatomie et cytologie pathologiques
KHANNA Raoul Kanav.....	Ophthalmologie
LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEDUCQ Sophie	Dermatologie
LEJEUNE Julien	Hématologie, transfusion
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOUMNEH Thomas.....	Médecine d'urgence
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
RAVALET Noémie	Hématologie, transfusion
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
STANDLEY-MIQUELESTORENA Elodie.....	Anatomie et cytologie pathologiques
STEFIC Karl.....	Bactériologie
TERNANT David	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VAYNE Caroline	Hématologie, transfusion
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure.....	Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
BLANC Romuald	Orthophonie
EL AKIKI Carole	Orthophonie
NICOGLOU Antonine	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

AUMARECHAL Alain	Médecine Générale
BARBEAU Ludivine	Médecine Générale
CHAMANT Christelle	Médecine Générale
ETTORI Isabelle.....	Médecine Générale
MOLINA Valérie	Médecine Générale
PAUTRAT Maxime	Médecine Générale
PHILIPPE Laurence.....	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
BOUTIN Hervé.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BRIARD Benoît.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
CHALON Sylvie.....	Directrice 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
GOMOT Marie	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR Inserm 1100
GUEGUINOU Maxime	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069
HAASE Georg.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
HENRI Sandrine	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
KORKMAZ Brice.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
LABOUTE Thibaut.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LATINUS Marianne	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LAUMONNIER Frédéric	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LE MERRER Julie.....	Directrice de Recherche CNRS – UMR Inserm 1253
MAMMANO Fabrizio	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
PAGET Christophe	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
RAOUL William.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069
SECHER Thomas.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SI TAHAR Mustapha.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SUREAU Camille	Directrice de Recherche émérite CNRS – UMR Inserm 1259
TANTI Arnaud	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
WARDAK Claire	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'éthique médicale

BIRMELE Béatrice.....Praticien Hospitalier

Pour la médecine manuelle et l'ostéopathie médicale

LAMANDE Marc

Pour l'orthophonie

BATAILLE Magalie.....Orthophoniste

CLOUTOUR Nathalie

CORBINEAU Mathilde

HARIVEL OUALLI Ingrid

IMBERT Mélanie

SIZARET Eva

Pour l'orthoptie

BOULNOIS Sandrine.....Orthoptiste

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des enseignants et enseignantes
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 aux indigents,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis(e) 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(euse) et reconnaissant(e) envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs parents.

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

A mes maitres, aux membres du jury

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à l'ensemble des membres de mon jury de thèse.

Pr CORCIA, votre expertise et votre rigueur scientifique ont été d'une grande valeur pour mon développement professionnel. Merci pour vos conseils éclairés et votre soutien tout au long de mon parcours.

Cher Marco, je te remercie profondément pour ton accompagnement et de ton extrême disponibilité depuis notre rencontre. Ton enthousiasme, ton énergie et ta passion de la recherche sont contagieux. T'observer travailler est pour moi une source inestimable et permanente d'apprentissage : que ce soit par rapport à ton empathie avec les patients et leurs familles (je pense reconnaître là des racines italiennes/méditerranéennes qui me sont chères), ta profonde connaissance de la littérature (entre un New England, un Jama Neurol, un papier de Miller Fisher sur les 10 commandements du Neurologue), ta sagacité (quel regard perçant !) ou encore tes relations humaines (que de petites attentions personnelles). Je te remercie de me pousser à parfaire mes connaissances en participant à des événements hors du commun tels que la Winter School ou l'ESOC. Je pense saisir la chance que tu m'offres en me proposant de travailler sur de superbes projets tels que celui de ma thèse. L'aventure continue, à nous d'écrire la suite !

Pr BLASCO, je vous remercie pour votre aide et votre soutien tout au long de ce travail. Votre grande disponibilité, votre clarté, votre rigueur et vos encouragements ont été des atouts précieux qui ont contribué à la qualité de ce travail. Vos conseils précis durant nos réunions m'ont systématiquement permis de ré-axer mon travail dans la bonne direction.

Pr BOULOUIS, je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. Votre expertise dans le domaine de la neuroradiologie, en particulier des AVC et de la maladie des petites artères, est un précieux atout pour améliorer la pertinence de mon travail.

A mes enseignants de la faculté de médecine Paris Descartes P5. Je vous remercie sincèrement pour la qualité de vos enseignements.

Je suis honoré d'avoir pu bénéficier de vos conseils et de votre soutien tout au long de ce parcours. Vos enseignements et votre passion pour la médecine me motiveront dans mon futur professionnel.

Remerciements

Transmise par ma mère et mon père, ma passion pour le cinéma n'est pas un secret. Alors, à l'image d'un générique de fin, les remerciements s'effectueront par ordre chronologique d'apparition dans le film de ma vie.

A ma mère. Maman, je te dois la moitié de tout. Bien que mère célibataire durant de nombreuses années, tu as toujours placé mon bonheur tout en haut de ta liste de priorités. Je te suis infiniment reconnaissant d'avoir toujours tout fait pour que je puisse continuer à voir mon père durant mon enfance. Ton amour débordant m'a permis d'acquérir une confiance en moi solide à toute épreuve. Tu m'as transmis tes valeurs, en particulier ton empathie et tes capacités d'écoutes qui me sont des atouts hors du commun dans mon quotidien de médecin. Tu m'as donné une éducation propre et rigoureuse me permettant d'évoluer en société sans embarras. Tu as toujours été disponible à n'importe quelle heure du jour ou de la nuit pour moi et je sais que ça sera toujours le cas. Je t'aime.

A mon père. Papa, je te dois l'autre moitié de tout. Bien que durant mon enfance et mon adolescence tu ne parlais pas de tes sentiments, j'ai toujours senti ton amour et ton soutien. Malgré toi, tu m'as forcé à me dépasser sans cesse. « La poche percée » comme t'appelais ton frère, je te remercie pour ta générosité permanente. Tu m'as appris à ne pas trop attacher d'importance aux petits tracas de la vie car la quasi-totalité sont totalement insignifiants. Toi, le grand filou, tu as essayé de m'apprendre à ne pas trop respecter les règles ... là-dessus je n'ai pas été très bon élève. Tu disais toujours « ce que l'homme a fait, l'homme peut le défaire », exacerbant dès le plus jeune âge ma curiosité et mon envie de comprendre les choses qui m'entourent. En vieillissant, nous avons grandi tous les deux et notre relation a changé ; je savoure nos repas du dimanche midi à Paris où je lis la fierté dans tes yeux. Je t'aime.

A mes parents. Vous avez bien travaillé pour équilibrer le mélange qui m'a permis de m'épanouir autant que je le suis aujourd'hui. Être sérieux et consciencieux... mais pas trop sinon c'est chiant. Je ne peux que vous être reconnaissant.

A ma famille. A mes oncles et tantes : Valérie et Fred, Alice et Pierre, Dodie et Fred, Chalom, Prosper, Claudine. Vous avez toujours été extrêmement bienveillant et généreux au cours de ma vie. Vous m'avez toujours soutenu. Spéciale dédicace aux après-midi Aqua-boulevard avec Claudine qui détestait ça (l'immatunité rend ingrat). Valérie, tu as toujours été très présente et

je sais que tu es une épaule sur qui on peut compter. Fred, ton humour et ton sens des jeux de mots m'ont toujours épaté. Alice et Pierre, votre gentillesse et votre attention à autrui sont pour moi un exemple à suivre. Dodie, ta force de caractère et ton rire résonne dans mes oreilles. Fred, ta tendresse et ta disponibilité sont remarquables. Charlie, merci pour ton aide au bac de Français sans quoi je n'aurais pas pu faire d'études supérieures. Prosper, j'ai toujours été très touché par tes attentions lors de mes anniversaires, excuse-moi de ne pas avoir été capable de te rendre la pareil (j'ai été à mauvaise école avec papa).

A ma famille. A mes grand parents : pépé et mémie, mamy Rosa et pap-Isaac. Merci de vous être occupé de moi, de m'avoir soutenu et félicité. Merci pépé d'avoir suivi ma scolarité de si près, tes encouragements financiers m'ont permis de profiter de la vie dès le plus jeune âge. Mémie, la maladie a coupé court à notre relation. Peut-être participerais-je à améliorer la vie des patients qui souffrent comme toi. Mamy Rosa, ta force de vivre est un modèle et force le respect. Qu'est-ce que j'aime tes briques et ta tchetchouka. Pap-Isaac tu es parti tôt, je ne t'ai pas vraiment connu mais j'avais l'impression qu'on s'amusait bien. Même si je suis loin, je pense souvent à vous.

A ma famille. La famille Guarino. Aussi loin que mes souvenirs remontent, vous en faites partie. Je suis tellement chanceux de pouvoir vous avoir à mes côtés pour traverser les moments de joies et de peines. Elio et Adrio. Vous êtes pour moi des frères. Nous avons grandi ensemble et vous m'avez beaucoup appris, en particulier dans les relations sociales (moi qui étais fils unique vivant avec des parents séparés). Que de souvenirs inoubliables. Ces dernières années, nos chemins se sont légèrement éloignés avec la distance et nos choix de vie mais je suis absolument certain que notre amitié restera intacte et aussi forte toute notre vie. Je sais d'ailleurs à quel point je peux compter sur vous de manière inconditionnelle. Laure et Sylvestre, vous avez aussi grandement participé à mon éducation. Que de moments de vie passés ensemble qui ont permis à l'enfant que j'étais de grandir. Je vous aime.

A ma famille. A mes cousins et cousines : Jérémy, Pauline, Auguste, Leila, Irène, Eugène. Nous avons toujours passé de superbes moments ensemble. Vous avez toujours été gentils avec moi et je n'ai que de bons souvenirs de moments passés ensemble. Hâte d'écrire les prochains. A Leïla, la force dont tu fais preuve est absolument titanesque. J'en suis ahuri, tu es pour moi un exemple.

Aux Mathématiques. Une histoire d'amour qui a démarrée en CP. Je vous ai fait des infidélités, mais on a fini par se rabibochoer. Aucun doute que vous êtes indéniablement les plus belles sciences, celles qui n'existent que dans le cerveau des humains par la seule force du crayon et du papier.

A mon ami de Cannes. A Jacques. Je te remercie de tous les bons moments que nous avons passés ensemble ainsi que de toutes les bonnes discussions que nous avons pu avoir. Je me souviens très clairement quand j'étais en 2nd, disant vouloir faire médecine, et que tu me répondais « Aujourd'hui tout roule pour toi à l'école, comme une formule 1. Mais attention, tu verras plus tard qu'il y a des fusées ». Tu avais raison.

A ma famille. A ma belle-mère Estelle. Merci d'avoir toujours pris soin de moi sans faire de différence avec tes propres enfants. Je n'aurai jamais pu réussir ma première année sans ton aide quotidienne me permettant de me concentrer exclusivement sur mon travail et mon repos.

A ma famille. A mes sœurs : Camille et Louise. Quelle joie de vous voir grandir. Avec une très grande différence d'âge nous avons toujours eu une relation un peu particulière mais qui m'est tout spécialement chère. Lors des rares occasions où j'ai eu à m'occuper de vous lorsque vous étiez enfant, vous avez toujours fait preuve de maturité. Vous êtes des Anges. Je n'ai pas le souvenir d'un seul mauvais moment passé ensemble. J'ai hâte de vous voir devenir des adultes et j'espère que nous resterons proches toute notre vie. Je vous aime.

A mon ami du lycée. A Enki. Notre relation amicale m'est chère. Les discussions avec toi sont toujours passionnantes. Tu fais partie des rares personnes qui savent écouter vraiment.

A mon précédent amour. Une petite pensée pour toi Alice. Je te remercie de tous les efforts que tu as fournis pendant ma P1. Tu as indéniablement participé à ma réussite et à mon épanouissement durant cette année.

A mes amis. Au FC Chômage : Noé, Thomas, Cambise, Adam, Émile, Marin, Raph, Gabin, Alex, Rémy, Sacha. On est quand même une sacré bande de zoives. Les études de médecine sont par certains aspects bien difficiles. Savoir qu'il était toujours possible de se connecter et de trouver des amis disponibles pour partager un moment autour d'une passion commune m'a permis de naviguer sereinement à travers les eaux agitées des études médicales. Bien que nous ne nous voyions pas fréquemment, j'ai partagé tellement d'heures de ma vie avec vous que nous avons formé des liens forts. Vous connaissez une partie de moi que bien peu connaissent. Dans

une vie parallèle proche, on aurait fait un groupe de streaming 24/24, en sa ça aurait été une dingz. Je vous remercie d'être présent pour moi dans les moments importants de ma vie.

A mon ami de la faculté de médecine PD. A Etienne. Tu sais très bien ce à quoi je pense.

A ma famille. A toi Julia, la femme de ma vie, ma patate, ma vache française. Tu es inestimable à mes yeux. Je n'arrive pas à imaginer ce qu'aurait été ma vie sans toi. Tu es définitivement la pièce de puzzle parfaite avec laquelle je m'emboîte. Tu m'emplis d'amour. Tu me soutiens inconditionnellement tant sur le plan moral que matériel (miam miam le bon dahl de garde). Je ne pourrai jamais te remercier assez de ce que tu fais pour moi. Sache que je choisirai toujours notre famille, par-dessus tout. J'extrait l'or de chaque minute passée avec toi. Je t'aime.

A ma chatte. Pô tu ne sais pas lire. Merci d'être une chatte d'une gentillesse et d'une tendresse hors norme. Miaou.

A ma famille. A Patrick et Maryse. Merci de votre accueil généreux et permanent. Je me suis toujours senti à l'aise avec vous. Vous m'avez toujours encouragé et soutenu. Avec Julia, vous nous avez aidé à de maintes reprises pour surpasser des moments difficiles. Vous m'êtes très cher et je suis heureux de vous compter parmi ma famille.

A mes amis. A mes amis des cartes Magic : Flo, Etienne, Pierre Yves, Alexis, Victor, Vicman, Albert, Julien, Mostafa, Alan. Que de bons moments passés autour de cette passionnante histoire qu'est Magic The Gathering. Que de souvenirs à Uchronies Games, mes premiers ZAP, quelques GP en Europe ou un Top8 à Rennes. Avoir un refuge loin de la médecine avec vous a été absolument nécessaire pour continuer à profiter de ma vie durant ces longues études. Les vacances à Casti ont toujours pour moi été un havre de paix sacré (même quand ce n'était pas à Casti et que vous avez accepté d'aller dans une ferme à 40 km de Tours pour que je puisse vous rejoindre sur un Week End férié avec Pô). Mention spéciale à Flo, Etienne, Victor et Alexis qui m'ont aidé à traverser la période la plus difficile de ma vie. Je vous suis vraiment profondément reconnaissant.

A mon professeur de piano. A M.Luhl. La musique a toujours été un pilier me permettant d'affronter les étapes de ma vie. Vous êtes un puits sans fond dans lequel je puise un bonheur intense. Par bien des aspects, nous sommes similaires.

A mes poètes préférés. A Baudelaire et Lamartine. Certaines de vos œuvres résonnent en moi et me font saisir la chance d'être heureux et en vie. Vous participez à mon épanouissement.

A mes collègues. A mes co internes de promo : David, Alice, Léna et Amhed. Promo de fou. On a eu trop de chance. On s'entend trop bien ensemble. On a partagé des moments de dingue : escalade, ESOC, marche gourmande, déménagements, garde de chat. J'espère qu'on gardera contact le plus longtemps possible.

A mes collègues. A mes autres co internes : Mélissa, Clémence, Margaux, Romain, Mary, Klara, Tasnym, Alexandre, Carla, Elliott, Salomé, Dorian et Benjamin. Que de rigolades à l'internat. Que de belles histoires de neurologies toujours plus folles les unes que les autres. J'ai vraiment passé un super internat à vos côtés. Vous avez joué un rôle indéniable dans mon épanouissement ces dernières années. Mais bon, l'aventure continue, l'internat n'est pas fini.

A mes collègues. Amis internes devenus chefs : Sofiane et Guillaume. Vous êtes inspirant par vos connaissances. Vous me donnez l'exemple de ce qu'il est possible d'accomplir. Et en plus vous faites des blagues.

A mes collègues. A mes collègues médecins avec qui j'ai travaillé : Valentin, Svet, M. Grimaud, Solenne, Clémence, Arnaud, Marie, Mariam, Séverine, Elisabeth, Julien, Nadège, Oana, Jérémy, Coline, Stéphane, Anne-Sophie, Céline, Inès. Travailler avec vous m'a permis de tirer de très nombreux enseignements. Je vous suis reconnaissant de m'avoir permis de devenir le médecin que je suis devenu.

A mes amis. Amis tourangeaux : Edouard, Paul, Clémence, Diana et Louis. Merci d'avoir pimenté ma vie durant l'internat. On a passé de superbes moments à l'escalade, à Issoudun ou au domaine de Badard.

A ma PH préférée. A Séverine. Merci pour tes enseignements d'humanités. Depuis, je m'assoie toujours au chevet des patients. A quand un film aux Studios un soir ?

A mes collègues. Aux différentes équipes soignantes avec qui j'ai travaillé. Je ne serai malheureusement pas capable de tous vous citer sans en oublier certains. Je vous suis très reconnaissant de m'avoir appris à travailler dans une équipe de soin. Vous faites un merveilleux travail et j'espère continuer à le partager avec vous. Merci aux équipes du secrétariat de neurologie pour la bonne ambiance et l'accueil chaleureux. Un petit clin d'œil à Brigitte.

A mon amie d'HDJ. A Mélossa la déesse ma sis. Pure rencontre. On s'est trop bien entendu. On n'a pas le droit de gâcher ça. Je te remercie d'en avoir fait plus au cours de ce semestre d'été

2024 ; me permettant ainsi d'avoir un peu plus de temps pour me concentrer sur ma thèse.
Rassure-toi la neurologie > la néphrologie.

A OpenAI. Merci pour ChatGPT. Cet outil puissant qui m'a fait gagner d'innombrables heures
et qui a indubitablement rendu ce travail meilleur.

Pour finir, je remercie les patients et leur famille qui ont accepté de faire partie de cette étude.
Mes pensées vous accompagnent.

Merci à tous les acteurs de ma vie, qui en jouant leur rôle, m'ont permis de remplir le mien.

A très vite pour le 2^{ème} épisode.

Résumé

Introduction

L'hémorragie intra cérébrale (HIC) est une pathologie fréquente dont le manque de thérapeutique efficace est l'une des principales raisons expliquant la morbi-mortalité élevée. La métabolomique est un outil innovant pour améliorer nos connaissances physiopathologiques en analysant les métabolites circulants. Notre objectif principal est de décrire le profil métabolomique des HIC à la phase hyperaigüe pour améliorer la compréhension des mécanismes biologiques mis en jeu.

Matériel et méthode

MétAVC est une étude prospective au CHU de Tours entre décembre 2022 et novembre 2023. Nous avons inclus de manière consécutive tous les patients en alerte AVC et conservé leur sérum. Tous les patients atteints d'une HIC ont réalisé une IRM cérébrale multimodale. Un groupe contrôle a été créé, par appariement pour les facteurs de confusion, en sélectionnant des patients parmi ceux qui ne présentaient pas d'AVC. Une étude métabolomique non ciblée par « High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry » a été réalisée. Nous avons comparé les profils métabolomiques entre HIC et Non-HIC et évalué leurs corrélations avec la durée entre le début des symptômes et le prélèvement, le volume de l'hématome et l'œdème péri-lésionnel. En combinant les métabolites les plus pertinents, nous avons créé un modèle diagnostique pour identifier les patients atteints d'HIC.

Résultats

Nous avons inclus 58 patients avec une HIC et 27 patients témoins (Non-HIC). Les caractéristiques cliniques étaient globalement similaires entre les HIC et Non-HIC : âge moyen de 68,4 (sd 16,3) ans, 36/58 (62,1 %) hommes, 35/58 (60,3 %) de patients hypertendus et durée depuis le début des symptômes de 385 (sd 685) minutes. La comparaison entre HIC et Non-HIC a mis en évidence 23 métabolites statistiquement pertinents ($p < 0.05$ après correction par False Discovery Rate) : 13 sphingomyélines, la lysophosphatidylsérine LPS(22_4), la guanine, la guanosine, l'inosine, la phosphatidylcholine PC(40_9), la linoleyl carnitine, la cadavérine, le 5-hydroxyindolacétate, la L-alanine, la N6-N6-N6-triméthyl-L lysine et la L-proline. Notre modèle diagnostique présente une AUC de 0,959 (IC 95 % : [0,882 ; 1]). La phosphatidylcholine PC(38_6) est corrélée avec le volume de l'œdème péri-lésionnel.

Conclusion

Dans notre cohorte, le profil métabolomique des patients atteints d'HIC en phase aiguë comporte principalement des phospholipides, des purines et quelques acides aminés. D'après nos résultats préliminaires, les sphingomyélines semblent jouer un rôle capital lors de la phase hyperaigüe des HIC. Métabolisés en céramide ou en sphingosine-1-phosphate, les sphingomyélines pourraient participer aux voies de l'apoptose ou à celles de l'inflammation. La sphingomyélinase qui convertit la sphingomyéline en métabolite actif pourrait être une nouvelle cible thérapeutique.

Abstract

Introduction

Intracerebral hemorrhage (ICH) is a common condition. The lack of effective therapies is one of the main reasons for its high morbidity and mortality. Metabolomics is an innovative tool to enhance our understanding of pathophysiology by analyzing circulating metabolites. The main goal of this study is to describe the metabolomic profile of ICH in the hyperacute phase to improve our understanding of the biological mechanisms involved.

Materials and Methods

MétAVC is a prospective study conducted at the University Hospital of Tours between December 2022 and November 2023. We consecutively included all patients presenting with stroke symptoms and collected their serum. All patients diagnosed with ICH underwent multimodal brain MRI. A control group was created by matching patients without stroke to account for confounding factors. Untargeted metabolomic analysis was performed using “High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry” (HPLC-MS). We compared the metabolomic profiles between ICH and non-ICH patients and assessed their correlations with the time from symptom onset to sampling, hematoma volume and perilesional edema. By combining the most relevant metabolites, we developed a diagnostic model to identify ICH patients.

Results

We included 58 ICH patients and 27 control patients (non-ICH). Clinical characteristics were generally similar between the ICH and non-ICH groups: mean age was 68.4 (SD 16.3) years, 36/58 (62.1%) were male, 35/58 (60.3%) had hypertension, and the average time since symptom onset was 385 minutes (SD 685). The comparison between ICH and non-ICH groups revealed 23 statistically significant metabolites as follows ($p < 0.05$ after correction for the false discovery rate): 13 sphingomyelins, lysophosphatidylserine LPS(22:4), guanine, guanosine, inosine, phosphatidylcholine PC(40:9), linoleyl carnitine, cadaverine, 5-hydroxyindoleacetate, L-alanine, N6-N6-N6-trimethyl-L-lysine, and L-proline. Our diagnostic model demonstrated an AUC of 0.959 (95% CI: [0.882; 1]). Phosphatidylcholine PC(38:6) was correlated with the volume of perilesional edema.

Conclusion

In our cohort, the metabolomic profile of acute-phase ICH patients primarily included phospholipids, purines, and some amino acids. Based on our preliminary results, sphingomyelins appear to play a key role in the hyperacute phase of ICH. Metabolized into ceramide or sphingosine-1-phosphate, sphingomyelins may participate in apoptotic or inflammatory pathways. Sphingomyelinase, which converts sphingomyelin into active metabolites, could be a potential therapeutic target.

Mots-Clés

Hémorragie intracérébrale, métabolomique, profil métabolomique, physiopathologie, cibles thérapeutiques, modèle diagnostique, IRM cérébrale, œdème péri-lésionnel, phospholipides, purines, sphingomyélines, sphingomyélinase.

Keywords :

Intracerebral hemorrhage, metabolomics, metabolomic profile, pathophysiology, therapeutic targets, diagnostic model, brain MRI, peri-lesional edema, phospholipids, purines, sphingomyelins, sphingomyelinase.

Abréviations

5-HIAA : 5-hydroxyindolacétate	lysoPC/LPC: Lysophosphatidyl choline
5-HT : Sérotonine	lysoPE/LPE: Lysophosphatidyl ethanolamine
AAC : Angiopathie amyloïde cérébrale	MAH : Microangiopathie hypertensive
AAP : Anti-agrégant plaquettaire	MAO : Monoamine oxydase
Ag : Anticoagulant	MMPs : Métalloprotéases de la matrice extracellulaire
AMP : Adénosine monophosphate	MPA : Maladie des petites artères
AOD : Anticoagulants oraux directs	NETs : Neutrophil extracellular traps
ATP : Adénosine triphosphate	NF-κB : Facteur nucléaire kappa
AUC : Area under the curve	NIHSS : National institute of health stroke scale
AVC : Accident vasculaire cérébral	NoS : Nitric oxyd synthase
BHE : Barrière hémato-encéphalique	OPLS-DA : Orthogonal partial least squares discriminant analysis
C1P : Céramide-1-phosphate	OPTICH : OPTimisation of IntraCerebral Haemorrhage
COX : Cyclooxygénase	PC : Phosphatidylcholine
CQ : contrôle qualité	PCA : Principal component analysis
DFG : Débit de filtration glomérulaire	PE : Phosphatidyle ethanolamine
EPVD : Espaces périvasculaires dilatés	PP2A : Protein phosphatase 2
FC : Fold change	ROC : Receiver-operating characteristic
FDR : False discovery rate	ROS : Espèces réactives à l'oxygène
GMP : Guanine monophosphate	S1P : Sphingosine-1-phosphate
HIC : Hémorragie intracérébrale	SM : Sphingomyéline
HO : Hème oxygénase	SMase : Sphingomyélinase
HPX : Hémopexine	SMS : Sphingomyéline synthétase
HSA : Hémorragies sous arachnoïdiennes	SphK : Sphingosine kinase
HTA : Hypertension artérielle	TGF-β : Facteur de croissance transformant β
IL : Interleukine	TIMPs : Inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases
IMC : Indice de masse corporelle	TNF : Tumor necrosis factor
iNOS : Oxyde nitrique synthase inductible	VCAM : Molécules d'adhésion aux cellules vasculaires
IRAK : Interleukines-1 receptor-activated protein kinase	VIP : Variable importance in projection
IRM : Imagerie par résonance magnétique	
IκBs: Inhibiteurs de κB	
KEGG : Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes	
LC-MS: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry	

Table des matières

I. Introduction	21
A. Clinique de l'hémorragie intracérébrale spontanée	21
B. Étiologies des hémorragies intracérébrales spontanées	21
C. Physiopathologie de la phase aiguë de l'hémorragie intracérébrale	24
1. Mécanismes à l'échelle tissulaire	24
2. Mécanismes à l'échelle cellulaire	27
3. Mécanismes à l'échelle moléculaire	29
D. Métabolomique dans l'hémorragie intra cérébrale	38
E. Objectifs de l'étude	44
II. Matériel & Méthode	45
A. Modalités de l'étude	45
B. Population d'étude	46
C. Imagerie	46
D. Analyse métabolomique	47
E. Analyse statistique	48
III. Résultats	51
A. Clinique	51
B. Imagerie	54
C. Métabolomique	56
1. Analyse principale : HIC vs Non-HIC	57
2. Analyse secondaire : durée depuis le début des symptômes	69
3. Analyse secondaire : volume de l'hématome et de l'œdème	71
IV. Discussion	77
A. Clinique	77
B. Imagerie	78
C. Métabolomique	80
1. Analyse principale : HIC vs Non-HIC	80
2. Analyse secondaire : durée entre le début des symptômes	99
3. Analyse secondaire : volume de l'hématome et de l'œdème	100
D. Forces et limites	101
V. Conclusion	103
VI. Bibliographies	104
VII. Annexes	111
A. Classification CADMUS	111
B. Classification Boston 2.0	113
C. Liste des métabolites analysés	114
D. Normalisation des concentrations des métabolites	116

E.	Histogramme de la durée entre le début des symptômes et le prélèvement	117
F.	Heatmaps de clustering de l'analyse principale HIC vs Non-HIC pour les facteurs de confusion : Age, Sexe, DFG et obésité.	118
G.	Métrique des modèles d'OPLS sur l'ensemble des métabolites	119
1.	HIC vs Non-HIC	119
2.	Durée entre le début des symptômes et le prélèvement	119
3.	Volume de l'hématome	119
4.	Volume de l'œdème péri-lésionnel	119
H.	Corrélation de Spearman concernant l'ensemble des 198 métabolites et la durée entre le début des symptômes	120
I.	Corrélation de Spearman concernant l'ensemble des 198 métabolites et les volumes	121
1.	Volume de l'hématome	121
2.	Volume de l'œdème péri-lésionnel	121

I. Introduction

A. Clinique de l'hémorragie intracérébrale spontanée

L'hémorragie intracérébrale (HIC) spontanée représente en moyenne 20% des accidents vasculaires cérébraux (AVC), cela se traduit par plus de 30 000 patients par an en France et 3,4 millions par an dans le monde (1). Contrairement à la prise en charge des ischémies cérébrales qui a été révolutionnée par la thrombolyse et la thrombectomie, nous nous sentons souvent impuissants face aux patients victimes d'HIC. Les années 2010 ont vu l'apparition des premiers essais cliniques à haut niveau de preuve avec des résultats encourageant pour la prise en charge des HIC en phase aigüe. Nous pouvons citer par exemple l'essai INTERACT 2 montrant qu'une réduction de la pression artérielle en phase aigüe permet une amélioration du pronostic fonctionnel des patients à 3 mois, sans pour autant démontrer une réduction de la mortalité (2). Le concept de « self-fulfilling prophecies », prophétie auto-réalisatrice, nous rappelle qu'il est nécessaire de rejeter tout a priori pessimiste pouvant amener le patient à une perte de chance (3). Comme démontré par *Parry-Jones et al.* (4), nous pouvons diminuer la mortalité des HIC à 30 jours par une prise en charge systématisée en phase aigüe : réversion de l'anticoagulation, diminution de la pression artérielle et prise en charge en réanimation médicale si nécessaire. La pertinence du concept de prise en charge global du patient en phase aigüe, appelée « Bundle of Care », a été confirmée par l'essai contrôlé randomisé INTERACT 3 qui montre une amélioration du pronostic fonctionnel des patients à 6 mois (5). Malgré l'ensemble des soins prodigués, l'absence de thérapeutique spécifique explique un taux de létalité et de handicap extrêmement élevé (40 % à un mois et 54 % à un an) et seuls 12 à 39 % des survivants peuvent espérer une indépendance fonctionnelle à long terme (6,7). Dans les pays à haut revenus comme la France, le groupe *Global Burden of Disease* estime l'impact des HIC à environ 1200 années de vie ajustées sur l'incapacité (DALY) perdues par 100 000 habitant par an (1). L'importante incidence des HIC et leur impact sur la qualité de vie des patients rendent la découverte d'un traitement adapté un enjeu mondial majeur et urgent de santé publique.

B. Étiologies des hémorragies intracérébrales spontanées

La maladie des petites artères cérébrales (MPA) est la principale étiologie d'HIC spontanée. Il existe différents sous-groupes, mettant en jeu des mécanismes physiopathologiques variés. On peut citer la microangiopathie hypertensive (MAH) et l'angiopathie amyloïde cérébrale

sporadique (AAC). La MAH, dont le principal facteur de risque est l'hypertension artérielle (HTA), touche préférentiellement les artères perforantes profondes vascularisant les noyaux gris centraux, la substance blanche profonde et le pont. Elle peut être à l'origine d'HIC profonde ou d'infarctus profond de petit volume appelés infarctus lacunaires. En effet, l'atteinte chronique de l'HTA entraîne le remodelage de la paroi artérielle dont les descriptions anatomopathologiques typiques sont la nécrose fibrinoïde, la lipohyalinose et l'artériolosclérose (8,9). D'après *Magid-Bernstein, Jessica, et al.* (10), concernant la MAH, les modèles murins et la recherche translationnelle suggèrent qu'une augmentation de la rigidité des artères perforantes pourrait être liée à un dérèglement des métalloprotéases de la matrice extracellulaire (MMPs), de l'élastine et du collagène. D'autres hypothèses physiopathologiques complémentaires ont été avancées comme une dérégulation neuro-hormonale, une dérégulation du système rénine-angiotensine ou encore une atteinte inflammatoire médiée par certaines cytokines telles que le TNF- α ou l'IL-6. Concernant l'AAC, l'accumulation de dépôt protéique du type amyloïde au sein de la paroi des petites artères perforantes leptoméningées entraîne une perte des cellules musculaires lisses aboutissant à de la nécrose fibrinoïde et à la fragilisation de l'artère. Les HIC sont typiquement lobaires et superficielles mais il est important de noter qu'il existe d'autres formes cliniques d'AAC : les troubles cognitifs et les déficits neurologiques focaux transitoires appelés « aura amyloïde ». Ces trois formes cliniques, HIC/trouble cognitif/aura amyloïde peuvent évoluer de façon isolée ou s'intriquer les unes aux autres (11). Les mécanismes précis aboutissant à la fragilisation des artères restent partiellement incompris. Une hypothèse récente évoque un lien avec l'atteinte des péricytes par la protéine A- β_{40} , un produit de dégradation de la protéine précurseur amyloïde. Cette atteinte des péricytes entraînerait une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique favorisant ainsi l'activation des MMPs en raison du relargage de cytokine pro-inflammatoire par les astrocytes (10). Concernant l'accumulation du peptide amyloïde dans la paroi des artères, il existe peu de preuves évoquant une surproduction protéique. En revanche il semble qu'il existerait une accumulation due à un défaut de clairance (11,12). Enfin, il est important de pouvoir diagnostiquer l'étiologie de la MPA de manière précise car le pronostic est différent. D'un côté les AAC sont à haut risque de récurrence hémorragique et peuvent présenter une atteinte cognitive sévère, d'un autre côté les MAH s'expriment aussi sur le versant ischémique.

Pour évaluer la sévérité clinique et anatomopathologique de la maladie des petites artères, nous pourrions parler de charge lésionnelle dont les biomarqueurs d'imagerie sont un reflet indirect (on abordera uniquement les biomarqueurs IRM pour cette étude). On sépare volontiers les

biomarqueurs hémorragiques des biomarqueurs non hémorragiques. Mieux visibles en séquence de susceptibilité magnétique comme le T2* ou la SWI (séquence plus sensible), on compte parmi les biomarqueurs hémorragiques : microbleeds (profond ou superficiel), les HIC (récentes ou anciennes) et les hémorragies sous arachnoïdiennes (HSA) dont la sidérose corticale est le stigmat. Mieux visibles sur des séquences anatomiques comme le T1, le T2 ou sur une séquence caractérisant la substance blanche comme le FLAIR, on compte parmi les biomarqueurs non hémorragiques : les hypersignaux FLAIR de la substance blanche, les espaces périvasculaires dilatés (EPVD), les infarctus lacunaires et l'atrophie cérébrale (13). Concernant la MAH, les principaux biomarqueurs hémorragiques sont les microbleeds profonds et les HIC profondes, les principaux biomarqueurs non-hémorragiques sont les hypersignaux FLAIR de la substance blanche profonde, les micro-infarctus dit infarctus lacunaires, l'atrophie cérébrale, les espace périvasculaires profonds dilatés (13). Concernant l'AAC, les principaux biomarqueurs hémorragiques sont les microbleeds superficiels, la sidérose corticale, les HSA et les HIC superficielles, les principaux biomarqueurs non-hémorragiques sont les hypersignaux FLAIR de la substance blanche sous corticale, les micro-infarctus corticaux, l'atrophie cérébrale corticale focale, les EPVD des centres semi-ovaux (14). Pour illustrer le concept de charge lésionnelle concernant l'AAC, on pourra par exemple distinguer schématiquement quatre stades anatomocliniques en fonction de la durée d'évolution et de la sévérité de la maladie (cf. **Figure 1**). Le premier stade, infra clinique, met en évidence des dépôts amyloïdes ponctuels au sein de la paroi. Dans le deuxième stade, les dépôts se font de manière plus homogène au sein de la paroi mais toujours avec des portions d'artères saines. On pourra ici mettre en évidence une diminution de la vasoréactivité, par exemple grâce au doppler transcrânien. Dans le troisième stade, les dépôts sont présents sur l'ensemble de la paroi, il n'existe plus de portions d'artères saines et on voit apparaître des lésions non hémorragiques avec atteinte de la substance blanche. A ce stade les patients peuvent volontiers présenter des troubles cognitifs. Au quatrième stade, il existe un large remodelage de la paroi de vaisseaux avec une perte importante des cellules musculaires lisses, les patients développent rapidement des lésions hémorragiques dont la plus sévère est l'HIC (12).

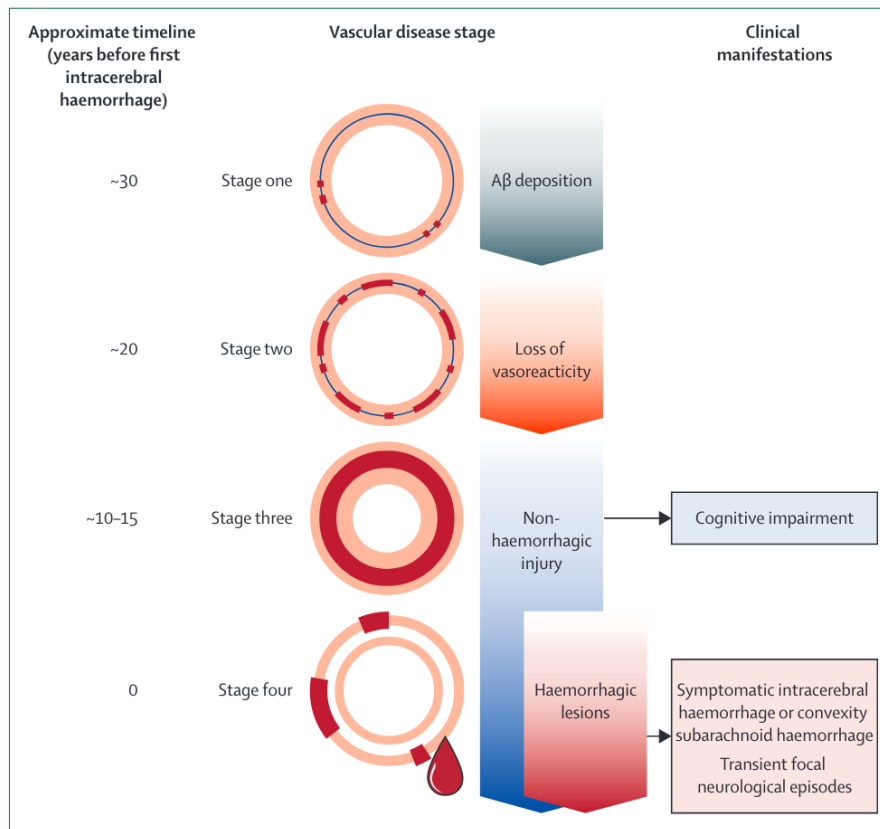


Figure 1: Schéma de la corrélation entre la charge lésionnelle et l'expression clinique de l'AAC. Figure tirée de *Koemans, Emma A., et al. (12)*.

C. Physiopathologie de la phase aiguë de l'hémorragie intracérébrale

La physiopathologie des HIC est un phénomène complexe et encore partiellement inconnu. Nous proposons de séparer la description des mécanismes mis en jeu aux différentes échelles : tissulaire, cellulaire et moléculaire (que nous détaillerons spécifiquement au vu de son intérêt en métabolomique).

1. Mécanismes à l'échelle tissulaire

L'HIC débute par une rupture de vaisseau avec extravasation de sang dans le parenchyme cérébral. Cette rupture est la conséquence d'une fragilité vasculaire comme en témoignent la lipohyalinose, l'artériolosclérose ou les dépôts amyloïdes. Le facteur précipitant reste à ce jour inconnu mais il semblerait qu'une élévation de la pression artérielle dans les jours qui précèdent l'HIC puisse être en cause (15). Pour un patient sur cinq, il s'ensuit une phase d'expansion de

l'hématome, connue pour être un facteur de très mauvais pronostic. Cette expansion semble être due à l'hématome qui majore les forces de cisaillement sur les micro-vaisseaux adjacents. Les volumineuses HIC vont augmenter la pression intracrânienne ce qui peut diminuer la pression de perfusion cérébrale à distance de l'hématome ou entraîner un effet de masse (avec pour conséquence un engagement ou une hydrocéphalie). L'extravasation du sang au niveau du parenchyme va provoquer une réaction inflammatoire intense aboutissant à un œdème péri-lésionnel.

Les modèles actuels décrivent deux phases successives. A l'endommagement primaire qui est causé par l'effet de masse, l'expansion de l'hématome et l'hydrocéphalie, on oppose l'endommagement secondaire qui inclut l'œdème peri-lesionnel, la toxicité du sang et du fer ainsi que le stress oxydatif (9). En pratique, la dichotomie d'endommagement primaire et secondaire semble s'entremêler dans un cercle vicieux où les lésions secondaires vont entretenir et aggraver les lésions primaires (cf. **Figure 2**). Pour exemple, on peut noter que l'œdème péri-lésionnel va majorer l'effet de masse (10). Bien qu'ayant un rôle délétère à la phase initiale (16,17), il semble que dans un second temps l'inflammation cérébrale participe indirectement à la plasticité cérébrale (17). Ce double-rôle contradictoire pourrait expliquer que, sans ajustement précis sur le timing (cf. **Figure 3**), certaines thérapeutiques anti-inflammatoires large spectre comme les corticoïdes n'aient pas montré de bénéfice à la phase aiguë des HIC (18). A ce jour, le timing précis des différentes voies de l'inflammation qui s'activent à la suite de la rupture d'une artère cérébrale n'a pas été clairement identifié (19).

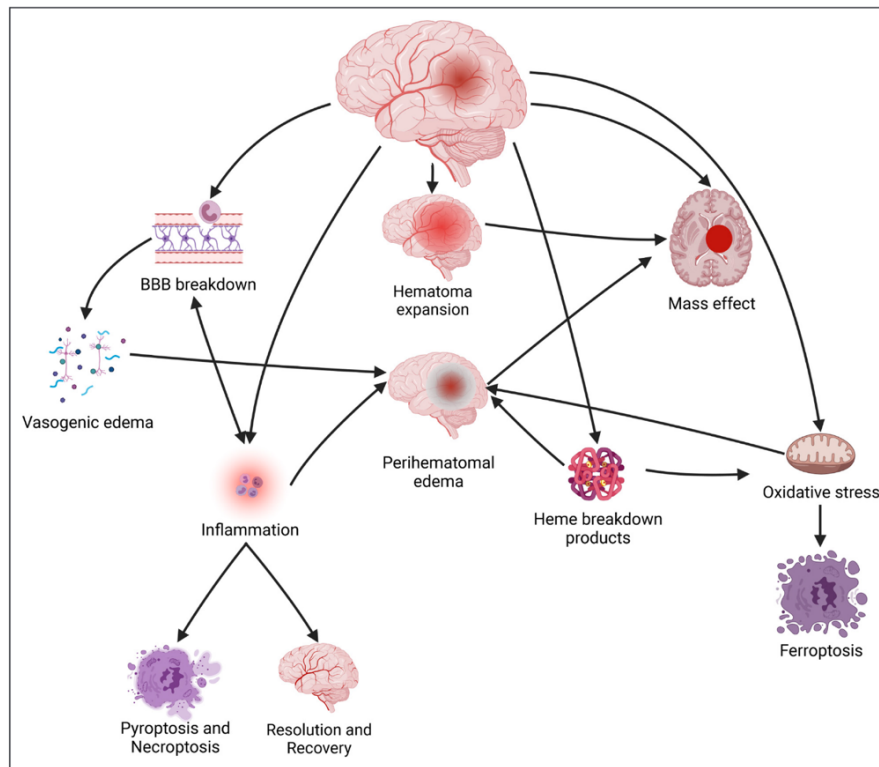


Figure 2 : Liens directs et indirects entre les différents mécanismes impliqués dans l'endommagement primaire et secondaire des HIC. Figure extraite de *Magid-Bernstein, Jessica, et al.*(10).

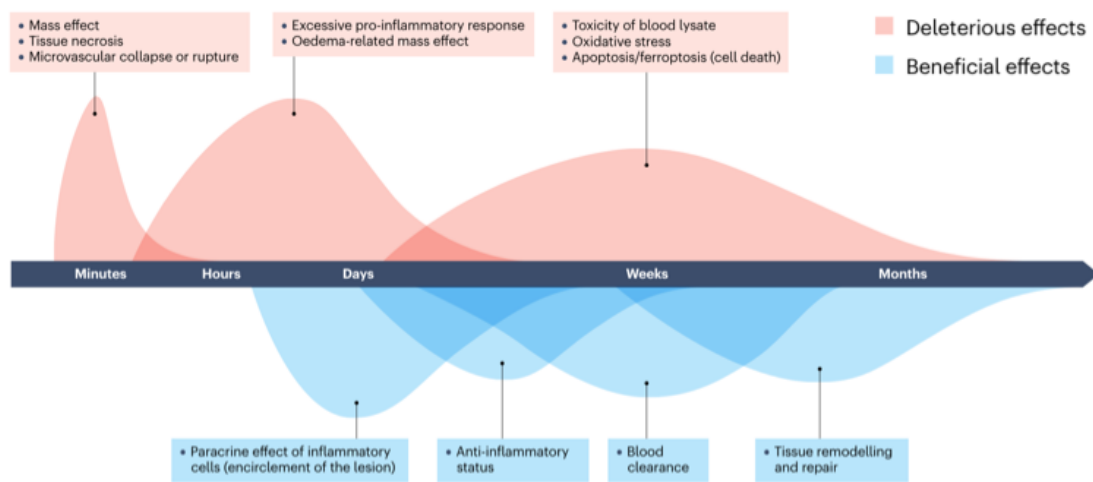


Figure 3 : Évolution temporelle des mécanismes physiopathologiques impliqués dans l'HIC. Figure extraite de *Puy et al.* (9).

2. Mécanismes à l'échelle cellulaire

Après seulement quelques heures, les cellules de la microglie s'activent en raison du contact direct avec les produits sanguins (cf. **Figure 4**). Via des cytokines et des chémokines, elles transmettent un signal aux cellules endothéliales qui, à leur tour, vont recruter des cellules de l'immunité comme les neutrophiles ou les macrophages.

On considère qu'il existe deux stades différents d'activation de la microglie : M1 et M2 (17). Le stade M1, déclenché par le contact avec des produits sanguins tels que l'hème ou l'hémoglobine, va activer la neuroinflammation en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires tels que le $\text{TNF-}\alpha$ ou l' $\text{IL-1}\beta$. Le stade M2 s'active au bout de 24 heures, il sera pleinement fonctionnel après 14 jours ; c'est un état anti-inflammatoire et neuroprotecteur, secondaire à certaines cytokines anti-inflammatoires telles que l' IL-4 , l' IL-10 , ou au facteur de croissance transformant β ($\text{TGF-}\beta$).

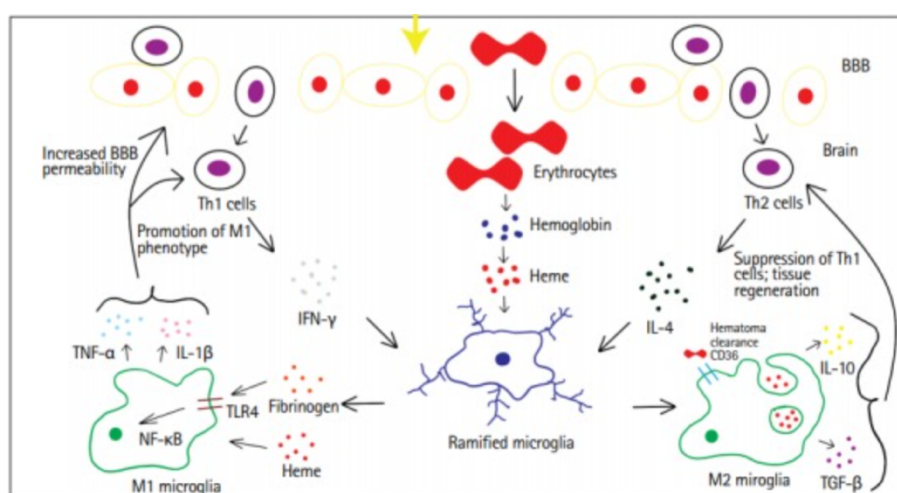


Figure 4 : Activation microgliale lors des HIC. Figure tirée de *Tschoe et al.* (17).

Les neutrophiles sont les premières cellules du système immunitaire à être recrutées. Ils vont traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) grâce à la surexpression de molécules d'adhésion comme ICAM-1, VCAM-1 ou l'E-Selectine. Ils jouent un rôle dans la cascade de l'inflammation et peuvent activer un processus cellulaire immunitaire tout à fait spécifique : la nérose. Le processus de nérose va permettre aux neutrophiles de libérer des fibres composées de protéines et d'ADN nommées NETs (Neutrophil extracellular traps) ayant un effet pro-inflammatoire et hémostatique.

L'ensemble de ces éléments va précipiter la mort neuronale à travers différents mécanismes (excitotoxicité, nécrose, apoptose, pyroptose et ferroptose) participant ainsi à la formation de l'œdème péri-lésionnel (9,10).

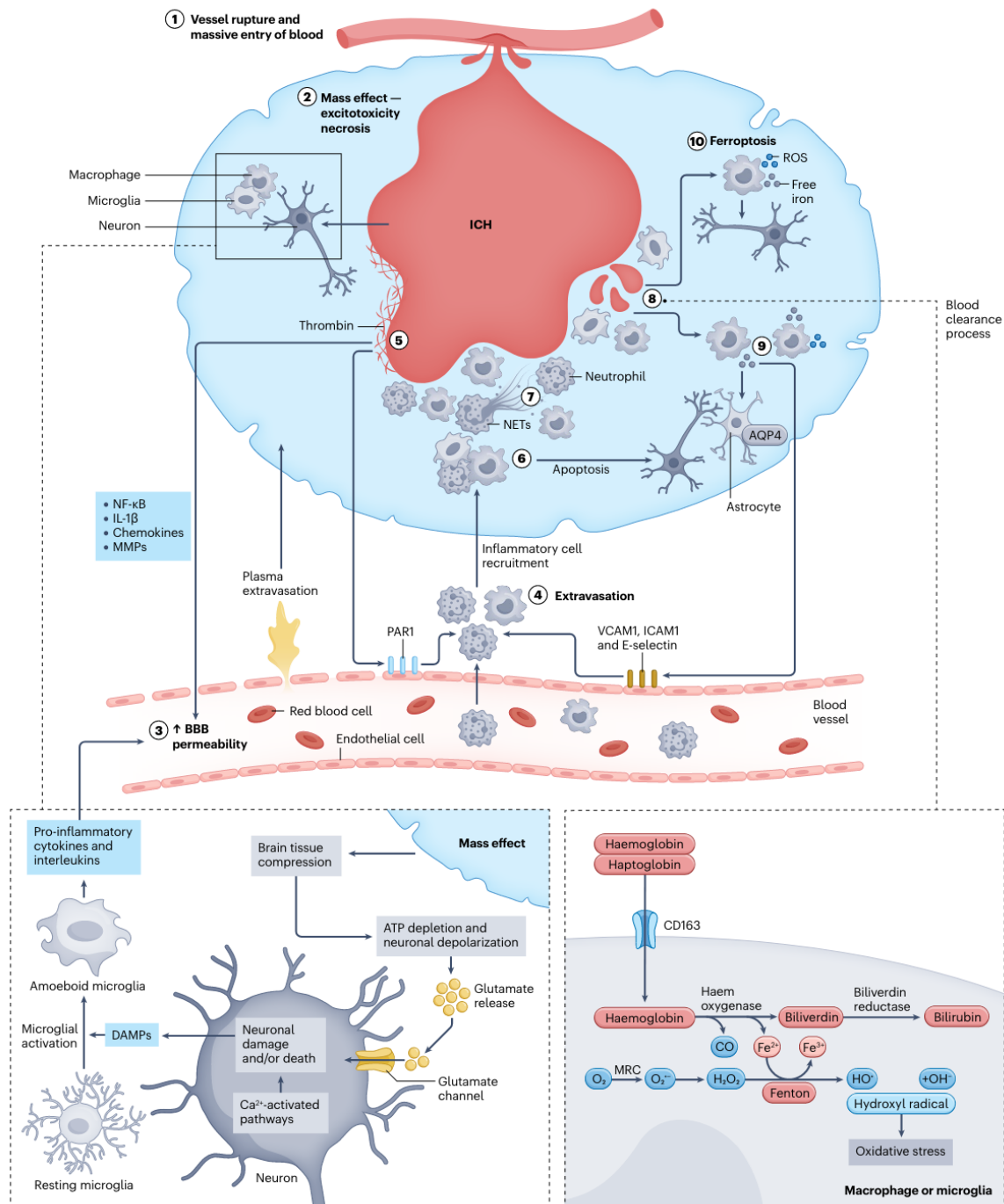


Figure 5 : Schéma de la physiopathologie de la phase initiale des HIC. Figure extraite de Puy *et al.* (9). Note de l'auteur : données expérimentales, rôle et timing précis à confirmer.

3. Mécanismes à l'échelle moléculaire

Comme le met en évidence la **Figure 5**, différents mécanismes sont mis en jeu à la phase aiguë des HIC : molécules libérées par les tissus endommagés, présence de composants sériques dans la matrice extracellulaire et lyse des érythrocytes. Les tissus endommagés et les molécules sériques, telles que l'ATP, la thrombine, des acides nucléiques ou des produits de la matrice extracellulaire, vont activer l'état pro-inflammatoire M1 des cellules de la microglie.

L'étude des mécanismes moléculaires précis mis en œuvre à la phase initiale des HIC reste un challenge. A ce jour, les modèles animaux, principalement murins, utilisent deux méthodes différentes pour mimer une HIC : l'injection de sang directement dans le cerveau ou l'injection de collagénase. Bien que l'injection de collagénase reproduise mieux le phénomène de rupture vasculaire, des doutes sont émis quant aux effets indirects de l'injection de collagénase ce qui rend l'analyse et l'interprétabilité des résultats possiblement biaisées (20).

a) La thrombine

La thrombine est une protéine de type protéase à sérine. Elle est formée à la suite de l'activation de la prothrombine (Facteur II) dans la cascade de la coagulation. La thrombine est une protéine essentielle dans la cascade de la coagulation grâce à sa capacité à cliver le fibrinogène en fibrine, limitant ainsi l'expansion de l'hématome. Néanmoins, la thrombine joue un rôle non-hémostatique majeur grâce à ses capacités de signalisation via ses 3 récepteurs PARs (Protéase-activated receptors ; PAR-1, PAR-3, PAR-4) (21). Par l'activation des PARs, la thrombine participe aux voies de la survie/mort cellulaire et de la neuroinflammation. *Ye et al.* (22) mettent en avant la dualité de la thrombine dans différentes pathologies neurologiques, en particulier neurovasculaires, avec un effet neuroprotecteur à faible dose et un effet délétère à forte dose. L'inflammation déclenchée par le fibrinogène extravasculaire se fait via l'activation microgliale par le récepteur d'intégrine CD11b/CD18 et la présentation d'antigènes dépendant du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) II. Cette activation microgliale va augmenter la sécrétion de chimiokines telles que la CXC-chemokine ligand 10 (CXCL10), la CCL2/monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1) ou l'interleukine 12 (IL-12), favorisant ainsi le recrutement des lymphocytes T et des macrophages. En dehors du cerveau, en particulier au niveau du système immunitaire, il a été mis en évidence que la thrombine peut cliver le pro-interleukine-1 α (IL-1 α) en IL-1 α (23), participant ainsi à l'inflammation au niveau systémique.

Les PARs, sont des récepteurs couplés à des protéines G exprimés sur de nombreuses cellules comme les plaquettes, les cellules endothéliales, les monocytes, les neurones ou les astrocytes. Les voies de signalisation activées par ces protéines G sont : la voie MAPK, la voie phospholipase C, la voie phosphokinase C, la voie ERK/MAPK, la voie PI3K et la voie Rho/RhoA. On remarquera que la faible affinité des récepteurs PAR-1 et PAR-3 permet leur activation avec de faibles quantités de thrombine (< 5 nmol/L), alors que PAR-4 nécessite de plus fortes concentrations en raison de son affinité moindre. De plus, *Posma et al.* (24) soulignent, qu'à concentration égale, la durée d'exposition de la thrombine sur le récepteur fait varier la voie de signalisation activée. De manière générale, l'activation des PARs facilite la libération de la cyclooxygénase-2 (COX-2), de l'oxyde nitrique synthase (NoS), du facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), de l'IL 1 α /1 β , de l'IL-6, de l'IL-12 et active le complément. Au niveau endothélial, la thrombine active les PAR-1, ce qui induit une entrée de calcium activant alors l'actine-F, le tout aboutissant à un relâchement des jonctions serrées intercellulaires et à l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique.

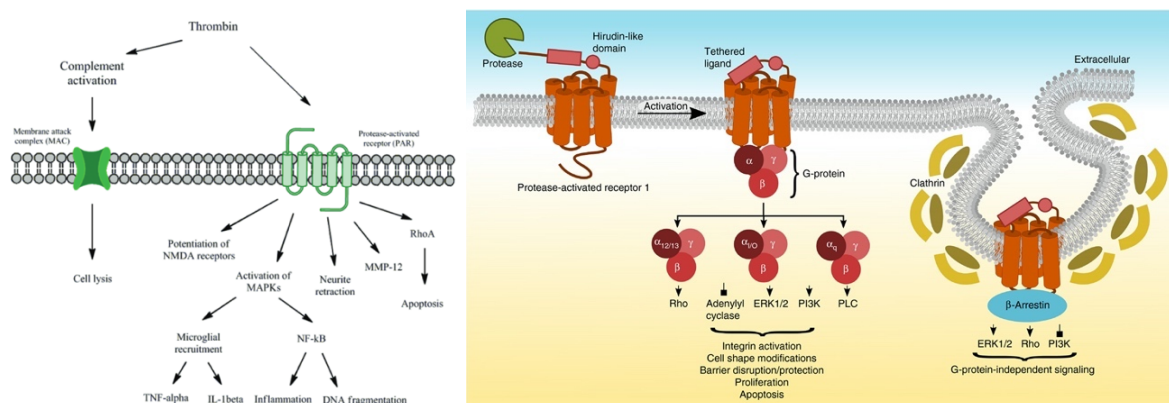
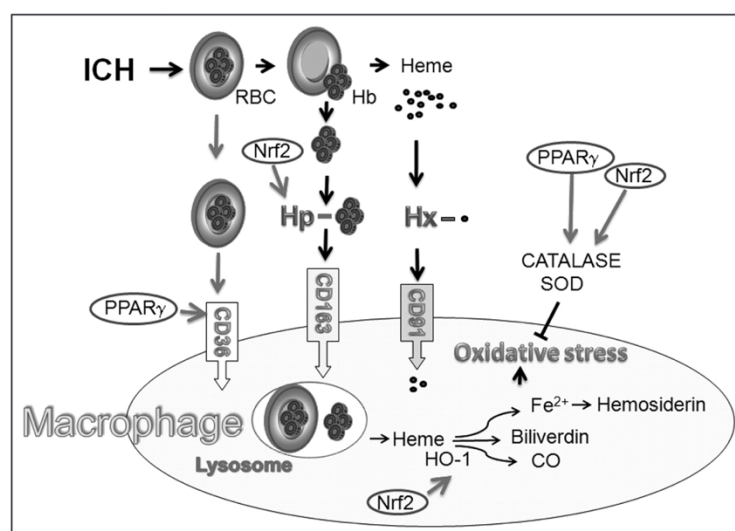


Figure 6 : Voies de signalisation non hémostatiques de la thrombine dans l'HIC. A gauche, Figure extraite de *Babu, Ranjith, et al.* (21). A droite, Figure extraite de *Posma et al.* (24).

b) L'hémoglobine, le fer et l'hème

La lyse des érythrocytes libère des produits de dégradation tels que l'hémoglobine, le fer et l'hème qui sont pro-inflammatoires et toxiques via le stress oxydatif. Pour limiter leurs effets délétères, les macrophages et les cellules de la microglie utilisent différents mécanismes (cf. **Figure 7**). D'un côté, elles vont phagocyter les globules rouges via le récepteur CD36, d'un autre côté, l'hémoglobine libre va se lier à l'haptoglobine et être internalisée via le récepteur CD163. De plus, l'hémopexine (HPX), qui est une protéine qui a la propriété de se lier à l'hème libre, va être internalisée via le récepteur CD91. Malheureusement, les stocks d'haptoglobine

et d'HPX sont rapidement consommés. Une solution de secours est alors développée avec la production rapide d'hémopexine par le foie et d'haptoglobine par les oligodendrocytes (25). Cette production répond à un signal des facteurs antioxydants Nrf2 (facteur de transcription de la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathionne-S-transférase, la glutathionne peroxydase, la HO-1, la NAD(P)H quinone oxydoreductase-1, la peroxyredoxine ou la thioredoxine) et PPAR γ (facteur de transcription de l'antioxydante catalase et de la cuivre/zinc superoxyde dismutase). Une fois internalisée, l'hémoglobine et son hème vont être dégradés en biliverdine, monoxyde carbone et fer libre par l'hème oxygénase (HO). Pour éviter la toxicité oxydative du fer libre, celui-ci va être séquestré par des protéines telles que l'hémosidérine ou la ferritine (ces déchets ferriques resteront à vie dans le parenchyme cérébral ; c'est grâce à eux que les séquences d'IRM de susceptibilité magnétique, telles que la SWI, nous informent sur les séquelles hémorragiques). Il existe deux isoformes de HO, HO1 (ou HSP32) qui est inductible et HO2 qui est constitutionnelle. Des études murines ont montré des résultats divergents : les souris knock-out (KO) pour HO1 présentent à court terme un meilleur pronostic que les souris Wild-type (WT) et les souris KO pour HO2 présentent un moins bon pronostic que les souris WT (23, 24). Néanmoins, les auteurs soulignent l'importance du timing car l'évaluation du pronostic chez les souris était faite à 3 jours. En effet, d'autres études murines mettent en avant un effet positif de la sulforaphane, qui agit via la surrégulation de HO1 par Nrf2. Il est alors avancé qu'HO1 pourrait jouer un rôle délétère à la phase aiguë en libérant une quantité de fer libre supérieure aux capacités anti-oxydatives mais reste nécessaire après la phase hyper-aiguë pour sécuriser l'hémolyse de l'hématome.



Avant d'être totalement dégradé, l'hème libre va entraîner du stress oxydatif via les espèces réactives à l'oxygène (ROS) et va participer à l'état pro-inflammatoire en stimulant l'expression des protéines endothéliales d'adhésions ICAM1, VCAM1 et E-Selectine. Par ailleurs, les dépôts ferreux activent la microglie via le récepteur TLR4 et majorent l'expression des AQP4, participant une fois de plus à la balance pro-inflammatoire et à la majoration de l'œdème péri-lésionnel.

De façon intéressante, *Wagner et al.* (28) ont mis en évidence une majoration du volume de l'œdème péri-lésionnel pour les hommes par rapport aux femmes. Cette différence pourrait s'expliquer par le rôle protecteur qu'ont les œstrogènes en limitant la neurotoxicité de l'hème et du fer (29).

c) L'interleukine 1 : IL-1

Les interleukines sont une famille de cytokines régulant le système immunitaire et produites par de nombreuses cellules. Le génome humain comporte plus de 50 gènes encodant pour des interleukines. Ces molécules régulent différents mécanismes tels que la migration, l'adhésion ou la prolifération de cellules immunitaires ainsi que leur différenciation et leur activation.

Historiquement, la famille de l'interleukine 1 a été la première à être décrite, c'est de loin l'interleukine la plus étudiée. La famille de l'interleukine 1 comporte 11 protéines différentes, dont les plus pertinentes sont l'IL-1 α et l'IL-1 β . Les interleukines sont produites initialement dans une forme inactive, elles nécessitent un clivage par des protéases telles que la caspase-1 pour avoir une activité biologique (30). Comme visible sur la **Figure 8**, les membres de cette famille se lient au récepteur IL-1 (IL-1R) activant ainsi la voie de signalisation MyD88 grâce à la phosphorylation de protéines de la famille IRAK (Interleukines-1 receptor-activated protein kinase). Cette voie de signalisation aboutit à un état pro-inflammatoire grâce à la transcription de gènes tels que NF- κ B, AP-1, c-Jun N-terminal kinase (JNK) ou p38-MAPK. Il existe un antagoniste à l'IL-1R nommé IL-Ra qui se lie à l'IL-1R sans activer sa voie de signalisation permettant alors d'exercer un retro-control négatif.

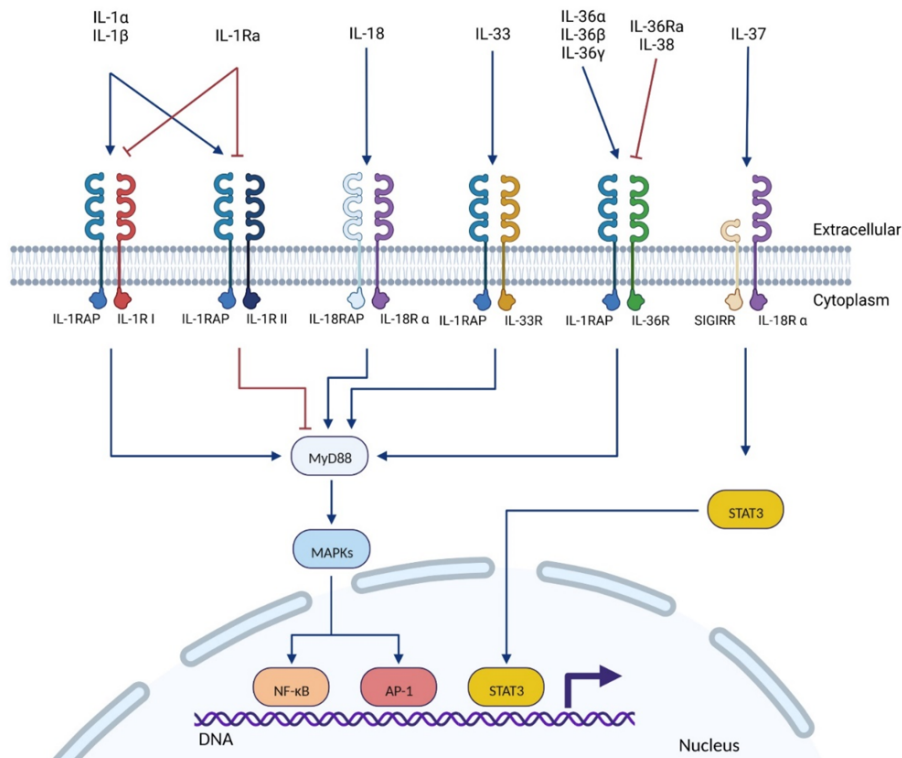


Figure 8 : Résumé des voies de signalisation de la famille des IL-1. Figure extraite de *Frenay et al.* (31).

Loan et al. (32) dans leur revue de la littérature mettent en évidence plus de 20 000 molécules analysées dans le tissu humain cérébral après une HIC. Ils semblent porter un intérêt tout à fait spécifique à l'interleukine-1 β (IL-1 β) qui a prouvé une bonne reproductibilité avec 3 études différentes mettant en évidence une augmentation dès 6 heures après le début de l'HIC.

Ye et al. (33) font une revue de la littérature concernant le rôle des différentes interleukines dans l'HIC. Concernant l'IL-1 et son antagoniste IL-1Ra, ils expliquent que l'augmentation de l'IL-1 β entraîne une augmentation des métalloprotéases de type MMP-9. La concentration d'IL-1 β atteint un pic vers J3 après le début de l'HIC et va commencer à décroître entre J7 et J14. Quant à l'IL-1Ra, elle exerce une activité anti-inflammatoire en entrant en compétition avec l'IL-1 β . Sa surexpression sur des modèles murins permet de diminuer l'œdème péri-lésionnel induit par la thrombine et la perte neuronale. Une étude de phase II menée par *Parry-Jones et al.* (34) sur 25 patients a montré la faisabilité de l'administration d'Anakinra (un anticorps recombinant IL-1Ra) dans la phase aiguë des HIC mais ils n'ont pas réussi à montrer une différence statistiquement significative sur le volume de l'œdème péri-lésionnel.

Par ailleurs, différents modèles murins semblent montrer que l'IL-1 α active rapidement les cellules endothéliales via la voie NF- κ B et favorise la thrombose. *Ye et al.* (33). soulignent que le rôle de l'IL-1 α semble avoir été négligé par rapport à celui de l'IL-1 β dans l'HIC alors qu'elle pourrait être une cible spécifique de la neuroinflammation.

d) La voie facteur nucléaire kappa : NF κ B

Guo et al. font une excellente revue de la voie du facteur nucléaire kappa (NF- κ B) (35). On y retrouve que le NF- κ B est une famille de protéines qui joue un rôle de facteur de transcription dans la régulation de la réponse immunitaire, de l'inflammation et de la survie cellulaire. NF- κ B est généralement inactif dans le cytoplasme car il est lié à des protéines inhibitrices connues sous le nom d'I κ Bs (Inhibiteurs de κ B). L'I κ B kinase est une enzyme qui est activée par divers récepteurs membranaires. Il existe la voie dite « canonique » et la voie dite « non canonique » en fonction des récepteurs membranaires activés et des voies de signalisation sous-jacentes (cf. **Figure 9**). Les protéines I κ B sont alors dégradées, ce qui permet à NF- κ B de se transloquer vers le noyau où il va moduler l'expression de nombreux gènes. La voie NF- κ B canonique est principalement activée par les cytokines suivantes : le TNF- α , l'interleukine (IL)-1 β et le lipopolysaccharide. La voie du NF- κ B non canonique est principalement activée par le facteur d'activation des lymphocytes B (BAFF), le ligand CD40 (CD40L) et la lymphotoxine β (LT β).

In fine, la complexité de la voie de signalisation du NF- κ B et la quantité importante de gènes qu'il cible rendent la description précise de son activation délicate. On pourra néanmoins noter que la voie NF- κ B va activer la transcription de gènes tels que ceux codant pour des cytokines (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, interféron- γ), les protéines de mort et de survie (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-xs, Bax, XIAP, p53, Myc, Fas), les molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM, ELAM-1, E-Selectin), la cyclooxygénase-2 (COX-2), la manganèse-superoxyde dismutase (MnSOD), l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), la cycline-D1 (36).

La voie NF- κ B joue donc un rôle pro-inflammatoire en régulant la production de cytokines pro-inflammatoires, le recrutement des leucocytes et la survie des cellules. En revanche, NF- κ B présente aussi des fonctions anti apoptotiques qui peuvent s'avérer nécessaires à la plasticité neuronale. Au total, le NF- κ B peut favoriser l'apoptose dans certains contextes et contribuer à la résolution de l'inflammation dans d'autres. Les situations aboutissant à l'un ou à l'autre sont, à ce jour, encore imparfaitement comprises (37).

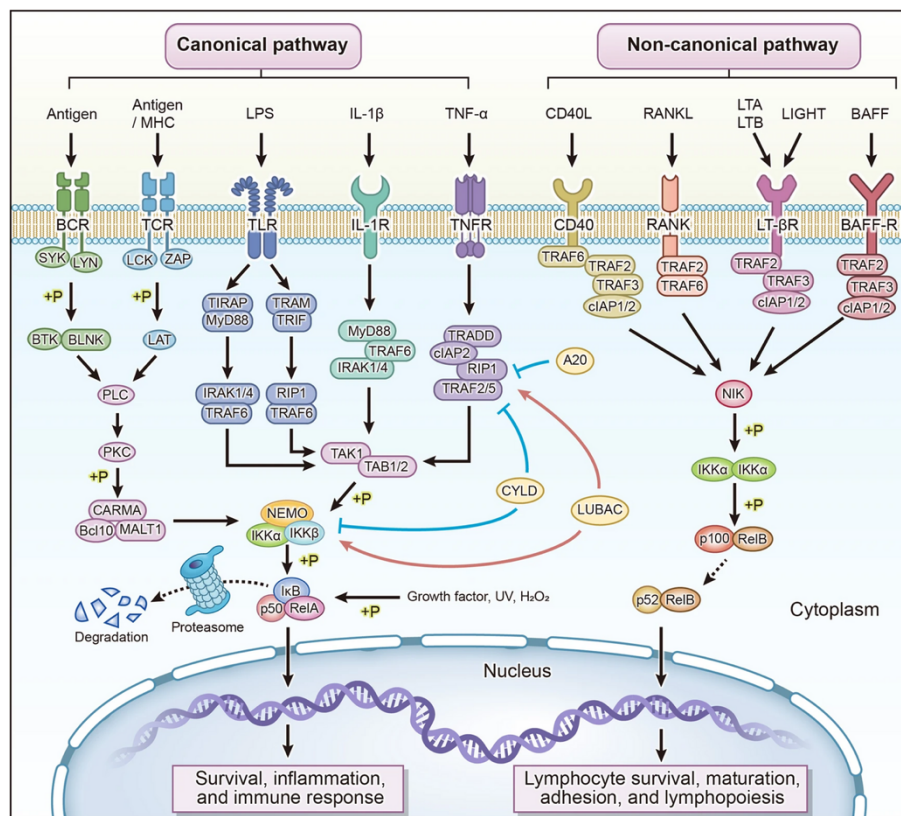


Figure 9 : Voies de signalisation canonique et non canonique du NF-κB. Figure extraite de Guo et al. (35).

En 2005, Aronowski et al. (38) évoquaient le rôle majeur du NF-κB dans la physiopathologie de la phase aiguë de l'HIC. Ils confirment que le NF-κB va favoriser la production de molécules inflammatoires telles que les cytokines IL-1β ou TNF-α, de protéines telles que l'oxyde nitrique synthase inducible, la cyclooxygénase 2, l'hème oxygénase HO-1 ou encore les métalloprotéases de type MMP-9. Comme confirmé par la base de données KEGG (cf. **Figure 10**), il existe un phénomène d'auto-amplification via certaines molécules de type IL-1β ou TNF-α qui sont à la fois des produits et des activateurs du NF-κB. D'un autre côté, le NF-κB semble être activé par les espèces réactives de l'oxygène qui sont massivement produites à la phase aiguë de l'HIC via le stress oxydatif (cf. I.C.3.b). Aronowski et al. (38) ont expérimentalement prouvé chez le rat que l'activation du NF-κB est un phénomène précoce dont les produits de transcription sont mesurables dès 6 h après le début des symptômes. Ces résultats ont été confirmés par Wagner et al. (39) qui montrent une activation dès les premières minutes de l'HIC.

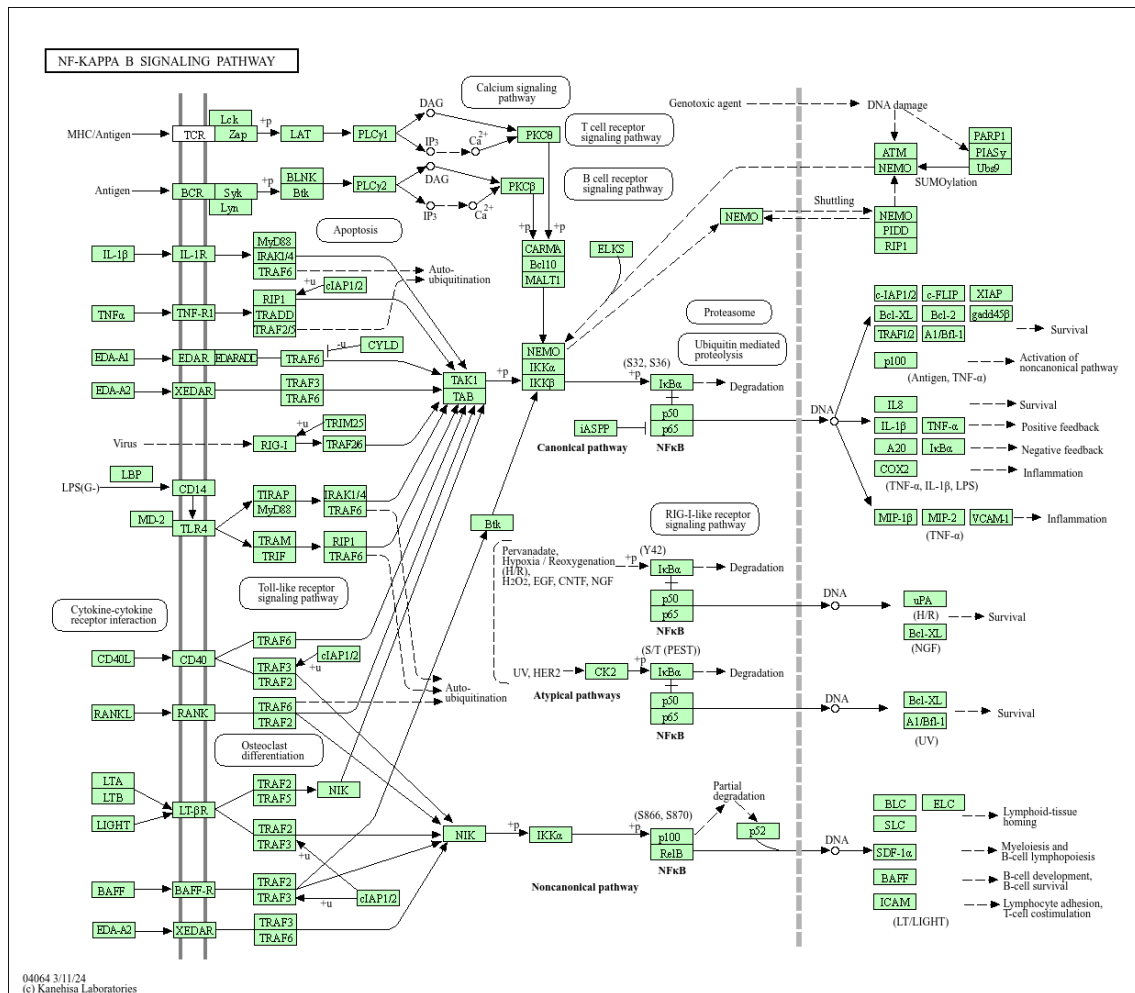


Figure 10 : Résumé des voies de signalisation du NF-κB. Figure extraite du site KEGG.

e) *MMPs*

Les métalloprotéases de la matrice extracellulaire (MMPs) font partie de la famille des enzymes endopeptidases zinc-dépendantes. Ces enzymes peuvent dégrader des molécules de la matrice extra cellulaire telles que le collagène ou l'élastine. Il en existe 23 types chez l'humain ; leur production est régulée par différentes cytokines telles que l'IL-1β, l'IL-6 ou le TNF-α. Elles sont produites et disponibles sous forme de proenzyme inactive grâce à un groupe cystéine dans le prodomaine, bloquant ainsi le site actif du zinc. C'est le clivage de cette liaison cystéine-zinc qui va activer l'autocatalyse du prodomaine, aboutissant alors à la forme active des MMPs. Dans le plasma, l'α2-microglobuline va inhiber les MMPs alors que dans les tissus, ce sont les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases (TIMPs) qui jouent ce rôle.

Lattanzi et al. ont réalisé en 2022 une synthèse du rôle des MMPs dans l'HIC (40). Les MMPs participent directement aux mécanismes inflammatoires de la phase aiguë de l'HIC, en

particulier en jouant un rôle clef dans l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique et dans le développement de l'œdème péri-lésionnel. De plus, les MMPs amplifient la cascade inflammatoire en convertissant certaines cytokines dans leur forme active telles que le TNF- α , l'IL-6 ou le Fas-Ligand. MMP-9, une gélatinase B, est surexprimé dès 2 h après le début de l'HIC. L'augmentation de son expression, modulée par le VEGF, semble favoriser la croissance de l'hématome.

Parallèlement, une fois la phase aiguë passée, les MMPs jouent un rôle capital dans la récupération fonctionnelle et le remodelage cérébral. Elles participent à la migration cellulaire, au relargage de facteurs d'angiogenèse et de croissance neuronale. En effet, sur des modèles murins, l'inhibition des MMPs entre J7 et J10 post HIC aboutit à un pronostic défavorable.

Cette dualité endommagement/réparation (cf. **Figure 11**) des MMPs semble directement liée à la modalité biphasique de leur expression avec un pic de production entre J1 et J3 puis, après une phase de décroissance, un second pic de production vers J7. *Castellazzi et al.* (41) ont mis en évidence que les MMP-9 et MMP-2, ainsi que leurs TIMPs correspondants, suivent un profil d'expression variable au cours du temps. A distance de la phase aiguë, environ J7, l'expression de MMP-9 est directement corrélée au volume de l'œdème péri-lésionnel alors que l'expression de MMP-2 est inversement corrélée au volume de l'œdème péri-lésionnel. Une analyse en sous-groupe de la relation entre sept isoformes de MMP et le sexe a permis de mettre en évidence des phénotypes d'expression variable avec des variations au cours du temps pour MMP-1, MMP-2, MMP-3 et MMP-9 pour les hommes alors que seul MMP-8 semble varier chez la femme (42).

L'ensemble de ces informations, en particulier la dualité endommagement/réparation et les variations temporelles des différentes isoformes, explique le challenge que représentent les MMPs en tant que cible thérapeutique.

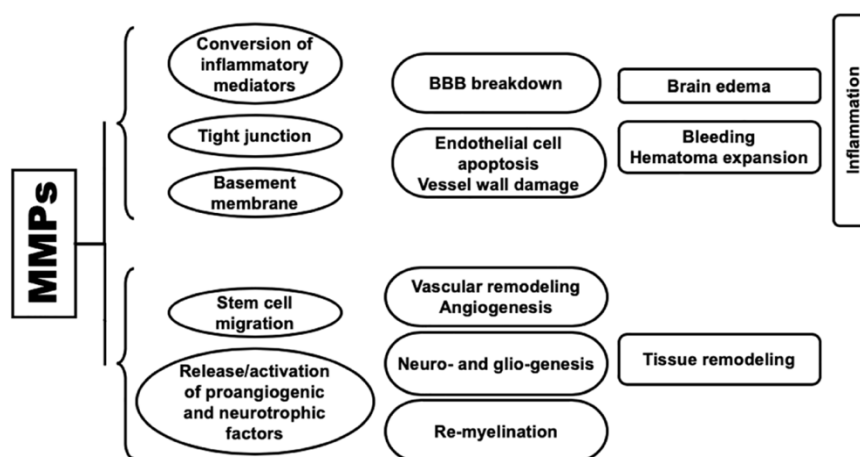


Figure 11 : Résumé des mécanismes d'action des MMPs dans l'HIC. Figure extraite de *Lattanzi et al.* (40).

De manière tout à fait intéressante, une augmentation de l'expression des MMPs a été mise en évidence à distance de l'hémorragie. Ce fait semble être directement en lien avec le concept émergent de « Global Brain Inflammation » (16) : l'HIC crée une réaction inflammatoire qui n'est pas seulement péri-lésionnelle mais qui touche aussi des zones éloignées de l'hématome.

Pour finir, il existe un faisceau d'arguments pour penser que le rôle des MMPs n'est pas symétrique entre la MAH et l'AAC. L'activité des MMPs, en particulier MMP-9 et MMP-2, est majorée par la présence de dépôts bêta-amyloïdes, jouant alors un rôle probable à la fois dans l'induction de l'HIC et dans sa pathogénicité (43).

D. Métabolomique dans l'hémorragie intra cérébrale

La métabolomique, technique permettant d'évaluer l'ensemble des métabolites circulants, a déjà démontré son utilité dans la compréhension de la physiopathologie et la découverte de biomarqueurs diagnostiques pour différentes affections neurologiques (44–46). A l'instar de l'étude INTERACT 4 (réduction précoce de la pression artérielle préhospitalière permettant d'améliorer le pronostic fonctionnel des HIC à 3 mois) (47), ou de l'étude SWITCH (réduction de la mortalité par craniectomie décompressive en phase aiguë) (48), de nombreuses études visent à réduire les effets délétères de l'endommagement primaire. Il semble cependant capital de poursuivre les recherches pour lutter contre l'endommagement secondaire. Nous pensons que l'analyse métabolomique est une technique de choix pour mieux caractériser l'endommagement secondaire en identifiant les conséquences métaboliques aboutissant à la

cascade inflammatoire. Cela permettrait de fournir de nouvelles cibles thérapeutiques pour limiter les conséquences néfastes de l'expansion de l'hématome ou du développement de l'œdème péri-lésionnel.

Par ailleurs, la métabolomique est un outil puissant pour découvrir de nouveaux biomarqueurs diagnostiques qui pourraient être utiles à la prise en charge initiale des AVC. En effet, à ce jour, seule l'imagerie cérébrale permet de poser un diagnostic précis d'AVC. Un biomarqueur sanguin, aussi fiable que la troponine pour l'infarctus du myocarde, permettrait d'améliorer la prise en charge initiale des patients en réduisant le délai avant traitement.

Il existe à ce jour peu d'études sur la métabolomique dans la phase aiguë des HIC, encore moins chez l'humain.

En 2017, *Zhang et al.* (49) ont réalisé une étude en comparant 129 AVC ischémiques, 128 HIC et 65 sujets sains. Des échantillons sanguins ont été prélevés entre 2 et 12 heures après le début des symptômes et une analyse par Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) a été réalisée. Les auteurs ont mis en évidence 11 métabolites pertinents pour le diagnostic des HIC en les comparant à ceux des patients atteints d'AVC ischémiques. Ils ont ainsi pu montrer que les taux de 3-hydroxybutyrylcarnitine, de glutarylcarnitine, de glutarylcarnitine/3-hydroxyisovalerylcarnitine, de glutarylcarnitine/palmitoylcarnitine, de (somme de 5 carnitines : C0 + C2 + C3 + C16 + C18:1)/citrulline et de propionylcarnitine/méthionine étaient élevés dans le groupe HIC par rapport au groupe ischémique. En revanche, les taux de myristoylcarnitine, de 3-hydroxypalmitoylcarnitine, de tyrosine/citrulline, de valine/phénylalanine et de hydroxystearoylcarnitine sont diminués dans le groupe HIC. Leur modèle diagnostique ainsi créé a une précision d'environ 76 %. Ils insistent sur l'augmentation de l'arginine chez les patients avec ischémies et HIC par rapport aux sujets sains ainsi que sur la diminution de la thréonine chez les patients HIC. L'arginine pourrait jouer un rôle via l'arginase et la nitric oxide synthase (NoS) dans l'activité vasculaire. Pour finir, ils rapportent une altération du métabolisme de la carnitine et de certaines acylcarnitines chez les patients atteints d'AVC (ischémique et HIC), en particulier une diminution des acylcarnitines à longue chaîne dans les HIC.

En 2020, *Zhang et al.* (50) ont réalisé une étude en comparant 70 AVC ischémiques, 42 HIC et 65 sujets sains. Des échantillons sanguins ont été prélevés durant les 5 premiers jours d'hospitalisation et une analyse par LC-MS a été réalisée. Les auteurs ont montré que

l'élévation du 20-hydroxy leucotriène B4 (20-OH-LTB4), dérivé de l'acide arachidonique, permet une excellente classification des patients HIC versus AVC ischémiques ou versus sujet sain avec une AUC respectivement de 0,96 et 0,92. Ils concluent qu'un taux élevé de 20-OH-LTB4 dans les HIC pourrait, via l'activation des récepteurs BLT, augmenter la perméabilité vasculaire, favoriser l'infiltration des neutrophiles et renforcer l'adhésion endothéliale des cellules pro-inflammatoires.

En 2022, *Sun, Guozhang et al.* (51) ont réalisé une étude en comparant 30 HIC et 30 sujets sains. Des échantillons sanguins ont été prélevés sans que la durée depuis le début des symptômes ne soit précisée, une analyse par LC-MS a été réalisée. Les auteurs ont mis en évidence les 11 métabolites pertinents suivant : L-carnitine, L-octanoylcarnitine, phytosphingosine (PHS), lysophosphatidyl choline (lysoPC) (14:0/0:0), lysophosphatidyl éthanolamine (lysoPE) (0:0/18:2), (lysoPC) (20:5/0:0), phosphatidylcholine (PC) (14:1/18:1), (lysoPC)(18:3), lactosylcéramide (d18:1/12:0), phosphatidyle éthanolamine (PE) (22:4/P-18:0) et PC (20:3/22:6). Ils ont montré que la L-carnitine et la phosphatidylcholine PC (20:3/22:6) sont de bons candidats au titre de biomarqueurs diagnostiques avec une AUC de leur modèle estimée à 0,97. D'après les auteurs, la diminution de la carnitine et l'augmentation de l'octanoylcarnitine chez les HIC pourraient traduire des anomalies de l'oxydation des acides gras et du métabolisme des lipides. L'augmentation du lactosylcéramide pourrait traduire une participation indirecte à des voies de signalisations telles que l'adhésion endothéliale, la voie Ras ou la voie du NF-κB. Il semblerait que l'octanoylcarnitine et le lactosylcéramide soient positivement corrélés à la rigidité artérielle (52). Le sphingolipide PHS peut être métabolisé en céramide, molécule de signalisation impliquée à de nombreuses voies cellulaires de l'inflammation et de la mort cellulaire. C'est ainsi qu'ils justifient sa diminution dans les HIC. De plus, le PHS a montré une activité anti-inflammatoire via l'activation des récepteurs PPAR. Pour finir, les auteurs décrivent les différents changements des phospholipides PC, lysoPC, PE et lysoPE. Ils rapportent que la phospholipase A2 peut dégrader ces phospholipides en acide arachidonique ou acide docosahexaénoïque. L'impact précis de ces phospholipides dans les HIC reste incertain mais les auteurs soulèvent un possible lien avec le métabolisme des lipides dans l'HTA (53).

En 2021, *Mader et al.* (54) ont réalisé une étude en comparant 25 HIC/hémorragie intraventriculaire ayant nécessité la pose d'une dérivation ventriculo-péritonéale et 19 sujets sains. Des échantillons sanguins et de liquide cérébro-spinal (LCR) ont été prélevés sur 3 périodes (0 à 3 jours, 4 à 7 jours et 9 à 11 jours). Les auteurs ont réalisé une analyse par LC-

MS spécialement paramétrée pour évaluer la L-arginine et ses métabolites. Dans le sérum prélevé à la phase précoce, ils ont observé une diminution de la L-ornithine, la L-lysine et la L-citrulline. A la phase aiguë, les auteurs ne trouvent pas de variations de concentration de la L-arginine dans le liquide cébrospinal ou le sérum des patients atteints d'HIC. A la phase aiguë des HIC, les auteurs supposent, à partir des différents dosages des métabolites de la L-arginine, une augmentation de l'activité de la nitric oxide synthase (NoS).

Dans un domaine proche de l'HIC, *Harshfield et al.* (55) ont étudié le métabolome sérique dans une cohorte de patients souffrant de maladie des petites artères (MPA) cérébrales, en le corrélant aux biomarqueurs d'IRM et aux profils cognitifs. Les patients proviennent de deux cohortes différentes avec réalisation régulière d'IRM pour un suivi total entre 5 et 14 ans. L'analyse métabolomique a été faite par LC-HRMS et par ¹H NMR spectroscopie. Concernant les biomarqueurs d'IRM de MPA (microbleeds, lacunes, anomalies de la substance blanche), ils mettent principalement en évidence une association avec des métabolites lipophiles tels que : les sphingomyélines (SM), les céramides, les phosphatidylcholines (PC), les lysophosphatidylcholines (LPC), le cholestérol, le HDL-4_Apo-A2, l'acide gras non saturé FA (18:2(OH)), ainsi que la créatine, la caféine et la paraxanthine (cf. **Figure 12** pour le sens de l'association).

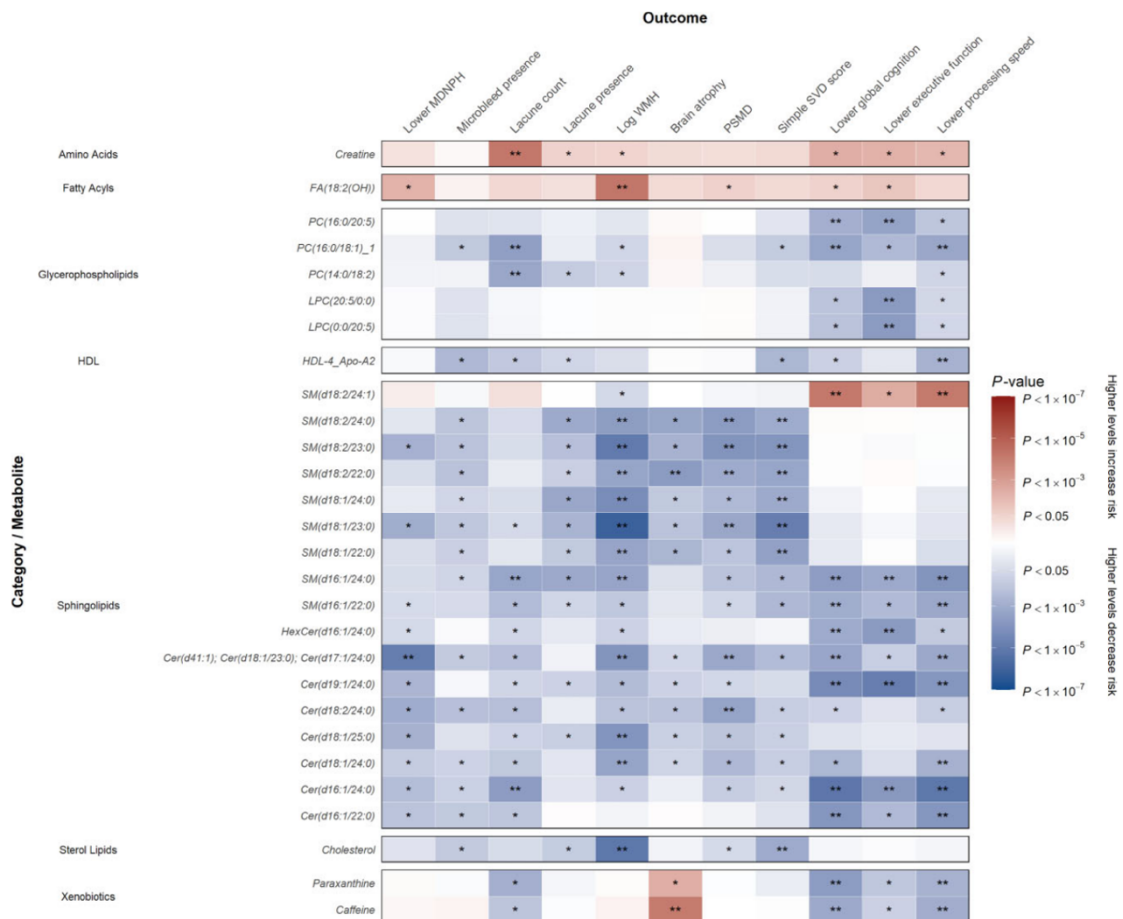


Figure 12 : Association statistique des métabolites avec les biomarqueurs de MPA et les profils cognitifs, d'après *Harshfield et al. (55)*.

D'autres études ont mis en évidence une association entre les sphingolipides tels que la céramide ou les sphingomyélines avec la MPA. *You et al. (56)*, dans une petite cohorte, ont comparé des patients atteints d'une maladie athéromateuse des gros vaisseaux, une MPA, une maladie de Fabry (une MPA d'origine génétique) à des patients contrôles. Par rapport aux sujets témoins, ils mettent en évidence une association entre l'augmentation des céramides et des sphingolipides sériques avec la maladie athéromateuse des gros vaisseaux, la MPA et la maladie de Fabry. *Ighodaro et al. (57)* confirment l'importance des céramides en montrant une association significative entre l'augmentation des céramides sériques et la présence de microbleeds. En revanche, contrairement à *Harshfield et al. (55)*, ils ne mettent pas en évidence d'association entre le dosage des céramides sériques et la présence de lacunes.

De ces études, il semble émerger un signal concernant la pertinence des sphingolipides dans la MPA. Malheureusement, certains résultats semblent contradictoires avec des directions d'associations inverses entre l'étude de *Harshfield et al. (55)* et celles de *Ighodaro et al. (57)*

ou de *You et al.* (56). De plus, les sphingolipides tels que la céramide et les sphingomyélines présentent un manque de spécificité. Ils ont par ailleurs prouvé une association statistiquement significative dans d'autres pathologies neurologiques comme la sclérose en plaques (58), ou non neurologiques comme les maladies cardiaques (59).

En conclusion, nous pouvons remarquer que les résultats d'analyses métabolomiques dans la phase aiguë d'HIC sont épars. Les populations étudiées ainsi que les groupes de comparaison ne reflètent pas toujours la réalité clinique globale et représentent en majorité des populations asiatiques qui sont plus à risque d'HIC (16).

E. Objectifs de l'étude

C'est dans ce contexte que nous avons réalisé l'étude exploratoire MétAVC pour étudier le métabolome sérique des patients en phase aiguë d'HIC.

L'objectif principal de cette étude est de mettre en évidence une différence de signature métabolomique sérique entre patients HIC versus Non-HIC. De cette manière, nous pourrions améliorer la compréhension des mécanismes moléculaires mis en jeu à la phase hyperaigüe des hémorragies intracérébrales chez l'humain. Nous espérons que ces connaissances pourront participer au développement de nouvelles cibles thérapeutiques et permettront la découverte de nouveaux biomarqueurs diagnostiques.

Les objectifs secondaires de cette étude sont :

- L'étude de la corrélation entre le métabolome des patients HIC et la durée entre le début des symptômes et le prélèvement. Ces résultats permettront d'argumenter notre discussion en s'assurant que la durée entre le début des symptômes et le prélèvement n'est pas un biais de confusion.
- L'étude de la corrélation entre le métabolome des patients HIC et le volume de l'hématome. De cette manière, nous espérons pouvoir mettre en lien une signature métabolomique proportionnelle au volume de l'hématome. Renforçant ainsi la causalité des métabolites les plus pertinents dans la physiopathologie de l'HIC.
- L'étude de la corrélation entre le métabolome des patients HIC et le volume de l'œdème péri-lésionnel. De cette manière, nous espérons mettre en évidence des métabolites spécifiquement liés aux voies inflammatoires actives en phase hyperaigüe d'HIC.

II. Matériel & Méthode

A. Modalités de l'étude

MétAVC est une étude observationnelle prospective monocentrique prenant place au CHU de Tours.

Nous avons créé une biobanque en conservant tous les fonds de tube des patients ayant eu un bilan biologique en urgence sur les soins intensifs de neurologie vasculaire au CHU de Tours entre le 1^{er} décembre 2022 et le 1^{er} novembre 2023. Cette biobanque a été déclarée à la CNIL (commission nationale de l'informatique et des libertés) au dossier DC-2015-2549, autorisé par le ministère de la Recherche. Ces patients représentaient pour la quasi-totalité des alertes AVC. Le diagnostic étiologique a été établi sur l'imagerie de phase aiguë, IRM cérébrale ou scanner cérébral avec séquence de perfusion en cas de contre-indication à l'IRM (Pacemaker, agitation trop importante, valve cardiaque non compatible ...). Les informations cliniques (antécédents médicaux dont les facteurs de risques cardiovasculaires tabac/obésité/dyslipidémie/diabète/HTA, traitements personnels dont la présence d'antiagrégant plaquettaire/anticoagulant/statine, heure de début des symptômes, évaluation clinique initiale avec NIHSS, évolution au cours du séjour avec conclusion étiologique du bilan intra-hospitalier, NIHSS et score de Rankin modifié de sortie) et les informations biologiques (ionogramme sanguin, NFS, bilan rénal, bilan hépatique complet, bilan de coagulation TP/TCA/Fibrinogène, marqueurs cardiaques NT-ProBNP et troponine) sont disponibles dans le dossier médical des patients. Ces données ont été extraites à distance de leur sortie d'hospitalisation. La consommation d'alcool n'a pas été prise en compte car cette information clinique n'a pas suffisamment été renseignée. L'obésité a été définie comme un IMC supérieur à 30 kg/m². Les patients étaient considérés comme présentant une HTA s'ils le déclaraient à l'interrogatoire ou s'ils prenaient des traitements à visée antihypertensive. Il en va de même pour le diabète et la dyslipidémie. Les patients étaient considérés comme présentant une insuffisance hépatocellulaire s'ils le déclaraient à l'interrogatoire ou si leur bilirubinémie était supérieure à 30 nmol/L. Les patients étaient considérés comme présentant une insuffisance rénale s'ils le déclaraient à l'interrogatoire ou si leur DFG selon la formule CKD-EPI était inférieur à 60 mL/min/1,73m².

B. Population d'étude

Les critères d'inclusion pour cette étude sont : diagnostic d'HIC sur l'imagerie initiale d'alerte AVC, non opposition du patient à la recherche anonyme sur données cliniques et biologiques, patient majeur.

Les critères d'exclusion pour cette étude sont : décès dans les 7 premiers jours d'hospitalisation, matériel biologique insuffisant ou HIC post-traumatique.

Nous avons décidé d'exclure les décès précoces car ces patients ont souvent un recueil de données cliniques, de biologique et d'imagerie incomplet. De plus, ils présentent un profil métabolomique perturbé en lien avec la cause du décès (60–62). Ces différents paramètres rendent l'interprétation des analyses métabolomiques délicate. Nous pouvons ainsi cibler une population de patients cliniquement mieux phénotypée.

Nous avons créé un groupe contrôle de 27 patients par appariement pour les facteurs de confusions décrits ci-après. Pour réaliser cet appariement, nous avons utilisé la méthode des « voisins les plus proches » (K-means clustering). Cet appariement est réalisé par rapport aux variables suivantes : facteur de risque cardiovasculaire (HTA/diabète/dyslipidémie/âge/sexe), présence de statines dans les traitements, insuffisance rénale et insuffisance hépatocellulaire.

C. Imagerie

Tous les patients présentant une HIC sont inclus dans la cohorte prospective OPTICH (OPTimisation of IntraCerebral Haemorrhage) de l'hôpital universitaire de Tours. Tous les patients inclus dans le protocole OPTICH ont un contrôle d'imagerie par IRM cérébrale multimodale réalisé dans les 72 h après le début des symptômes. Cette IRM cérébrale dédiée comporte les séquences suivantes : Axial DWI, Axial SWI, Axial Turbo SpinEcho T2, Axial 3D TOF, Axial 3D Echo Spin, T1 without fat saturation, Arterial Spin Labeling, Axial 3D Echo gradient T1 WE Gado, Axial T2 FLAIR Echo Spin Gado.

Sur l'IRM d'alerte AVC et sur l'IRM des 72 h, différents critères sont systématiquement mesurés et analysés pour tous les patients inclus dans la cohorte OPTICH. Parmi lesquels on pourra noter : la présence d'hypersignaux DWI à distance de la lésion, les marqueurs SWI de MPA tels que les microbleeds (nombre et localisation) et sidérose la corticale (nombre et localisation), les marqueurs T2 de MPA tels que le nombre et localisation des EPVD, les

marqueurs de MPA sur la séquence FLAIR tels que la gradation de la leucopathie vasculaire selon l'échelle de Fazekas ainsi que sa localisation, la recherche du « mutlispot partern », la recherche d'HSA aiguë, la recherche d'anomalies perfusionnelles sur la séquence ASL en faveur d'une malformation artérioveineuse (MAV), la mesure du volume de l'hématome et de son expansion sur la séquence morphologique T1, sa localisation selon la classification *CHARTS* (63) et la mesure de l'œdème péri-lésionnel sur la séquence FLAIR (64).

Le diagnostic d'angiopathie amyloïde cérébrale est retenu selon les critères de *Boston 2.0*. (14) pour les patients classifiés « probables ». Nous avons utilisé *CADMUS*, la récente classification de MPA, pour classer les autres patients en trois catégories : MAH, Mixte MAH-AAC et indéterminée (65).

D. Analyse métabolomique

Du 1^{er} avril 2024 au 1^{er} juin 2024, il a été réalisé une analyse métabolomique non ciblée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution (LC-HRMS). L'analyse LC-HRMS a été réalisée après extraction avec 100 µl de méthanol à partir de 20 µl de plasma. Un système UPLC Ultimate WPS-3000 (Dionex, Allemagne) a été couplé à un spectromètre de masse Q-Exactive (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Allemagne) fonctionnant en modes d'ionisation par électrospray positif (ESI+) et négatif (ESI-). La chromatographie liquide a été réalisée à l'aide d'une colonne Phenomenex Kinetex 1,7 µm XB-C18 (100 mm×2,1 mm) maintenue à 40 °C. Deux gradients de phase mobile (précédés d'un temps d'équilibre de 3 min ; A : H₂O + 0,1% d'acide formique ; B : méthanol + 0,1% d'acide formique) ont été utilisés. Le gradient a été maintenu à un débit de 0,4 mL/min. Le gradient en plusieurs étapes a été programmé comme suit : 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. Deux colonnes différentes ont été utilisées pour augmenter la couverture métabolique. Ainsi, une chromatographie liquide à interaction hydrophile (CORTECS UPLC HILIC 150 mm × 2,1 mm × 1,6 µm (WATERS)) a également été utilisée. Deux gradients de phase mobile ont également été utilisés (A : H₂O + 10 mM formiate NH₄ + 0,5% acide formique ; B : acétonitrile + 10 mM formiate NH₄ + 0,5% acide formique) et le gradient a été maintenu à un débit de 0,3 mL/min. Le gradient en plusieurs étapes a été programmé comme suit : 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. Pendant l'acquisition à balayage complet (MS complet, AGC cible 1e6, temps d'injection maximal 250 ms), qui allait de 58 à 870 m/z, l'instrument a fonctionné à une

résolution de 70 000 ($m/z = 200$). Comme pour toutes les analyses biologiques, les étapes pré-analytiques et analytiques de l'expérience ont été validées par les résultats du contrôle qualité (CQ). La solution de contrôle qualité a été préparée à partir d'un mélange de 20 échantillons aléatoires de notre cohorte. Ainsi, ce pool était représentatif de notre cohorte et les échantillons ont été extraits exactement avec le même processus que les échantillons des patients. Par conséquent, ils représentaient à la fois la variation technique et la variation d'extraction. Les coefficients de variation [$CV = (\text{écart-type}/\text{moyenne}) \times 100$] ont été calculés à partir de toutes les données sur les métabolites. Les métabolites dont le CV des CQ était supérieur à 30 % ont été exclus de l'ensemble des données finales. Les CQ ont été analysés au début de la série, tous les 10 échantillons et à la fin de la série. Une analyse ciblée a été appliquée aux échantillons, sur la base d'une bibliothèque de composés standard (Mass Spectroscopy Metabolite Library (MSML) of standards, IROA Technologies). Les critères suivants ont été utilisés pour identifier les métabolites : temps de rétention du métabolite détecté dans un délai de ± 20 s par rapport à la référence standard, masse moléculaire exacte mesurée du métabolite dans une fourchette de 10 ppm autour de la masse moléculaire connue du composé de référence et correspondance entre les rapports isotopiques du métabolite et de la référence standard. La valeur du signal a été calculée à l'aide du logiciel Xcalibur (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA) en intégrant la surface du pic chromatographique correspondant au métabolite sélectionné. L'ensemble des données a été validé par le spécialiste de la spectroscopie de masse du laboratoire (66).

E. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel en ligne gratuit MetaboAnalyst et sur Python grâce au package *sklearn*. Les données ont été normalisées, transformées selon une échelle logarithmique et mises à l'échelle automatiquement grâce au logiciel MetaboAnalyst. Une première classification a été effectuée par une analyse multivariée supervisée basée sur la méthode « orthogonal partial least squares discriminant analysis » (OPLS-DA). Les métabolites avec un score VIP $> 1,5$ sur le modèle OPLS-DA ont été sélectionnés comme les plus pertinents. Cette méthode a permis de limiter le bruit de fond des métabolites non-sélectionnés et de maximiser le recueil d'information pertinente.

Pour l'ensemble des métabolites pertinents (VIP $> 1,5$), nous avons réalisé les analyses statistiques suivantes. Une analyse statistique univariée a été réalisée par le test de Student. La méthode « False discovery rate » (FDR) a été utilisée pour corriger le risque Ier (α) des tests statistiques par rapport au grand nombre de tests réalisés. Le calcul de la variation des niveaux

de métabolites entre les groupes, « Fold Change » (FC), a été calculé sur les concentrations non normalisées. Pour rechercher des métabolites covariants, nous avons réalisé une Heatmap de corrélation avec une mesure de la distance de Pearson et un clustering selon la méthode Ward. Nous avons réalisé une Heatmap de clustering hiérarchique avec dendrogramme en utilisant une mesure de la distance Euclidienne et un clustering selon la méthode Ward. Nous avons réalisé une classification non supervisée par la méthode multivariée « principal component analysis » (PCA) afin d'évaluer la distribution globale. Nous avons établi un nouveau modèle de classification multivarié supervisé OPLS-DA. Vingt pour cent des données n'ont pas été utilisées pour l'implémentation du modèle et ont permis alors une validation indépendante. Nous avons utilisé une permutation sur 100 échantillons pour s'assurer de la robustesse du modèle.

Nous avons ensuite cherché des biomarqueurs diagnostiques d'HIC. Initialement, nous avons évalué les performances diagnostiques univariées des métabolites pertinents par leur AUC. Ensuite, nous avons créé un modèle diagnostique multivarié en sélectionnant la meilleure combinaison de métabolites parmi les plus prometteurs. Nous avons utilisé un algorithme de classification Random Forest pour la création de ce modèle multivarié. Nous avons évalué les performances du modèle diagnostique par une courbe ROC avec calcul de l'AUC. Nous avons estimé la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative de notre modèle à l'aide d'une matrice de confusion moyennée sur 100 permutations.

Grâce à un modèle linéaire, nous avons pu ajuster les analyses statistiques pour certains facteurs de confusion connus en métabolomique (âge, sexe, HTA, diabète, prise de statines, DFG, obésité).

Chez les patients atteints d'HIC, nous avons identifié les métabolites dont la concentration était corrélée à la durée écoulée entre le début des symptômes et le prélèvement. Pour ce faire, nous avons utilisé un modèle multivarié type OPLS-Regression (équivalent de l'OPLS-DA adapté aux variables continues) afin de mettre en évidence les métabolites pertinents avec un VIP > 1,5. Ensuite, nous avons réalisé des tests de corrélations univariés type Spearman avec correction par la méthode FDR. Nous avons ensuite ajusté les tests de corrélations de Spearman pour les facteurs de confusions suscités. Nous avons ainsi pu contrôler un potentiel de biais de confusion. Lors de la discussion, nous avons pu ajuster nos principales conclusions si certains métabolites montraient une forte corrélation avec la durée écoulée depuis le début des symptômes.

Pour finir, nous avons cherché les métabolites corrélés au volume de l'hématome et au volume de l'œdème péri-lésionnel. Nous avons utilisé la même méthode que pour la corrélation avec la durée depuis le début des symptômes. Dans notre modèle d'ajustement pour les facteurs de confusion, nous avons rajouté le volume de l'hématome et le volume de l'œdème péri-lésionnel car ils sont connus pour être corrélés (67).

III. Résultats

A. Clinique

La biobanque ainsi constituée entre novembre 2022 et décembre 2023 recense 1 005 échantillons dont 87 patients ayant présenté une HIC, 448 un AVC ischémique, 92 un accident ischémique transitoire et 378 contrôles n'ayant pas présenté un événement neurovasculaire (cf. **Figure 13**).

Parmi les patients présentant une HIC, nous avons exclu 25 patients décédés au cours des sept premiers jours de la prise en charge, trois patients dont la quantité de matériel biologique après analyse de routine était insuffisante pour les analyses métabolomiques et un patient avec HIC post traumatique. Nous avons ainsi abouti à un groupe de 58 patients avec HIC.

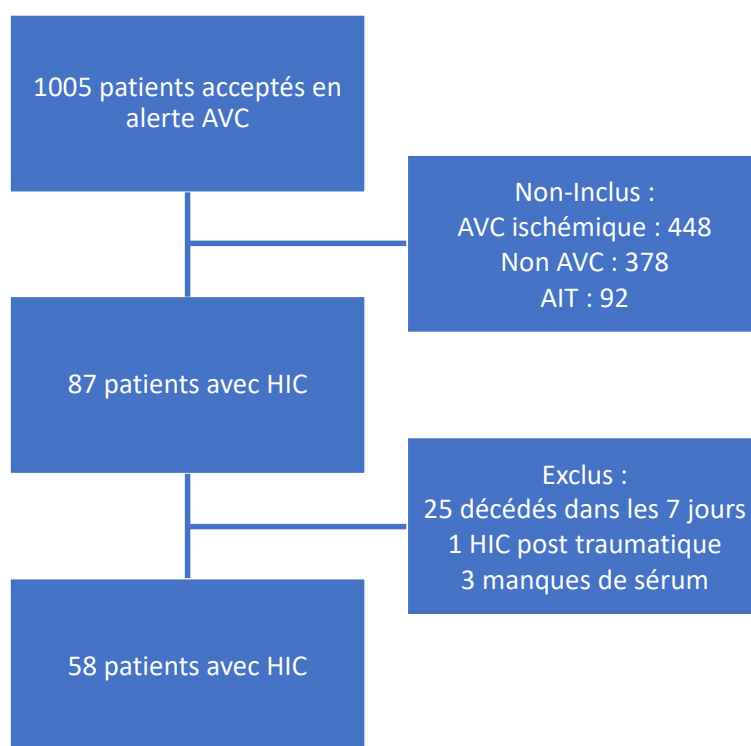


Figure 13 : Organigramme de flux des patients de l'étude MétAVC.

Grâce à notre méthode d'appariement, les caractéristiques cliniques des patients sont globalement équilibrées entre le groupe d'HIC et le groupe contrôle (cf. **Tableau 1**). L'âge moyen est de 68,4 (sd 16,3) ans pour le groupe d'HIC et de 71,5 (sd 14,5) ans pour le groupe Non-HIC. La proportion d'hommes est similaire, avec 62,1 % pour les HIC par rapport à 63 % pour les Non-HIC. Le facteur de risque cardiovasculaire le plus retrouvé est l'HTA, comme

attendu chez des patients présentant une HIC, avec 60,3 % de patients hypertendus contre 51,9 % chez les patients Non-HIC. En seconde position, on retrouve la dyslipidémie avec une proportion de 24,1 % dans le groupe d'HIC contre 25,9 % dans le groupe contrôle. Puis en troisième position, le diabète avec une proportion de 13,8 % dans le groupe HIC et de 14,8 % dans le groupe contrôle. On pourra noter que 21,8 % des patients avec HIC présentent une obésité ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) contre seulement 8,3 % dans le groupe Non-HIC.

Concernant les traitements, 24,1 % des patients présentant une HIC prennent un traitement par statines ou ézetimibe contre 25,9 % dans le groupe Non-HIC. En revanche, il existe un déséquilibre dans les proportions de patients sous anti-agrégant plaquettaire (AAP) ou anticoagulant (Ag) avec respectivement 8,6 % et 6,9 % dans le groupe HIC versus 25,9 % et 11,1 % dans le groupe Non-HIC.

En rapport avec le diagnostic d'HIC, les patients ont une présentation clinique initiale plus sévère dans le groupe hémorragique avec un score NIHSS moyen à 9,7 (sd 6,7) par rapport à 3,2 (sd 4,8) pour le groupe Non-HIC.

La quasi-totalité des patients a pu avoir au minimum une IRM cérébrale au cours de leur séjour avec 100 % dans le groupe HIC et 92,6 % dans le groupe Non-HIC. Dans le groupe contrôle, 2 patients n'ont pas réalisé d'IRM, le premier car après un interrogatoire précis, nous n'avons pas retenu un déficit neurologique focal et le deuxième car il était porteur d'un pacemaker. La durée précise entre le début des symptômes et le prélèvement sanguin a pu être calculée pour 73/85 (85 %) des patients, et en particulier pour 49/58 (84 %) des HIC. Elle est en moyenne de 385 minutes mais comme le démontre son écart type de 685 minutes il existe des variations très importantes, avec notamment 4 patients pris en charge au moins 2 000 minutes après le début des symptômes.

Type	Sous-Type	HIC n = 58	Non-HIC n = 27
Age moyen $\pm$ sd (année)		68,4 $\pm$ 16,3	71,5 $\pm$ 14,5
Sexe masculin - nb./nb. total (%)		36/58 (62,1)	17/27 (63)
Moyenne BMI $\pm$ sd (kg/m ²)		25,7 $\pm$ 5,3	23,8 $\pm$ 4
Facteurs de risque cardiovasculaire :			
	HTA - nb./nb. total (%)	35/58 (60,3)	14/27 (51,9)
	Dyslipidémie - nb./nb. total (%)	14/58 (24,1)	7/27 (25,9)
	Diabète - nb./nb. total (%)	8/58 (13,8)	4/27 (14,8)
	Tabagisme actif - nb./nb. total (%)	1/58 (2,6)	0/27 (0)
	Obésité - nb./nb. total (%)	12/58 (21,8)	2/27 (8,3)
Traitement habituel :			
	Antiaggrégant plaquettaire - nb./nb. total (%)	5/58 (8,6)	7/27 (25,9)
	Anticoagulant - nb./nb. total (%)	4/58 (6,9)	3/27 (11,1)
	Statine/Ezetimibe - nb./nb. total (%)	14/58 (24,1)	7/27 (25,9)
Durée depuis le début des symptômes $\pm$ sd (min)		385 $\pm$ 685	-
Examen clinique initial :			
	NIHSS moyen $\pm$ sd	9,7 $\pm$ 6,7	3,2 $\pm$ 4,8
	Au moins une IRM cérébrale réalisée - nb./nb. total (%)	58/58 (100)	25/27 (92,6)

Tableau 1: Caractéristiques cliniques des patients de l'étude MétAVC.

Parmi les HIC, nous avons diagnostiqué 84,5 % d'HIC spontanées, 13,7 % d'HIC secondaires et le bilan n'a pas été contributif pour 1,7 % des HIC (cf. **Tableau 2**). Dans notre étude, la MAH est la première cause d'HIC spontanée avec 42,9 % par rapport à l'AAC qui représente 28,6 %. Cette répartition est à pondérer étant donné qu'il y a 18,4 % des HIC qui présentent une MPA mixte et 10,2 % pour lesquelles l'étiologie précise est inconnue. Dans notre étude, parmi les causes d'HIC secondaire, la principale est la MAV avec 5 patients sur 8. On pourra noter aussi 2 patients avec une tumeur cérébrale et 1 patient avec une rupture d'anévrisme.

Concernant les patients Non-HIC, les deux principales étiologies ayant entraîné l'alerte AVC sont les crises d'épilepsie (5 patients) et les vertiges ORL (4 patients). On pourra aussi noter une tumeur cérébrale non hémorragique, un hématome sous dural (HSD) et un trouble neurologique fonctionnel (TNF).

Type	Sous-Type	HIC n = 58	Non-HIC n = 27
Hémorragie intra cérébrale (HIC)		58	-
	Spontanée - nb./nb. total (%)	49/58 (84,5)	-
	Secondaire - nb./nb. total (%)	8/58 (13,7)	-
	Incertain - nb./nb. total (%)	1/58 (1,7)	-
Etiologie d'HIC spontanée		49	-
	MAH - nb./nb. total (%)	21/49 (42,9)	-
	AAC - nb./nb. total (%)	14/49 (28,6)	-
	Mixte MAH - AAC - nb./nb. total (%)	9/49 (18,4)	-
	Inconnue - nb./nb. total (%)	5/49 (10,2)	-
Etiologie d'HIC secondaire		8	-
	MAV - nb./nb. total (%)	5/8 (62,5)	-
	Tumeurs - nb./nb. total (%)	2/8 (25)	-
	Rupture d'anévrisme - nb./nb. total (%)	1/8 (12,5)	-
Etiologie contrôle		-	27
	Autres diagnostiques - nb./nb. total (%)	-	15/27 (55,6)
	Crise épileptique - nb./nb. total (%)	-	5/27 (18,5)
	Vertige ORL - nb./nb. total (%)	-	4/27 (14,8)
	Tumeur ; HSD ; TNF - nb./nb. total (%)	-	3/27 (11,1)

Tableau 2 : Conclusions étiologiques des patients de l'étude MétAVC.

B. Imagerie

Concernant les données d'imageries (cf. **Tableau 3**), le volume moyen des HIC est de 21,4 mL (sd 21,1) et celui de l'œdème péri-lésionnel de 30,7 mL (sd 22,3). Les HIC sont réparties de manière équitable entre HIC lobaires et HIC profondes avec respectivement 43,1 % et 48,3 %. Les hémorragies du cervelet et du tronc cérébral représentent 5,2 % chacune. Il est fréquent d'avoir un envahissement des structures adjacentes par l'hémorragie comme le témoigne la proportion des inondations intraventriculaires associées de 41,4 % et des HSA aiguës présentes chez 27,6 % des patients. Enfin, on notera la haute prévalence de séquelles d'HIC, estimée à 19,0 %.

Nos patients et nos contrôles présentent une leucopathie vasculaire importante. La leucopathie a été évaluée sur la séquence B0 pour un patient à cause d'un artefact de mouvement sur la séquence FLAIR. Seuls 15 à 20 % des HIC ont une leucopathie vasculaire cotée 0 sur le score de Fazekas, environ 80 % ont un score de Fazekas à 1 ou plus et 17,2 % ont un score Fazekas 3. Ces résultats sont à peu près similaires dans le groupe contrôle avec une proportion plus importante de Fazekas 1 autour de 45 % et moins importante de Fazekas 2 à 20 %. On pourra noter une distribution plutôt homogène entre l'atteinte profonde et superficielle de la

leucopathie vasculaire. On notera une proportion plus importante de « multi-spot pattern » FLAIR parmi les HIC évaluée à 33,3 % versus 12,0 %.

Les patients présentant une HIC ont plus fréquemment des lacunes (56,1 % contre 32 %) mais sont moins souvent porteurs de séquelles ischémiques (3,5 % contre 12 %). On remarquera la très grande proportion de lésions positives DWI chez les patients avec HIC estimée à 46,6 %. Le seul patient du groupe Non-HIC à présenter une lésion DWI positive a été pris en charge pour une OACR (occlusion de l'artère centrale de la rétine) de cause athéromateuse carotidienne ; cette lésion DWI est punctiforme.

Chez les HIC, les espaces périvasculaires dilatés (EPVD) ont été quantifiés sur des séquences Axiale T2 TSE quand disponibles (48/58 (82,7 %) des HIC) ou à défaut sur des séquences T1 MPRAGE (3/58 (5,2 %) des HIC). Pour les patients non inclus dans le protocole OPT-ICH (6/58 (10,3 %) des HIC et les Non-HIC), les séquences réalisées sur l'IRM d'alerte AVC ne permettent pas d'évaluer les EPVD de manière suffisamment fiable. Environ 40 % des patients HIC ont moins de 10 EPVD, environ 35 % ont entre 10 et 20 EPVD et environ 25 % ont 20 EPVD ou plus. La répartition est relativement homogène entre EPVD profonds et superficiels.

Type	Sous-Type	HIC n = 58	Non-HIC n = 27
Hématome intra cérébral			
	Volume moyen de l'hématome $\pm$ sd (mL)	21,4 $\pm$ 21,1	-
	Volume moyen de l'oedème peri-hématome $\pm$ sd (mL)	30,7 $\pm$ 22,3	-
Localisation de l'HIC			
	Lobaire - nb./nb. total (%)	25/58 (43,1)	-
	Profonde - nb./nb. total (%)	28/58 (48,3)	-
	Tronc cérébral - nb./nb. total (%)	3/58 (5,2)	-
	Cervelet - nb./nb. total (%)	3/58 (5,2)	-
	Innodation intra ventriculaire associée - nb./nb. total (%)	24/58 (41,4)	-
	HSA aigüe associée - nb./nb. total (%)	16/58 (27,6)	-
Séquelle d'une ancienne HIC (%)		11/58 (19)	0
Leucopathie	Données d'IRM disponibles : séquence FLAIR	57	25
	Volume moyen $\pm$ sd (mL)	22,3 $\pm$ 25	13,2 $\pm$ 16,1
	Fazekas 0 : périventriculaire ; profond - nb (%) ; nb (%)	9 (15,5) ; 12 (20,7)	4 (16) ; 9 (36)
	Fazekas 1 : périventriculaire ; profond - nb (%) ; nb (%)	23 (39,7) ; 16 (27,6)	14 (56) ; 9 (36)
	Fazekas 2 : périventriculaire ; profond - nb (%) ; nb (%)	16 (27,6) ; 20 (34,5)	5 (20) ; 5 (20)
	Fazekas 3 : périventriculaire ; profond - nb (%) ; nb (%)	10 (17,2) ; 10 (17,2)	2 (8) ; 2 (8)
	FLAIR "multi-spot patern" - nb./nb. total (%)	19/57 (33,3)	3/25 (12)
Lésions ischémiques	Données d'IRM disponibles : séquence FLAIR ; DWI	57 ; 58	25 ; 25
	Présence de lacunes - nb./nb. total (%)	32/57 (56,1)	8/25 (32)
	Présence de séquelles ischémiques - nb./nb. total (%)	2/57 (3,5)	3/25 (12)
	Présence de lésion DWI - nb./nb. total (%)	27/58 (46,6)	1/25 (4)
Lésions hémorragiques	Données d'IRM disponibles : séquence SWI	58	24
	Présence de microbleeds profonds - nb./nb. total (%)	22/58 (37,9)	3/24 (12,5)
	Moyenne du nombre de microbleeds profonds $\pm$ sd	2,1 $\pm$ 4,3	0,1 $\pm$ 0,3
	Présence de microbleeds superficiels - nb./nb. total (%)	28/58 (48,3)	28/58 (48,3)
	Moyenne du nombre de microbleeds superficiels $\pm$ sd	3,4 $\pm$ 6,4	0,5 $\pm$ 1,7
	Présence de sidérose superficielle - nb./nb. total (%)	6/58 (10,3)	1/24 (4,2)
	Moyenne du nombre de sidérose superficielle $\pm$ sd	0,2 $\pm$ 0,6	0 $\pm$ 0,2
Espaces périvasculaires dilatés	Données d'IRM disponibles : séquence T2 ou T1 MPRAGE	52	4
	Moins de 10 : NGC - centre semiovaux - nb (%) ; nb (%)	22 (42,3) ; 20 (38,5)	-
	Entre 10 et 20 : NGC - centre semiovaux - nb (%) ; nb (%)	19 (36,5) ; 17 (32,7)	-
	Entre 20 et 40 : NGC - centre semiovaux - nb (%) ; nb (%)	8 (15,4) ; 11 (21,2)	-
	Plus de 40 : NGC - centre semiovaux - nb (%) ; nb (%)	3 (5,8) ; 4 (7,7)	-

Tableau 3 : Biomarqueurs d'imagerie des patients de l'étude MétAVC.

Localisation lobaire : Frontal, Pariétal, Occipital, Insulaire, Temporal.

Localisation profonde : NGC : noyaux gris centraux (noyau lenticulostré et noyau caudé) et Thalamus.

C. Métabolomique

Nous avons pu mettre en évidence 198 métabolites (liste complète en Annexe C).

1. Analyse principale : HIC vs Non-HIC

Le modèle de classification supervisé multivarié OPLS-DA réalisé sur l'ensemble des métabolites a permis de mettre en évidence une liste de 25 métabolites pertinents avec un $VIP > 1,5$ (cf. **Tableau 4**). Comme détaillé dans la méthode, la suite des analyses de cette section a été réalisée sur le sous-groupe des 25 métabolites pertinents.

a) Analyse univariée des métabolites pertinents

Parmi les 25 métabolites pertinents, seules la L-histidine et la L-asparagine ne présentaient pas de différence statistiquement significative avec une p valeur de 0,095 et 0,103. Le Fold Change (FC), ou Rapport de Niveau, mesure l'amplitude d'écart de concentration avant normalisation. Nous avons mis en évidence des variations pertinentes du FC concernant la guanine et la guanosine avec un taux de 1,6 ainsi que certaines sphingomyélines comme SM(36_1) et SM(38_1) avec un taux de 0,65 (cf. **Figure 14**). La correction par la méthode FDR n'a pas entraîné de différence statistiquement significative.

Ces métabolites pertinents pourraient être regroupés en trois familles : la famille des phospholipides (sphingomyéline, LPS(22_4), PC(40_9)), la famille des purines (guanine, guanosine, inosine) et la famille des acides aminés (linoleyl carnitine, L-alanine, N6-N6-N6-triméthyl-L lysine, L-proline). En remarquera en priorité la grande proportion de sphingomyéline SM (avec la référence standard X('Nombre d'atome de carbone' _ 'Nombre de double liaison')).

Metabolites	p value	FDR	Fold Change	VIP
SM(36_1)	<0,0001	<0,0001	0,63	2,64
SM(34_1)	<0,0001	<0,0001	0,75	2,4
SM(38_1)	<0,0001	<0,0001	0,64	2,59
SM(34_0)	<0,0001	0,0001	0,75	2,78
LPS(22_4)	<0,0001	0,0001	1,29	2,55
SM(40_2)	<0,0001	0,0001	0,7	2,22
SM(36_2)	<0,0001	0,0001	0,71	2,12
SM(38_2)	0,0001	0,0002	0,68	2,24
SM(33_1)	0,0001	0,0002	0,73	2
SM(32_1)	0,0001	0,0002	0,76	2,23
SM(35_1)	0,0001	0,0003	0,64	1,74
SM(42_3)	0,0002	0,0004	0,7	1,63
GUANINE	0,0004	0,0007	1,62	1,55
SM(39_1)	0,0006	0,0010	0,63	2,07
GUANOSINE	0,0011	0,0018	1,61	1,62
Linoleyl carnitine	0,0019	0,0030	1,34	1,84
PC(40_9)	0,0027	0,0040	1,18	1,91
CADAVERINE	0,0038	0,0053	1,1	2,04
5-HYDROXYINDOLEACETATE	0,0095	0,0125	0,69	1,69
N6_N6_N6-Trimethyl-L-lysine	0,0114	0,0132	1,09	2,09
INOSINE	0,0106	0,0135	1,44	1,63
L-ALANINE	0,0131	0,0149	0,85	2,11
L-PROLINE	0,0306	0,0333	0,89	1,78
L-HISTIDINE	0,0955	0,0995	0,92	1,55
L-ASPARAGINE	0,1036	0,1036	0,9	1,75

Tableau 4 : Analyses univariées des métabolites pertinents mis en évidence par le modèle OPLS-DA permettant de différencier les patients HIC et Non-HIC.

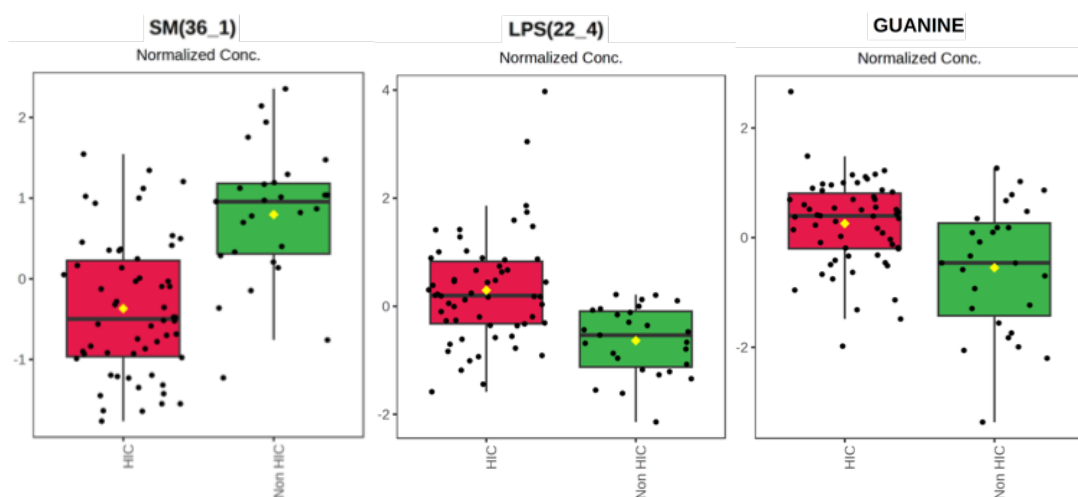


Figure 14 : Différences de concentrations normalisées entre HIC et Non-HIC pour trois métabolites d'intérêt : la SM(36_1), le LPS(22_4) et la guanine.

les sphingomyélines sont augmentées. Au centre de la **Figure 16**, avec une majorité de patients HIC, se trouve un sous-groupe où les sphingomyélines sont diminuées. À droite de la **Figure 16**, avec une majorité de patients HIC, un sous-groupe où les concentrations de sphingomyélines sont hétérogènes (parfois augmentées ou parfois diminuées). Concernant les acides aminés (L-histidine, L-asparagine, L-proline, L-alanine), on pourra remarquer que les patients Non-HIC présentent principalement des concentrations augmentées alors qu'il existe des variations importantes parmi les patients présentant une HIC, en particulier au niveau du sous-groupe à droite de la **Figure 16** où les concentrations sont diminuées. Pour finir, concernant la lipophosphatidylsérine LPS(22_4), le N6_N6_N6-Triméthyl-L lysine, la cadavérine et la phosphatidylcholine PC(40_9), on remarquera que ces métabolites sont principalement diminués chez les patients Non-HIC, qu'ils sont augmentés dans le sous-groupe de patients HIC à droite de la **Figure 16** alors que le reste des patients HIC présentent des variations de concentrations importantes.

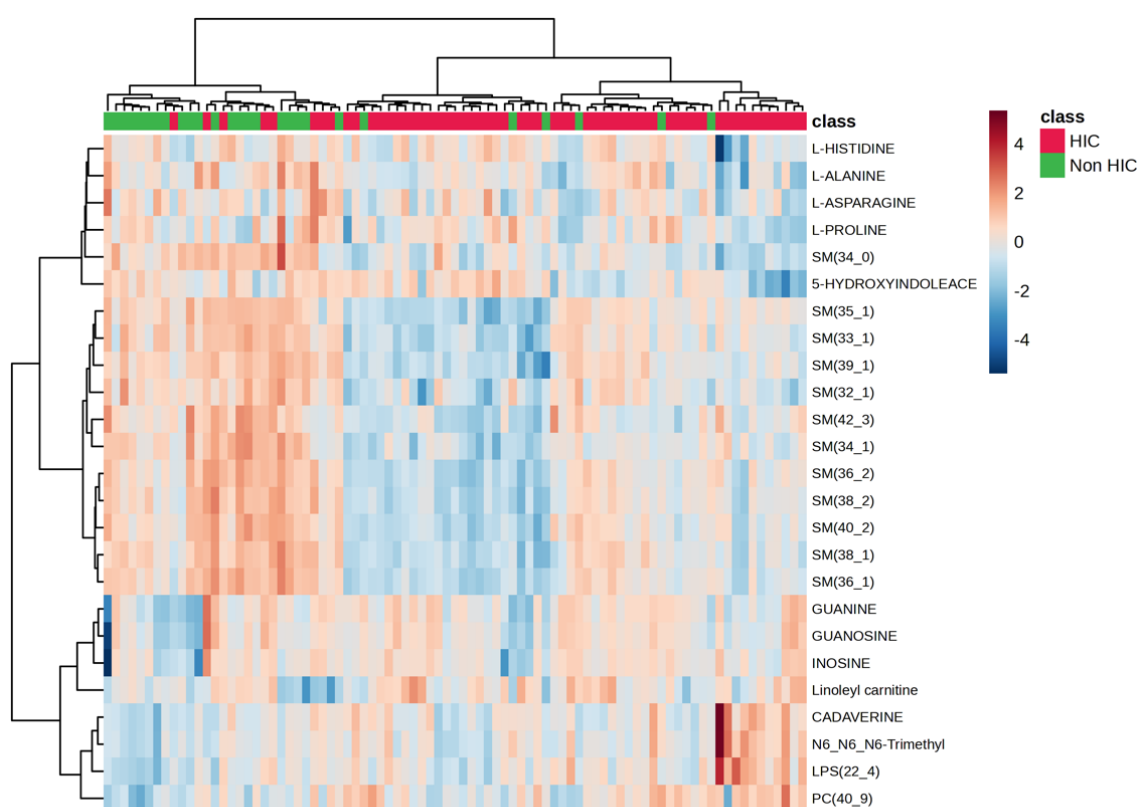


Figure 16 : Heatmap de clustering hiérarchique avec dendrogramme HIC versus Non-HIC.

b) Analyse multivariée avec facteur de confusion

Pour prendre en compte d'éventuels biais de confusion, nous avons utilisé un modèle multivarié avec ajustement pour les facteurs de confusions connus en métabolomique (68). Le modèle

linéaire ainsi créé prend en compte les facteurs de confusion suivants : âge, sexe, HTA, diabète, prise de statines, DFG, obésité. L'insuffisance hépatocellulaire n'a pas été prise en compte car un seul patient de la cohorte présente une bilirubinémie modérément élevée à 60 $\mu\text{mol/L}$ avec un TP normal.

Le modèle linéaire multivarié a permis de confirmer la significativité des métabolites du modèle univarié, même après correction par la méthode FDR (cf. **Tableau 5**).

Metabolites	p value	FDR
SM(36_1)	>0,0001	>0,0001
SM(34_1)	>0,0001	>0,0001
SM(38_1)	>0,0001	>0,0001
SM(40_2)	>0,0001	>0,0001
SM(36_2)	>0,0001	0,0001
SM(42_3)	>0,0001	0,0001
SM(38_2)	>0,0001	0,0001
LPS(22_4)	0,0001	0,0002
SM(33_1)	0,0001	0,0002
SM(34_0)	0,0001	0,0002
SM(35_1)	0,0001	0,0003
SM(32_1)	0,0002	0,0004
GUANINE	0,0002	0,0004
SM(39_1)	0,0003	0,0006
GUANOSINE	0,0005	0,0009
INOSINE	0,0020	0,0032
PC(40_9)	0,0022	0,0032
Linoleyl carnitine	0,0039	0,0054
CADAVERINE	0,0108	0,0142
5-HYDROXYINDOLEACETATE	0,0142	0,0177
L-ALANINE	0,0154	0,0183
N6_N6_N6-Trimethyl-L-lysine	0,0292	0,0319
L-PROLINE	0,0293	0,0319
L-HISTIDINE	0,1649	0,1718
L-ASPARAGINE	0,2958	0,2958

Tableau 5 : *p* valeur et FDR du modèle linéaire avec ajustement sur les facteurs de confusion pour les 25 métabolites pertinents pour HIC versus Non-HIC.

De plus, nous avons réalisé des Heatmaps de clustering en fonction des 4 principaux facteur de confusion de notre cohorte : âge, sexe, DFG et obésité. Nous pouvons confirmer visuellement et par le dendrogramme que les métabolites d'intérêts ne semblent pas être séparés en fonction

des variables de confusions mais plutôt en fonction du groupe HIC vs Non-HIC (cf. Annexe VII.F).

c) Modèle de classification

L'analyse par composante principale (Principal Component Analysis – PCA), une méthode de classification non supervisée, ne permet pas de différencier convenablement les groupes HIC vs Non-HIC. En effet, nous constatons une superposition des clusters HIC et Non-HIC en rouge et vert sur la **Figure 17**. De plus, PC1 et PC2 ne rendent compte respectivement que de 37,5 % et 18,3 % de la variation des données. Ce manque de performance se confirme par le Scree Plot de la PCA (cf. **Figure 18**) qui prouve le peu d'informations supplémentaires apportés par PC3, PC4 et PC5, avec respectivement 10 %, 7,3 % et 5,4 %.

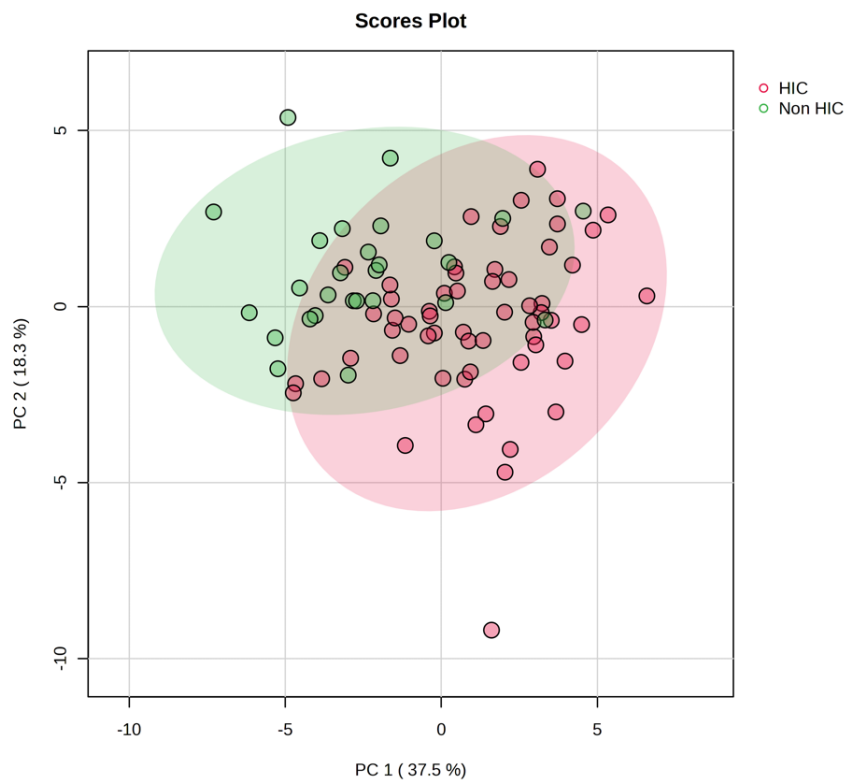


Figure 17 : PCA Score plot HIC versus Non-HIC.

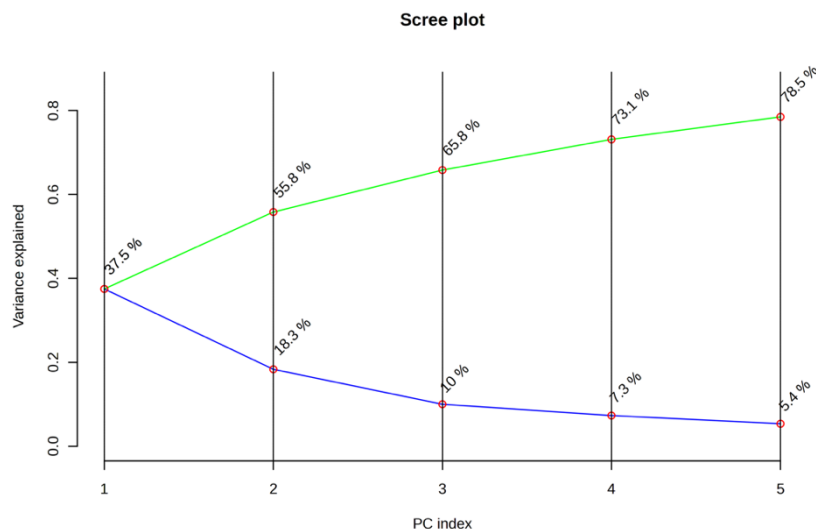


Figure 18 : PCA Scree plot HIC versus Non-HIC.

En utilisant uniquement les métabolites d'intérêt dans un modèle de classification supervisé OPLS-DA, nous avons pu améliorer les performances du modèle (cf. **Figure 19** et **Figure 20**). Le Q^2 du modèle est correct à 0,414 et statistiquement robuste sur 100 permutations avec un Q^2 à 0,474 en moyenne et un $p < 0,01$. Le R^2X de la principale variable $p1$ est modeste à 0,281 en rapport avec le R^2X du premier composant orthogonal $o1$ à 0,248. Ceci signifie que le modèle ne reflète pas très bien la variance inter métabolites et que la composante orthogonale comporte autant d'informations que la composante principale. Le R^2Y du modèle est correct à 0,430 et statistiquement robuste sur 100 permutations avec un R^2Y à 0,517 en moyenne et un $p < 0,01$. On peut alors conclure que le modèle rend correctement compte de la variance entre HIC et Non-HIC.

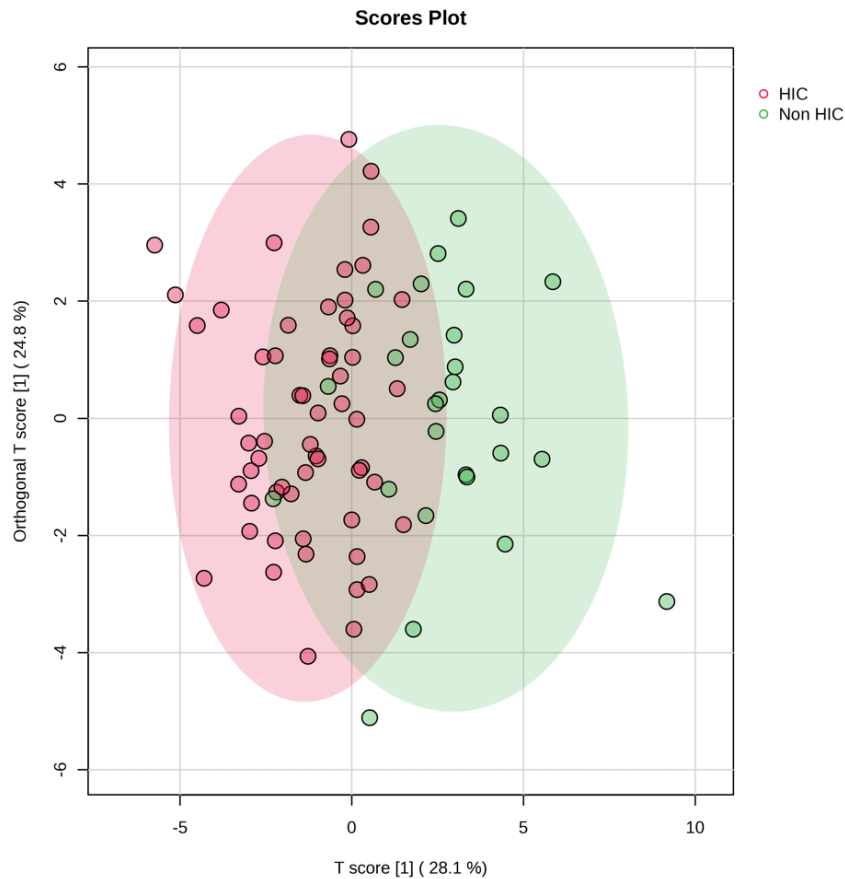


Figure 19 : OPLS-DA Score plot HIC versus Non-HIC.

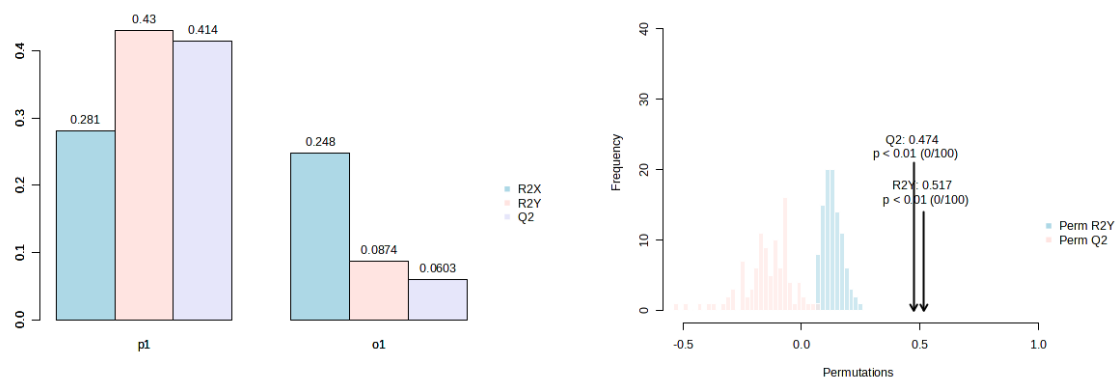


Figure 20 : Performance du modèle OPLS-DA HIC versus Non-HIC et reproductibilité sur 100 permutations.

Grâce à la méthode VIP, on peut s'intéresser plus spécifiquement aux métabolites utiles au modèle OPLS-DA pour classer les patients (cf. **Figure 21**). On remarque toujours l'importance capitale des sphingomyélines qui sont en général diminuées dans les HIC. À quoi s'oppose la lipophosphatidylsérine LPS(22_4), la guanosine, la cadavérine, l'inosine, le N6_N6_N6-

Triméthyl-L-lysine, la guanine, la L-alanine et la phosphatidylcholine PC(40_9) qui sont augmentés chez les patients HIC.

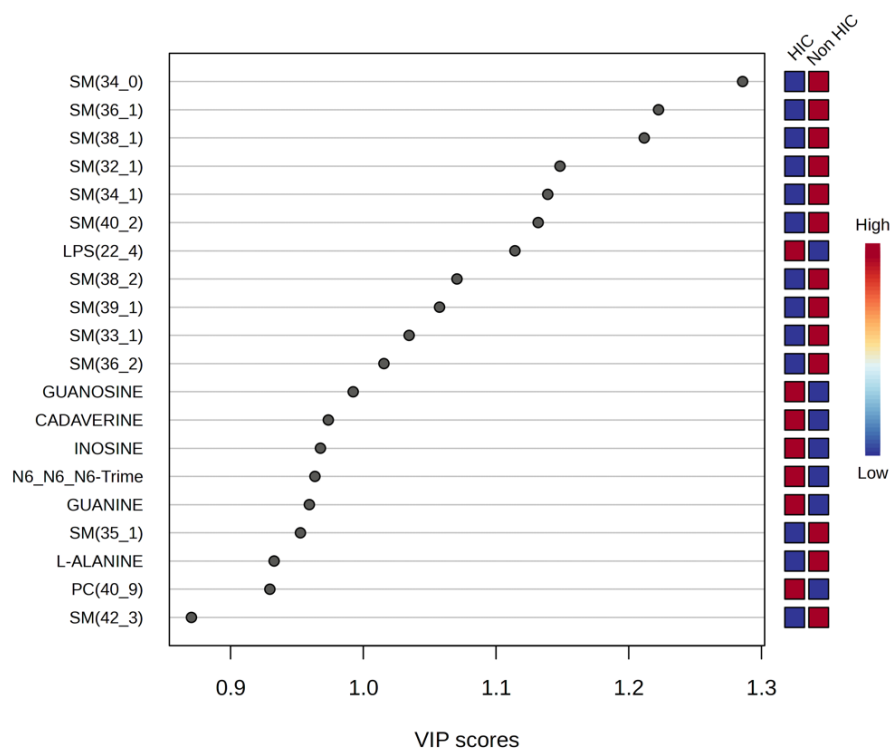


Figure 21 : VIP score du modèle OPLS-DA HIC vs Non-HIC pour les métabolites pertinents.

d) *Modèle et performance diagnostique*

Comme le démontre la **Figure 22** et le **Tableau 6**, les performances des modèles diagnostiques univariés sont modestes avec une AUC maximale pour la SM(36_1) à 0,826 avec un intervalle de confiance à 95 % de [0,724 ;0,910]. On remarquera les AUC des autres métabolites pertinents susmentionnés : 0,793 pour la LPS(22_4), 0,707 pour la cadavérine et 0,702 pour la PC(40_9).

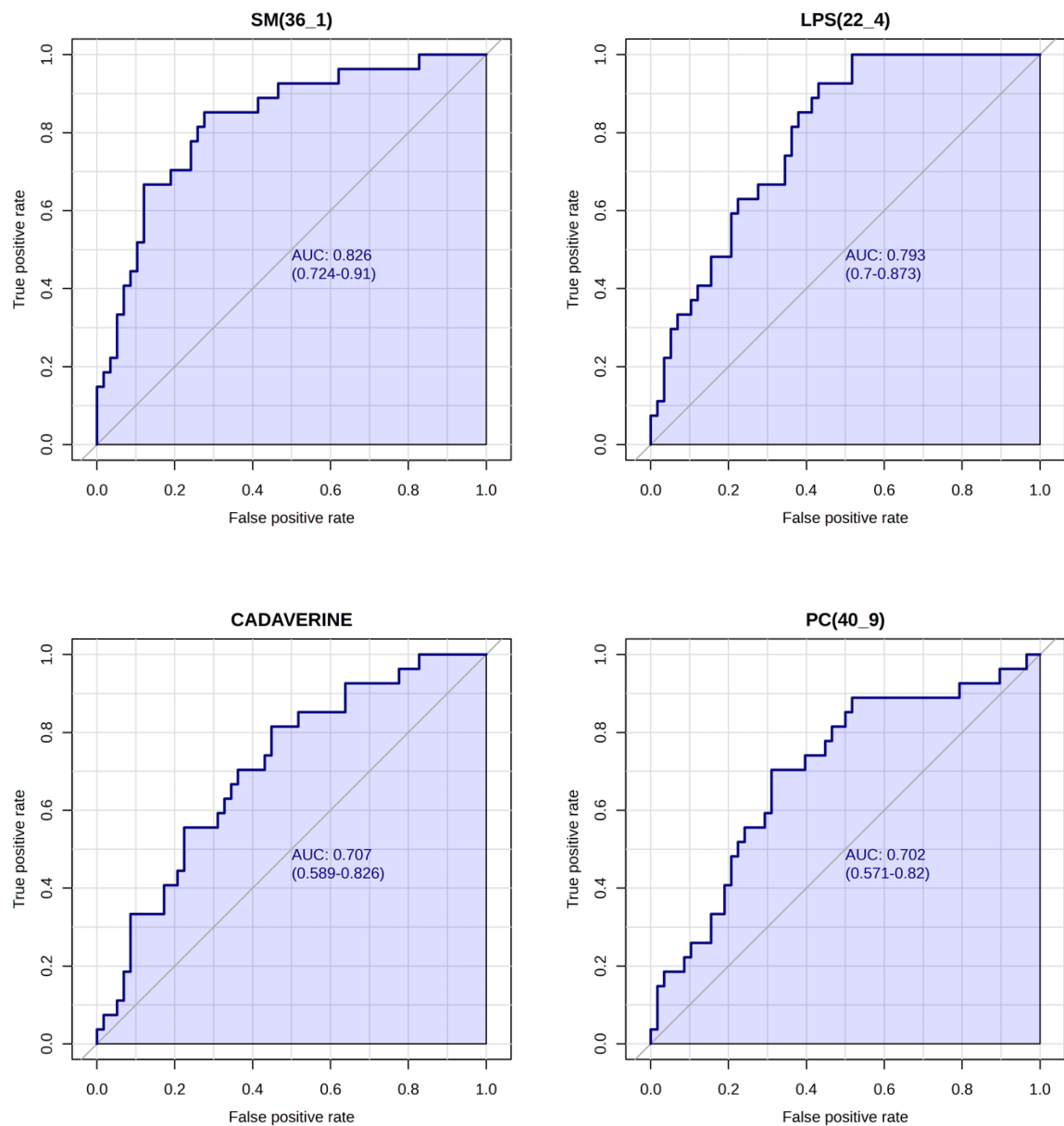


Figure 22 : modèle diagnostique univarié HIC versus Non-HIC. AUC et intervalle de confiance à 95 % pour 4 métabolites d'intérêt : SM(36_1), LPS(22_4), cadavérine et PC(40_9).

Metabolites	AUC	p value
SM(36_1)	0,828	<0,001
SM(34_1)	0,814	<0,001
SM(38_1)	0,807	<0,001
LPS(22_4)	0,792	<0,001
SM(38_2)	0,775	<0,001
SM(34_0)	0,775	<0,001
SM(39_1)	0,770	0,001
SM(36_2)	0,768	<0,001
SM(40_2)	0,767	<0,001
SM(33_1)	0,766	<0,001
SM(35_1)	0,761	<0,001
SM(32_1)	0,755	<0,001
SM(42_3)	0,744	<0,001
CADAVERINE	0,709	0,004
GUANINE	0,703	<0,001
PC(40_9)	0,702	0,003
Linoleyl carnitine	0,695	0,002
GUANOSINE	0,695	0,001
N6_N6_N6-Trimethyl-L-lysine	0,672	0,011
5-HYDROXYINDOLEACETATE	0,663	0,010
INOSINE	0,651	0,011
L-ALANINE	0,648	0,013
L-PROLINE	0,647	0,031
L-ASPARAGINE	0,616	0,104
L-HISTIDINE	0,607	0,096

Tableau 6 : modèle diagnostique univarié HIC versus Non-HIC. AUC et *p* value des 25 métabolites d'intérêt.

Pour améliorer la performance diagnostique de notre modèle nous avons calculé des ratios de métabolites pertinents. En effet, un ratio de métabolite apporte parfois plus d'information que la variation individuelle de chacun de ses métabolites. Grâce aux informations de l'analyse univariée, et en particulier celles acquises par la Heatmap de clustering hiérarchique, nous avons ciblé les métabolites suivants : la SM(36_1), la LPS(22_4), la PC(40_9), la Linoleyl carnitine, la guanine et le 5- Hydroxyindolacétate. Les ratios choisis sont les suivants : SM(36_1)/LPS(22_4), SM(36_1)/PC(40_9), SM(36_1)/Linoleyl carnitine, SM(36_1)/guanine et LPS(22_4)/5-Hydroxyindolacétate. Comme en témoigne la **Figure 23**, le modèle ainsi créé à partir du dosage de 6 métabolites différents présente alors d'excellentes performances diagnostiques avec une AUC à 0,959 et un intervalle de confiance à [0,882 ;1]. La précision diagnostique est de 0,854 sur 100 permutations, ces résultats sont robustes avec un $p < 0,0001$. En moyenne, sur 100 permutations, on aboutit à la matrice de confusion visible sur la **Figure 24** avec 10 erreurs de classement sur 58 pour les HIC et 3 sur 27 pour les Non-HIC. De plus, le

fait que la majorité des HIC et des Non-HIC présentent des probabilités de classification polarisées aux extrémités du graphique suggère une bonne robustesse du modèle.

La matrice de confusion nous permet de calculer une Sensibilité (Se) à 0,941, une Spécificité (Sp) à 0,706, une Valeur Prédictive Positive (VPP) à 0,828 et une Valeur Prédictive Négative (VPN) à 0,889.

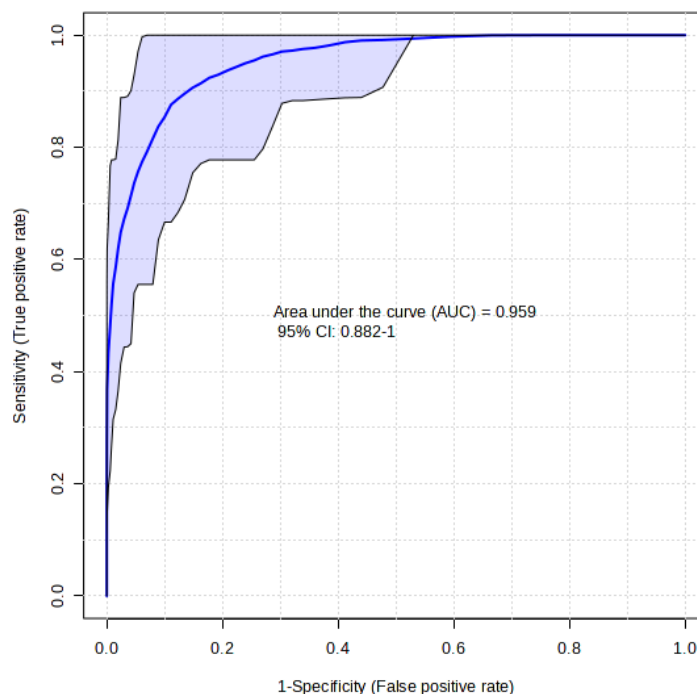
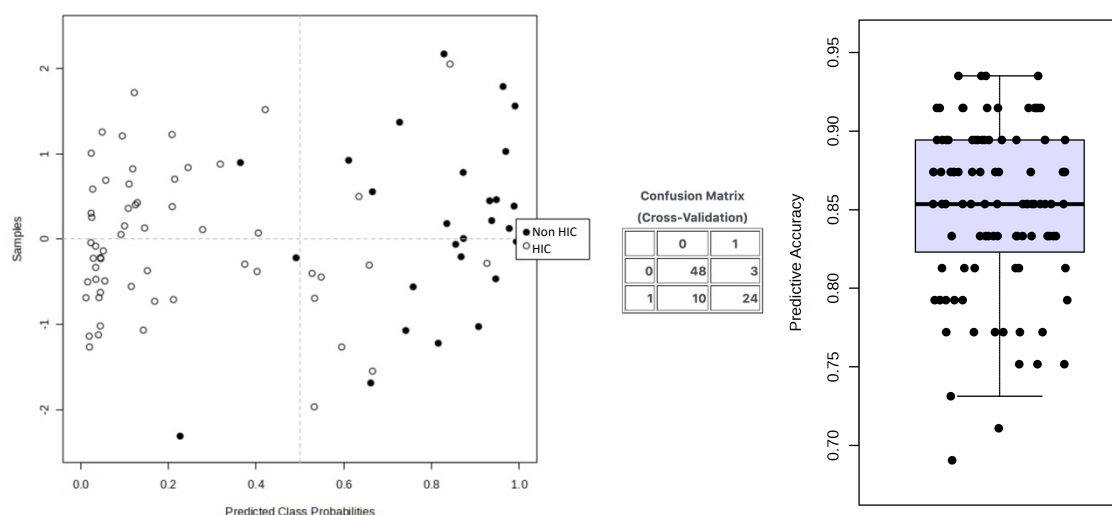


Figure 23 : modèle diagnostique multivarié HIC versus Non-HIC avec 6 métabolites d'intérêts. AUC et intervalle de confiance à 95 %.



Metric	Value
Sensitivity	0,941
Specificity	0,706
PPV	0,828
NPV	0,889

Figure 24 : Performances diagnostiques du modèle multivarié HIC versus Non-HIC.

Probabilité de prédiction sur 100 permutations, matrice de confusion, précision prédictive, caractéristiques du modèle.

2. Analyse secondaire : durée depuis le début des symptômes

Étant donné que la durée précise entre le début des symptômes et le prélèvement n'était disponible que pour 49 des 58 patients avec HIC, nous n'avons pas pu incorporer cette variable de manière satisfaisante dans nos modèles multivariés. Alternativement, nous avons décidé de rechercher s'il existait des métabolites corrélés à la durée entre le début des symptômes et le prélèvement. Nous avons donc utilisé un modèle de corrélation avec coefficient de Spearman étant donné que la durée entre le début des symptômes et le prélèvement ne suit pas une distribution normale (cf. Annexe VII.E).

Le modèle OPLS-Regression a permis de mettre en évidence 26 métabolites pertinents avec un $VIP > 1,5$. Le **Tableau 7** résume les coefficients de corrélation de Spearman des métabolites pertinents ainsi que leurs significativités. Parmi les métabolites avec une p value $< 0,05$, on pourra constater plusieurs lysophosphatidylcholines (LPC) et phosphocholines (PC) ainsi que la L-asparagine et l'adipoyl-L-carnitine. Tous ces métabolites, à l'exception de la L-asparagine, présentent une corrélation négative avec la durée depuis le début des symptômes. Ces métabolites ne font pas partie des métabolites pertinents de l'analyse principale HIC versus Non-HIC. Bien que la PC(40_9) et la linoleyl carnitine (métabolites pertinents de l'analyse principale) ne fassent pas partie de cette liste, l'adipoyl-L-carnitine (qui fait partie de la voie métabolique de la carnitine) et de nombreux métabolites de la famille des phosphocholines (PC) semblent être liés à la durée entre le début des symptômes et le prélèvement. Aucun de ces métabolites ne garde une corrélation significative après correction par la méthode FDR.

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR	VIP
LPC(18_2)	-0,3530	0,0128	0,1026	2,4239
LPC(14_0)	-0,3450	0,0152	0,1026	1,5456
PC(28_0)	-0,3405	0,0167	0,1026	2,6127
LPC(18_3)	-0,3352	0,0185	0,1026	2,3574
PC(O-16_2_2_0)	-0,3321	0,0197	0,1026	2,1233
L-ASPARAGINE	0,3100	0,0302	0,1281	1,5725
PC(30_0)	-0,3028	0,0345	0,1281	2,5352
Adipoyl-L-carnitine	0,2884	0,0445	0,1447	1,9280
LPC(20_0)	-0,2581	0,0733	0,2116	2,6033
LPC(20_5)	-0,2515	0,0814	0,2116	1,9236
PC(31_0)	-0,2417	0,0944	0,2231	1,5731
SM(30_1)	-0,2106	0,1463	0,2863	1,9630
L-THREONINE	0,2100	0,1476	0,2863	1,5993
Kynurenic acid	0,2039	0,1600	0,2863	1,7841
PC(36_2)	-0,2014	0,1652	0,2863	2,2424
SM(32_2)	-0,1848	0,2036	0,3077	1,9877
PC(36_6)	-0,1847	0,2040	0,3077	2,1625
LPC(18_0)	-0,1811	0,2130	0,3077	1,9936
PC(36_1)	-0,1730	0,2344	0,3208	2,2154
LPC(18_1)	-0,1556	0,2856	0,3536	1,7893
PC(32_2)	-0,1556	0,2856	0,3536	1,6158
PC(35_2)	-0,1226	0,4013	0,4743	1,5541
PC(35_3)	-0,0819	0,5760	0,6511	1,9707
PC(34_3)	-0,0581	0,6915	0,7491	2,3455
PC(37_5)	-0,0372	0,7995	0,8315	1,8383
PC(35_1)	0,0275	0,8512	0,8512	1,5950

Tableau 7 : Analyse de corrélation univariée des métabolites pertinents pour la durée entre le début des symptômes et le prélèvement.

Grâce à un modèle multivarié, nous avons ensuite ajusté ces résultats pour les facteurs de confusions en métabolomique. D'après le **Tableau 8**, seuls la L-asparagine, la PC(28_0), la PC(30_0), la LPC(14_0) et l'adipoyl-L-carnitine ont un coefficient de corrélation de Spearman statistiquement significatif avec un $p < 0,05$. Les PC sont négativement corrélés à la durée entre le début des symptômes et le prélèvement alors qu'il existe une corrélation positive avec la L-asparagine et l'adipoyl-L-carnitine. A nouveau, aucun de ces métabolites ne garde une corrélation significative après correction par la méthode FDR.

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR	VIP
L-ASPARAGINE	0,4482	0,0029	0,0758	1,5725
PC(28_0)	-0,4140	0,0064	0,0834	2,6127
PC(30_0)	-0,3948	0,0097	0,0838	2,5352
LPC(14_0)	-0,3712	0,0155	0,1008	1,5456
Adipoyl-L-carnitine	0,3190	0,0395	0,1935	1,9280
PC(31_0)	-0,2952	0,0577	0,1935	1,5731
LPC(18_3)	-0,2945	0,0584	0,1935	2,3574
LPC(18_2)	-0,2932	0,0595	0,1935	2,4239
PC(O-16_2_2_0)	-0,2672	0,0871	0,2517	2,1233
LPC(20_5)	-0,2317	0,1398	0,3295	1,9236
L-THREONINE	0,2272	0,1480	0,3295	1,5993
LPC(20_0)	-0,2250	0,1521	0,3295	2,6033
LPC(18_0)	-0,2027	0,1979	0,3776	1,9936
SM(30_1)	-0,2004	0,2033	0,3776	1,9630
SM(32_2)	-0,1813	0,2505	0,4085	1,9877
PC(36_2)	-0,1784	0,2584	0,4085	2,2424
PC(36_6)	-0,1701	0,2814	0,4085	2,1625
PC(36_1)	-0,1696	0,2828	0,4085	2,2154
PC(32_2)	-0,1497	0,3440	0,4707	1,6158
LPC(18_1)	-0,0979	0,5374	0,6801	1,7893
PC(35_1)	0,0951	0,5493	0,6801	1,5950
Kynurenic acid	0,0798	0,6155	0,7274	1,7841
PC(35_2)	-0,0533	0,7374	0,8336	1,5541
PC(35_3)	-0,0227	0,8866	0,9391	1,9707
PC(34_3)	-0,0194	0,9030	0,9391	2,3455
PC(37_5)	0,0005	0,9975	0,9975	1,8383

Tableau 8 : Analyse de corrélation multivariée avec ajustement sur les facteurs de confusion pour la durée entre le début des symptômes et le prélèvement.

3. Analyse secondaire : volume de l'hématome et de l'œdème

Pour rappel, nous avons réalisé les analyses de corrélations des volumes uniquement sur les patients présentant une HIC ; c'est-à-dire que nous n'avons pas inclus les patients Non-HIC en considérant leur volume égal à 0.

Comme en témoigne la **Figure 25**, la distribution des volumes des hématomes et des volumes des œdèmes péri-lésionnels ne suit pas une distribution normale. Étant donnée l'absence de distribution normale des volumes, nous avons à nouveau utilisé une corrélation selon Spearman pour mettre en évidence des différences statistiquement significatives en lien avec ces volumes.

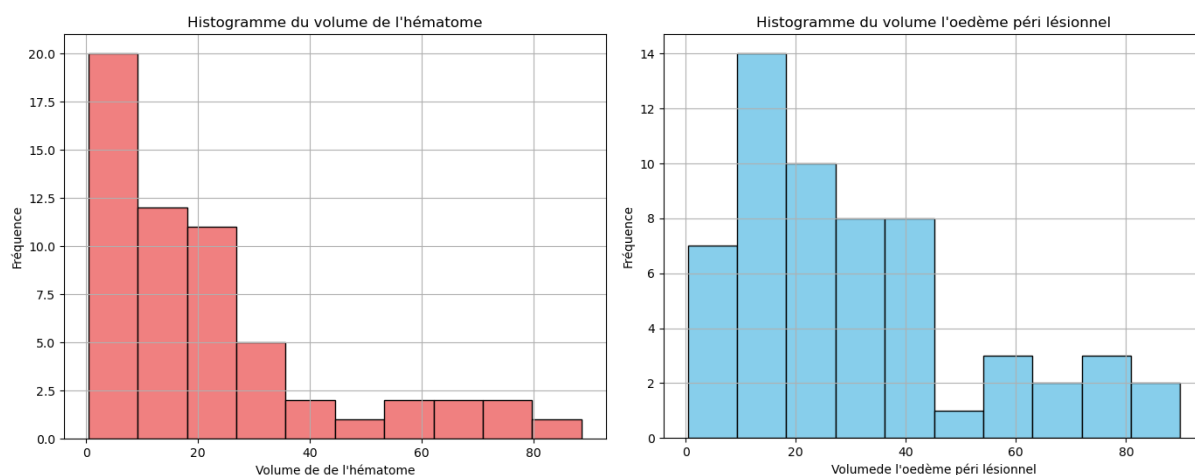


Figure 25 : Histogramme de fréquence des volumes de l'hématome et de l'œdème péri-lésionnel.

a) Volume de l'hématome

Le modèle OPLS-Regression a permis de mettre en évidence 24 métabolites pertinents avec un $VIP > 1,5$. Comme en témoigne le **Tableau 9**, concernant l'analyse univariée des métabolites corrélés au volume de l'hématome, seule la créatine a montré une corrélation statistiquement significative. Avec un signal moindre, la glutarylcarinitine est à la limite de la significativité. La créatine garde sa significativité après correction par la méthode FDR.

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR	VIP
CREATINE	-0,4118	0,0014	0,0346	2,1592
Glutaryl carnitine	0,2568	0,0519	0,6105	1,5919
PC(O-14_1__2_0)	0,2144	0,1060	0,6105	2,9432
LPE(22_6)	0,2052	0,1224	0,6105	1,7983
PC(O-18_4__2_0)	0,1794	0,1773	0,6105	2,1101
Succinic acid	-0,1725	0,1948	0,6105	1,9031
LEUCINE	0,1719	0,1964	0,6105	1,6759
LPC(16_1)	0,1581	0,2353	0,6105	2,6799
ADENINE	0,1576	0,2373	0,6105	1,9697
LPC(20_4)	0,1515	0,2555	0,6105	2,1437
5'-METHYLTHIOADENOSINE	0,1427	0,2854	0,6105	1,8639
PC(32_1)	0,1362	0,3070	0,6105	2,8782
N-ACETYLGLYCINE	-0,1252	0,3482	0,6105	1,9120
HISTAMINE	-0,1252	0,3489	0,6105	1,5476
L-TYROSINE	0,1168	0,3816	0,6105	1,7893
LPC(18_4)	0,1080	0,4197	0,6295	1,8393
PC(32_0)	0,0923	0,4897	0,6882	1,8217
Tetradecenoyl-L-carnitine	0,0868	0,5162	0,6882	1,6836
PC(40_4)	-0,0558	0,6772	0,8554	1,7670
PC(42_9)	0,0318	0,8128	0,9150	1,6278
PC(40_6)	-0,0243	0,8559	0,9150	1,5856
PC(35_2)	-0,0225	0,8667	0,9150	1,7208
SM(34_2)	-0,0208	0,8768	0,9150	2,2450
PC(40_5)	0,0088	0,9476	0,9476	2,0997

Tableau 9 : Analyse de corrélation univariée des métabolites pertinents pour le volume de l'hématome.

Nous avons ensuite utilisé un modèle de corrélation multivariée prenant en compte les facteurs de confusions susmentionnés, auquel nous avons ajouté le volume de l'œdème péri-lésionnel (il existe une corrélation très forte entre volume de l'hématome et volume de l'œdème péri-lésionnel).

D'après le **Tableau 10**, les résultats changent drastiquement. Avec une corrélation négative statistiquement significative, on retrouve les métabolites suivants : la lysophosphatidyl éthanolamine LPE(22_6), la PC(42_9) et la PC(40_6). La créatine n'a pas gardé sa significativité après ajustement pour les facteurs de confusion. Aucun de ces métabolites n'a gardé sa significativité après correction par la méthode FDR. On remarquera néanmoins le coefficient de corrélation important du LPE (22_6) et du PC(42_9) respectivement à -0,41 et -0,39.

Nous avons pu mettre en évidence que la variation des résultats est principalement due à l'ajustement pour le volume de l'œdème péri-lésionnel.

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR	VIP
LPE(22_6)	-0,4152	0,0032	0,0762	1,7983
PC(42_9)	-0,3951	0,0094	0,0816	1,6278
PC(40_6)	-0,3519	0,0102	0,0816	1,5856
PC(40_5)	-0,3126	0,0631	0,3788	2,0997
Glutaryl carnitine	0,2141	0,1316	0,5828	1,5919
LEUCINE	-0,1939	0,1457	0,5828	1,6759
LPC(20_4)	-0,1928	0,2549	0,6207	2,1437
Tetradecenoyl-L-carnitine	-0,1924	0,2709	0,6207	1,6836
HISTAMINE	0,1923	0,2802	0,6207	1,5476
N-ACETYLGLYCINE	-0,1913	0,3519	0,6207	1,9120
LPC(18_4)	-0,1289	0,3756	0,6207	1,8393
PC(O-14_1_2_0)	-0,1284	0,3933	0,6207	2,9432
5'-METHYLTHIOADENOSINE	-0,1005	0,4009	0,6207	1,8639
L-TYROSINE	-0,0749	0,4056	0,6207	1,7893
PC(32_1)	0,0727	0,4158	0,6207	2,8782
LPC(16_1)	-0,0558	0,4358	0,6207	2,6799
PC(O-18_4_2_0)	-0,0524	0,4397	0,6207	2,1101
Succinic acid	-0,0480	0,5235	0,6980	1,9031
SM(34_2)	0,0350	0,5530	0,6986	2,2450
ADENINE	0,0283	0,6725	0,7608	1,9697
CREATINE	-0,0246	0,6892	0,7608	2,1592
PC(35_2)	0,0224	0,7210	0,7608	1,7208
PC(32_0)	-0,0221	0,7291	0,7608	1,8217
PC(40_4)	-0,0075	0,9794	0,9794	1,7670

Tableau 10 : Analyse de corrélation multivariée des métabolites pertinents pour le volume de l'hématome.

b) Volume de l'œdème péri-lésionnel

Le modèle OPLS-Regression a permis de mettre en évidence 25 métabolites pertinents avec un $VIP > 1,5$. Le **Tableau 11** résume les résultats de l'analyse de corrélation univariée des métabolites au volume de l'œdème péri-lésionnel. On retrouve une corrélation négative statistiquement significative pour la créatine, la PC(40_9), la PC(40_7), la PC(38_6) et une corrélation positive statistiquement significative pour la créatinine. Seules la créatine, la PC(40_9) et la PC(40_7) ont montré une différence statistiquement significative après correction par la méthode FDR.

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR	VIP
CREATINE	-0,4656	0,0003	0,0065	2,4785
PC(40_9)	-0,3732	0,0041	0,0496	1,7035
PC(40_7)	-0,3570	0,0062	0,0496	1,7098
CREATININE	0,3148	0,0165	0,0987	2,5103
PC(38_6)	-0,3021	0,0215	0,1034	1,9793
Succinylcarnitine	0,2422	0,0670	0,2678	1,5088
L-ARGININE	-0,2258	0,0884	0,3029	2,4200
5'-METHYLTHIOADENOSINE	0,2112	0,1115	0,3345	1,5503
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	0,1909	0,1513	0,3686	1,8923
ADENINE	0,1898	0,1536	0,3686	1,5654
PC(O-16_3__2_0)	0,1646	0,2169	0,4733	2,0921
PC(31_0)	0,1554	0,2441	0,4882	2,0699
L-LYSINE	0,1407	0,2914	0,5379	1,9646
PE(18_1__18_1)	-0,1213	0,3634	0,6231	2,1656
5_6-DIHYDROURACIL	0,0934	0,4856	0,7596	3,1467
L-HISTIDINE	-0,0888	0,5064	0,7596	1,8467
PC(33_1)	0,0804	0,5477	0,7732	2,0003
LPC(16_0)	0,0618	0,6449	0,7852	2,0620
PC(35_1)	0,0610	0,6484	0,7852	1,8418
DEOXYURIDINE	0,0599	0,6544	0,7852	2,6560
5-Hydroxypipicollic acid	0,0457	0,7336	0,8385	1,6041
LPC(18_4)	0,0323	0,8100	0,8836	1,6683
PC(35_2)	0,0241	0,8569	0,8942	1,5276
Tetradecenoyl-L-carnitine	0,0042	0,9754	0,9754	2,0148

Tableau 11 : Analyse de corrélation univariée des métabolites pertinents pour le volume de l'œdème péri-lésionnel.

Nous avons à nouveau réalisé une analyse multivariée d'ajustement sur les facteurs de confusion, dont le volume de l'hématome. D'après le **Tableau 12**, nous constatons à nouveau une grande modification concernant les métabolites statistiquement significatifs. Il existe une corrélation négative statistiquement significative pour la PC(38_6), la PC(40_7), la PC(40_9), la L-lysine et la L-histidine. Il existe une corrélation positive statistiquement significative pour la phosphatidyléthanolamine PE(18_1__18_1). Seule la PC(38_6) garde une corrélation statistiquement significative après correction par la méthode FDR avec un très fort coefficient de corrélation à -0,51.

Nous avons pu mettre en évidence que la variation des résultats est principalement due à l'ajustement pour le sexe et pour le volume de l'hématome.

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR	VIP
PC(38_6)	-0.51281	0,0001	0,0034	1,9793
PC(40_7)	-0.39056	0,0050	0,0605	1,7098
PE(18_1_18_1)	0.35937	0,0104	0,0830	2,1656
PC(40_9)	-0.31973	0,0236	0,1417	1,7035
L-LYSINE	-0.30016	0,0342	0,1572	1,9646
L-HISTIDINE	-0.29247	0,0393	0,1572	1,8467
PC(31_0)	0.26339	0,0646	0,2108	2,0699
CREATININE	0.25818	0,0703	0,2108	2,5103
L-ARGININE	-0.25063	0,0792	0,2111	2,4200
5_6-DIHYDROURACIL	0.22051	0,1238	0,2972	3,1467
5'-METHYLTHIOADENOSINE	0.20976	0,1437	0,3136	1,5503
DEOXYURIDINE	0.19618	0,1721	0,3442	2,6560
CREATINE	-0.18961	0,1872	0,3456	2,4785
PC(35_2)	0.18316	0,2030	0,3479	1,5276
PC(O-16_3_2_0)	0.17447	0,2256	0,3529	2,0921
PC(35_1)	0.17095	0,2352	0,3529	1,8418
PC(33_1)	0.12577	0,3842	0,5423	2,0003
Tetradecenoyl-L-carnitine	-0.10647	0,4618	0,6157	2,0148
5-Hydroxypipicollic acid	0.085335	0,5557	0,6473	1,6041
LPC(18_4)	-0.085106	0,5568	0,6473	1,6683
Succinylcarnitine	0.083047	0,5664	0,6473	1,5088
ADENINE	0.076786	0,5961	0,6503	1,5654
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	0.029712	0,8377	0,8741	1,8923
LPC(16_0)	0.0049664	0,9727	0,9727	2,0620

Tableau 12 : Analyse de corrélation multivariée des métabolites pertinents pour le volume de l'œdème péri-lésionnel.

IV. Discussion

A. Clinique

Parmi les patients acceptés en alerte AVC au CHU de Tours qui présentent un AVC sur l'imagerie initiale, nous retrouvons environ 80 % d'AVC ischémiques et 20 % d'HIC. Nous remarquerons une fois de plus le très fort taux de mortalité précoce des HIC. Sur ce petit échantillon, il est évalué à 28,6 % durant les 7 premiers jours d'hospitalisation. Ces données reflètent malheureusement les proportions attendues en vie réelle, avec en moyenne 40 % de décès à un mois (69).

Grâce à notre méthode d'appareillage, nous avons pu sélectionner, parmi les patients admis en alerte AVC au CHU de Tours, un groupe contrôle avec un phénotype clinique proche des HIC. En effet, les patients du groupe Non-HIC sont globalement âgés et présentent de multiples facteurs de risque cardio-vasculaire. D'après le **Tableau 2** et contrairement aux habitudes de pratique clinique, on pourra noter l'absence de migraine avec aura et la très faible proportion de troubles neurologiques fonctionnels dans le groupe Non-AVC. C'est la conséquence de l'appareillage pour les facteurs de confusion notamment l'âge et les facteurs de risque cardio-vasculaire (70,71). Dans la cohorte multicentrique INTERSTROKE (72), chez les patients présentant une HIC, *O'donnell, Martin J. et al.* retrouvent une prévalence de l'HTA et du diabète respectivement autour de 70 % et de 20 %. Comme nous pouvons constater sur le **Tableau 1**, ces proportions sont similaires dans notre échantillon d'HIC. Dans notre étude, la proportion de patients fumeurs est de 2,4 % alors qu'elle est attendue autour de 30 %. Cette différence peut s'expliquer par une forte proportion de données manquantes concernant ce facteur de risque (plus de 30 %). Il existe un important déséquilibre concernant la proportion de patients sous antiagrégants plaquettaires (AAP) et anticoagulants (Ag) dans le groupe HIC par rapport au groupe Non-HIC. D'après la littérature (73,74), les proportions attendues correspondent au groupe d'HIC avec environ 10 % de patients sous AAP et 5 % sous Ag. De la même manière, cette surreprésentation de patients sous AAP et Ag dans le groupe contrôle est la conséquence indirecte de la sélection de patients âgés avec de nombreux facteurs de risque cardiovasculaire ; population de patients traités en prévention primaire ou secondaire par AAP et Ag. Bien que fortement débattu, un traitement par statines pourrait être un facteur de risque d'HIC (75). Étant donné qu'un traitement par statines va entraîner une modification importante

du profil métabolomique sérique (68,76), il est important de noter que la proportion de patients traités par statines est la même dans le groupe HIC et le groupe Non-HIC. D'après la littérature (77), l'AAC représente environ 20 % des HIC spontanées et les formes mixtes 25 % ce qui est globalement concordant avec les proportions retrouvées dans notre étude. Grâce à notre méthode d'inclusion, nous avons pu analyser des prélèvements biologiques de phase hyperaigüe, comme en témoigne la durée moyenne depuis le début des symptômes de 385 minutes. Malheureusement, certains patients de notre étude sont parfois pris en charge 24 h après le début des symptômes (4 patients pris en charge au moins 2000 minutes après le début des symptômes). Leur inclusion dans l'étude est, premièrement, le fait que certains patients isolés ne sont pas pris en charge immédiatement après le début des symptômes et qu'il peut exister un long délai avant le premier contact hospitalier. Deuxièmement, il arrive parfois que, pour des raisons logistiques (manque de place), un patient initialement hospitalisé dans un centre hospitalier adjacent ne soit transféré à l'UNV de Tours qu'un peu plus tardivement. Nous rappellerons que la durée précise n'est connue que pour 73/85 (85 %) des patients, et en particulier pour 49/58 (84 %) des HIC. Nous retrouvons cette situation quand il n'y a pas de témoin de la phase initiale et que les patients ne sont pas en mesure de donner l'heure exacte du début des symptômes (aphasie ou trouble de la conscience) (54,78).

Au vu de ces résultats, nous pouvons raisonnablement supposer que notre population est représentative des patients présentant une HIC et que le groupe contrôle est comparable.

B. Imagerie

Concernant les données multimodales d'imagerie, on remarquera une variation importante du volume des HIC entre les patients étant donné que la déviation standard (20,9 mL) est presque égale à la moyenne (21,1 mL). Cette remarque s'applique aussi au volume de l'œdème péri-lésionnel directement lié au volume de l'hématome.

Dans une étude réalisée pour chercher une corrélation entre des biomarqueurs radiologiques de maladie des petites artères (MPA) et l'expansion de l'hématome, *Boulouis et al.* (79) étudient une cohorte rétrospective de 419 patients avec une HIC. Les auteurs décrivent 60 % d'HIC lobaires, 17 % de sidérose corticale, 17 mL de médiane pour le volume de la leucopathie, 37 % de microbleeds lobaires et 17 % de microbleeds profonds. Grâce aux données du **Tableau 3**, nous pouvons comparer ces résultats par rapport à notre cohorte. : 43% d'HIC lobaires, 10 % de sidérose corticale, 22 mL pour le volume moyen de la leucopathie, 48 % de microbleeds

superficiels et 37 % de microbleeds profonds. Ces résultats sont confirmés comparativement à d'autres études des biomarqueurs de MPA chez les patients HIC (80–82). Les différences que nous observons, comme la plus faible prévalence de sidérose corticale dans notre cohorte, sont typiquement des biomarqueurs radiologiques d'angiopathie amyloïde cérébrale (AAC). Cette différence pourrait s'expliquer par la proportion plus faible d'HIC lobaire dans notre cohorte, souvent synonyme d'AAC sous-jacente. De plus, nous mettons en évidence dans notre cohorte une surreprésentation de lacunes et de lésions DWI avec respectivement 56 % dans notre cohorte pour 22 % dans la littérature et 46 % dans notre cohorte pour 23 % dans la littérature (80–82). Contrairement à la majeure partie des études citées, notre cohorte ne se limite pas uniquement aux HIC spontanées. Par ailleurs, nous avons exclu les décès précoces. Nous rappelons que les HIC liés à l'AAC sont volontiers plus sévères que celles liées à la MAH. En excluant ces patients, nous avons peut-être augmenté la proportion de patients porteurs d'une MAH. Or la MAH s'exprime aussi sur le variant ischémique avec comme conséquence la présence de lacunes. Ces différences de population pourraient participer à expliquer les différences radiologiques constatées entre notre cohorte et la littérature.

Étonnamment, dans notre étude, la répartition des HIC lobaire/profonde est identique autour de 45 % alors qu'il existe plus de MAH que d'AAC (42,9 % vs 28,6 %). Plusieurs hypothèses permettent d'expliquer cette discordance : 1 – Bien que typiquement profondes pour les MAH ou superficielles pour les AAC, la localisation des HIC n'est pas pathognomonique du type de MPA sous-jacent. En reformulant, le type de MPA atteint préférentiellement certaines localisations d'artères mais dans les atteintes sévères, avec une importante charge lésionnelle, cette distinction s'efface et toutes les petites artères sont atteintes (83,84). 2 – Une petite proportion (8 patients) des HIC sont secondaires, n'étant donc pas en lien avec une MPA. 3 – On pourra aussi expliquer cette différence par des difficultés de classification précise. En effet, la proportion importante de patients classifiés dans le groupe angiopathie mixte est de 18,4 %. Pour ces patients, les difficultés de classification basées uniquement sur des biomarqueurs non-invasifs soulignent la nécessité d'améliorer nos compétences diagnostiques (85,86). Grâce à la description multimodale précise des différents biomarqueurs d'IRM de MPA, notre ambition initiale était de réaliser une corrélation entre les profils métabolomiques et la charge lésionnelle du type de MPA (quantification et distribution d'hypersignaux de la substance blanche, de microbleeds, de lacunes et d'EPVD). Le petit nombre de patients MAH et AAC, respectivement 21 et 14, a rendu ces analyses peu robustes et nous avons manqué de puissance statistique pour

aboutir à de solides conclusions. Nous avons l'ambition de poursuivre ce travail grâce à la cohorte OPT-ICH ; cohorte prospective multicentrique de plus grande ampleur.

Nos patients contrôles présentent de nombreux biomarqueurs IRM de MPA : environ 50 % de leucopathie Fazekas 1 ou 2, 12 % de microbleeds profonds, 32 % de lacunes. Nous avons donc pu centrer nos analyses sur l'activité métabolique en phase hyperaigüe de l'hémorragie grâce à une bonne comparabilité entre groupes HIC versus Non-HIC. Limitant ainsi les biais de confusion.

C. Métabolomique

Dans cette section, nous discuterons principalement les métabolites statistiquement significatifs, après correction par la méthode FDR, mis en évidence par les analyses multivariées avec ajustement sur les facteurs de confusion. De cette manière, nous pourrions cibler uniquement les métabolites les plus pertinents mis en évidence avec une méthode robuste pour limiter les biais possibles.

1. Analyse principale : HIC vs Non-HIC

D'après notre revue de la littérature (cf. I.D), les métabolites pertinents pour différencier HIC de Non-HIC sont les suivants : 3-hydroxybutyrylcarnitine, glutarylcarnitine, palmitoylcarnitine, propionylcarnitine, myristoylcarnitine, 3-hydroxyisovalerylcarnitine, 3-hydroxypalmitoylcarnitine, hydroxystearoylcarnitine, L-carnitine, L-octanoylcarnitine, citrulline, tyrosine, valine, phénylalanine, méthionine, arginine, L-lysine, 20- hydroxy leucotriène B₄, acide arachidonique, phytosphingosine (PHS), lysophosphatidylcholine (lysoPC), lysophosphatidyléthanolamine (lysoPE), phosphatidylcholine (PC), lactosylcéramide et phosphatidyléthanolamine (PE). Schématiquement, on pourra noter plusieurs familles de métabolites : des acides aminés (dont différents métabolites de la carnitine), des phospholipides et des acides gras.

Afin de discuter d'éventuelles différences entre nos résultats et la littérature, nous devons nous assurer que nous avons dosé les mêmes métabolites. D'après l'Annexe C, qui recense le nom des 198 métabolites que nous avons mis en évidence, les métabolites suivants sont en commun : presque tous les acides aminés (citrulline, lysine, arginine, tyrosine, valine, phénylalanine), de nombreux métabolites de la carnitine (glutarylcarnitine, hydroxybutyrylcarnitine, propionylcarnitine, myristoylcarnitine, L-carnitine) et presque tous les phospholipides (lysoPC,

lysoPE, PE, PC). Par rapport à notre revue de la littérature, les métabolites suivants n'ont pas été dosés dans notre étude : Palmitoylcarnitine, 3-hydroxyisovalerylcarnitine, 3-hydroxypalmitoylcarnitine, hydroxystearoylcarnitine, L-octanoylcarnitine, méthionine, 20-hydroxyleucotriène B4, acide arachidonique, PHS. Malheureusement, la liste précise de l'ensemble des métabolites mis en évidence n'est pas fréquemment publiée dans les études. De ce fait, il est délicat de savoir si les études par rapport auxquelles nous comparons nos résultats ont pu doser les métabolites pertinents que nous avons mis en évidence.

Nous rappelons qu'il existe plus de 200 000 métabolites décrits dans le sérum humain (87). La métabolomique est une technique extrêmement sensible produisant des résultats variés en fonction des nombreux paramètres choisis. Dans notre étude, les paramètres choisis n'étaient pas adaptés à l'évaluation des lipides. Seuls les petits lipides, comme les phospholipides, ont été dosés. Un prochain travail sera réalisé pour étudier la lipidomique sur cette cohorte.

Pour rappel, dans notre étude, les métabolites mis en évidence pour différencier HIC de Non-HIC (cf. **Tableau 5**) pourraient être regroupés en trois familles : la famille des phospholipides (sphingomyéline, LPS(22_4), PC(40_9)), la famille des purines (guanine, guanosine, inosine) et la famille des acides aminés (linoleyl carnitine, L-alanine, N6-N6-N6-triméthyl-L lysine, L-proline).

Comparativement à l'étude de *Zhang et al.* (49), nous n'avons pas mis en évidence de signal en provenance du métabolisme des mêmes acides aminés, en particulier de la citrulline, de la tyrosine, de la valine, de la phénylalanine et de la carnitine. En effet, seules la linoleyl carnitine, la L-proline et la L-alanine ont montré dans notre étude une différence statistiquement significative. Il est tout à fait notable que dans cette étude les auteurs ont comparé les profils métabolomiques des patients présentant une HIC avec ceux présentant un AVC ischémique. Par notre choix d'un groupe contrôle sans événement neurologique vasculaire, et donc présentant un métabolome franchement différent, il n'est pas étonnant que nos résultats ne soient pas similaires.

Il ne nous est malheureusement pas possible de comparer nos résultats à l'étude de *Zhang et al.* (50). En effet, comme précisé ci-dessus, nos paramètres d'analyse métabolomique n'ont pas permis l'évaluation globale des lipides, tout particulièrement des leucotriènes et de l'acide arachidonique.

Comparativement à *Sun, Guozhang et al.* (51) nous avons mis en évidence une signature métabolomique proche. En effet, en dehors de la L-carnitine et de la L-octanoylcarnitine, la majeure partie des métabolites mis en évidence par les auteurs sont des phospholipides et des amines. Bien que nous n'ayons pas mis en évidence les mêmes métabolites, notre signal le plus fort provient de phospholipides tels que les sphingomyélines, la LPS(22_4) ou la PC(40_9).

En accord avec *Mader et al.* (54), nous n'avons pas mis en évidence de modification de la L-arginine sérique à la phase initiale. En revanche, les auteurs avaient montré une diminution de la L-lysine et de la L-citrulline que nous n'avons pas retrouvée dans notre analyse. Ces différences peuvent s'expliquer par plusieurs raisons. Premièrement, *Mader et al.* travaillaient sur des patients avec inondation ventriculaire nécessitant une dérivation ventriculo-externe, ainsi le recrutement des patients est différent. Deuxièmement, les effectifs de *Mader et al.* sont modestes avec 25 HIC et 19 Non-HIC ; notre cohorte, bien que légèrement plus volumineuse, reste néanmoins de petite taille. Nous tempèrerons ces propos car, dans notre étude, nous avons mis en évidence la modification de certains métabolites présents dans la voie métabolique de la lysine tels que la N6-N6-N6-triméthyl-L lysine ou la cadavérine.

Pour finir, l'ensemble de ces différences pourrait résulter du fait de notre méthode de sélection car nous avons présélectionné par modèle OPLS-DA les métabolites les plus pertinents avec un $VIP > 1,5$. De ce fait, il se pourrait que certains métabolites mis en évidence dans la littérature présentent une différence statistiquement significative dans notre cohorte, sans pour autant qu'ils fassent partie des métabolites les plus pertinents de notre modèle OPLS-DA pour différencier les HIC des Non-HIC.

Au vu du très fort signal concernant la pertinence des sphingomyélines SM dans notre analyse (cf. **Tableau 5**), nous allons tout spécifiquement détailler les voies métaboliques des phospholipides (dont la SM, la LPS et la PC font partie). Nous discuterons dans un second temps les autres métabolites de façon plus succincte.

a) Les phospholipides : SM, LPS, PC

Les phospholipides sont des lipides associés à un groupe d'acide phosphorique. Ce sont des lipides amphiphiles, c'est-à-dire qu'ils possèdent une tête hydrophile et une queue hydrophobe. Par ces capacités, ce sont des constituants essentiels de la bicouche lipidique de la membrane plasmatique. Les deux principaux représentants de la famille des phospholipides sont les sphingolipides (incluant la SM) et les phosphoglycérides (incluant la LPS et la PC).

Les sphingolipides sont une famille de molécules dérivées de la membrane plasmique qui ont des propriétés signalétiques en plus de leur fonction structurelle. Elles participent à la prolifération/mort cellulaire, à la migration cellulaire et font partie de nombreux patrons de reconnaissance.

D'après *Sun et al.* (88), nous allons résumer les principales voies métaboliques des sphingolipides. Visible en détail sur la **Figure 26**, la synthèse *de novo* des sphingolipides commence au niveau du réticulum endoplasmique avec la condensation de la sérine et du palmitoyl coenzyme A (CoA) par la sérine palmitoyltransférase (SPT) pour former la 3-céto-dihydrosphingosine. Ce composé est ensuite transformé en dihydrosphingosine par la 3-keto-dihydrosphingosine réductase, qui est ensuite N-acylée par les céramides synthases (CerS) pour former les dihydrocéramides. La déshydrogénation par la désaturase des dihydrocéramides permet la production des céramides. Les céramides poursuivent leur maturation en étant transportées au niveau du Golgi par la céramide transférase où se déroulera la synthèse des sphingomyélines. Les céramides peuvent également être phosphorylés par la céramide kinase pour former le céramide-1-phosphate (C1P) ou être transformés en sphingosine par la céramidase. Quant aux sphingomyélines, elles sont métabolisées soit à partir des céramides en rajoutant un groupe phosphocholine grâce à la phosphatidylcholine choline-phosphotransférase ou grâce à la N-acylsphingosine choline -phosphotransférase, soit à partir des sphingosyl-phosphocholines en transférant un acide gras de l'acyl-CoA grâce à la sphingosine acyltransférase. Remarquablement, la sphingomyéline n'est métabolisée qu'en céramide par la sphingomyéline phosphodiesterase ou en céramide phosphorylé par la sphingomyéline phosphodiesterase D.

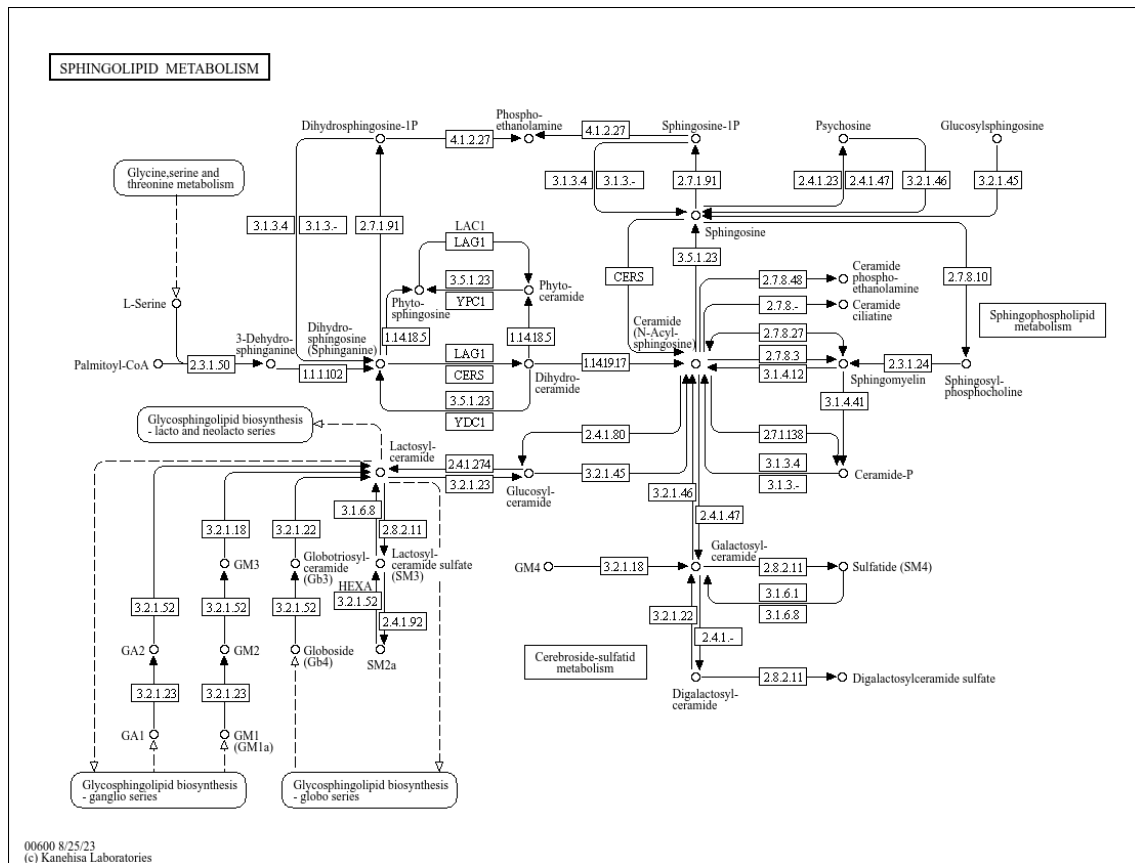


Figure 26 : Voies du métabolisme des sphingolipides (KEGG). Début de la voie métabolique décrite visible en haut à gauche. Métabolisme des céramides et sphingomyélines dans la portion supérieure droite.

Les céramides, qui jouent un rôle central dans les voies métaboliques des sphingolipides, peuvent donc être formées soit *de novo* (comme suscité) ou à partir des sphingomyélines membranaires. Ils servent de métabolites intermédiaires de choix soit pour générer des sphingolipides complexes comme les sphingomyélines ou les glycosphingolipides, soit pour générer des sphingolipides signalétiques comme la céramide-1-phosphate (C1P) ou la sphingosine-1-phosphate (S1P). Les céramides sont aussi des seconds messagers dans différents domaines tels que la croissance, la différenciation, la nécrose, la prolifération et l'apoptose des cellules. Les protéines phosphatases PP1, PP2A et PP2C sont activées par les céramides et sont responsables de fonctions pro-apoptotiques, en particulier la déphosphorylation de l'Akt par PP2A. Pour finir, les céramides font partie des micro-domaines de type radeaux lipidiques des membranes plasmiques, aussi appelés « lipidic raft ». Ainsi, leur densité au sein des radeaux lipidiques va moduler la transmission des signaux externes en favorisant ou non l'exposition des récepteurs membranaires au ligand plasmique, en particulier dans des voies de signalisation telles que la réponse immunitaire cellulaire et

l'apoptose. La C1P peut activer la phospholipase-A2 α cytosolique (cPLA2 α) et, par conséquent, la production d'eicosanoïdes. La C1P a aussi une action inhibitrice sur l'enzyme de conversion du facteur de nécrose tumorale TNF (TACE ou ADAM17) qui clive le pro-TNF pour libérer la forme inflammatoire active.

Les sphingosines kinases (SphK1 et SphK2) phosphorylent les sphingosines pour former la sphingosine-1-phosphate (S1P), métabolite crucial dans les voies de signalisation des phospholipides. La S1P peut alors être transportée hors de la cellule par la protéine-canal spinster 2 (Spns2). La S1P pourra ensuite aller agir sur un des cinq récepteurs membranaires de la famille des récepteurs couplés aux protéines G : S1PR1 à S1PR5. Inversement, la S1P peut être déphosphorylée en sphingosine par une sphingosine phosphate-phosphatase (SPPase) ou convertie en phosphoéthanolamine et hexadécénal par la S1P-lyase (SPL).

La S1P joue un rôle dans de multiples voies de signalisation intracellulaire, dont la croissance cellulaire, le contrôle de la survie, la mobilité, l'angiogenèse, l'intégrité de la barrière endothéliale et la contractilité vasculaire. Ces fonctions sont contrôlées par les récepteurs membranaires suscités S1PR1 à S1PR5 qui s'expriment sur différentes cellules comme les cellules immunitaires, endothéliales ou gliales. Grossièrement, S1PR1, S1PR2 et S1PR3 sont exprimés de manière globale, et en particulier au niveau du système immunitaire et des cellules cardiaques, S1PR4 au niveau du système lymphatique et S1PR5 au niveau des cellules gliales de la substance blanche. Plus précisément, au niveau du système nerveux central, les neurones expriment plutôt S1PR1 et S1PR3, la microglie S1PR1 et les astrocytes et oligodendrocytes S1PR1 et S1PR5. Comme on peut le constater sur la **Figure 27**, les différents récepteurs aux S1P n'ont pas une voie de signalisation spécifique mais il existe bien au contraire un chevauchement. Les mécanismes d'aval des différents récepteurs S1PR sont encore impartialement compris. L'activation de S1PR1 entraîne principalement l'activation de la voie Ras/ERK (promotion de la prolifération), de la voie PI3K/Akt (prévention de l'apoptose), de la voie PI3K/Rac (promotion du réarrangement cytosquelettique et la migration cellulaire), de l'activation de la phospholipase C (PLC) (augmentation du calcium intracellulaire et inhibition de l'adényl cyclase ; réduisant ainsi la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc)). On notera que S1PR5, plus spécifiquement exprimé au niveau du système nerveux central, participe à l'activation du NF- κ B par la voie Rho. Pour finir, comme présenté dans l'introduction (cf. I.C.3.a), la thrombine en se liant à des récepteurs de type PAR-1, PAR-3 et PAR-4 participe à l'endommagement secondaire. Il a été mis en évidence que PAR-1 activé par la thrombine peut se coupler à S1PR3 pour augmenter la perméabilité vasculaire. A l'inverse,

S1PR1 (via l'activation de la protéine C) favorise l'efficacité de la barrière endothéliale. Une fois de plus, ces mécanismes avec des effets diamétralement opposés rendent compte de la complexité des phénomènes mis en jeu.

Pour finir, comme visible dans la **Figure 27**, le métabolisme des sphingolipides est lié à la voie du TNF- α qui agit sur la sphingosine kinase et la sphingomyélinase neutre (SMase N) que nous détaillerons ci-dessous. In fine, la sphingosine-1-phosphate (S1P) va alors agir comme ligand des différents récepteurs membranaires suscités et moduler différentes voies comme celle du NO ou encore celle de NF- κ B.

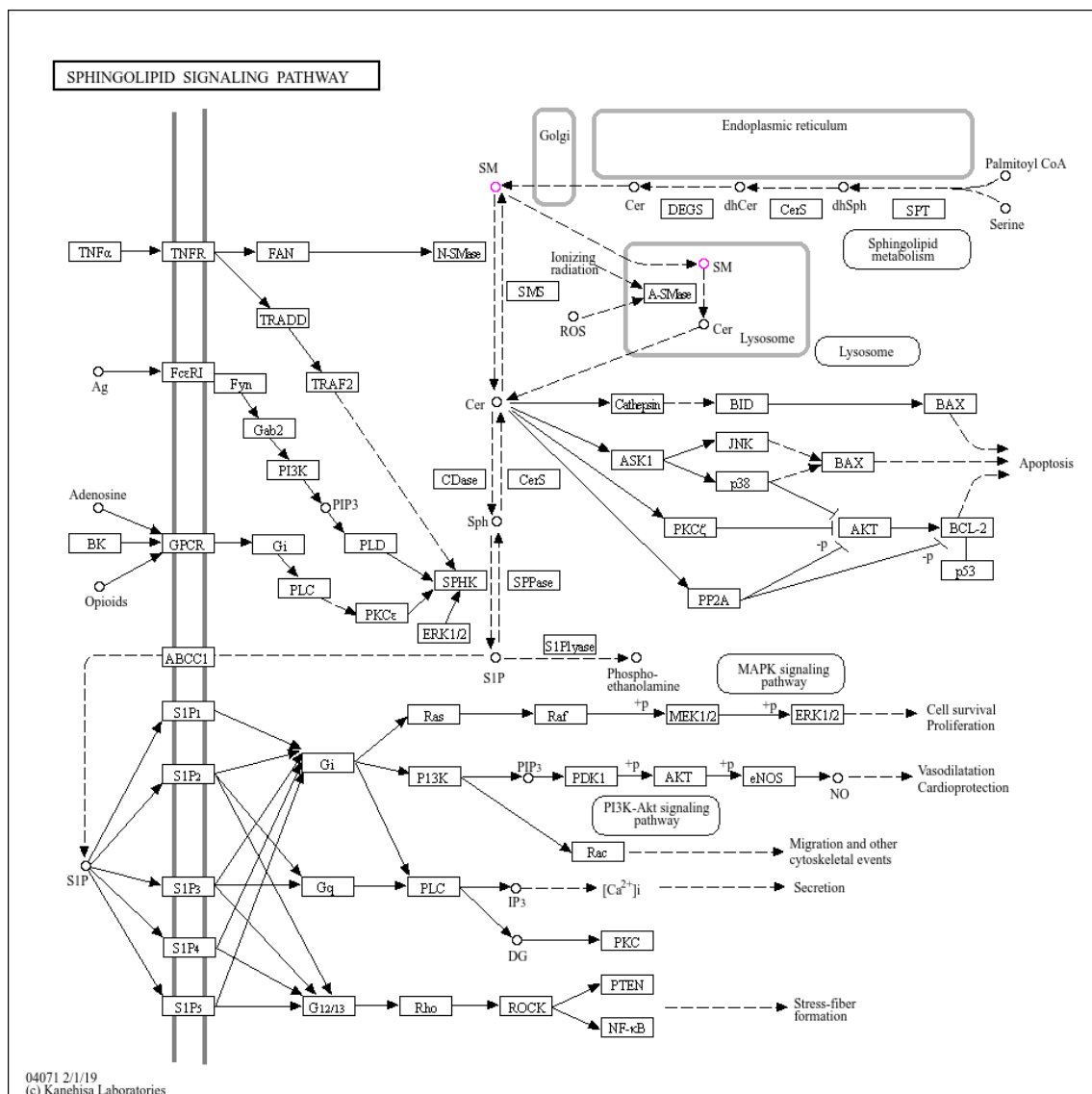


Figure 27 : Voies de signalisation des sphingolipides (KEGG). Sphingomyélines SM visibles en haut à droite en rose.

La lysophosphatidylsérine (LPS) est un phospholipide de la famille des glycérophospholipides. Comme visible sur la **Figure 28**, c'est une molécule composée d'un unique groupe d'acides gras variables (bleu ou vert), d'un groupe glycérol (noir), d'un groupe phosphate (rouge) et d'un groupe sérine (violet). La LPS est un métabolisé à partir de la phosphatidylsérine par la « phosphatidylsérine-specific phospholipase A1 » (PS-PA1) qui vient tronquer un des deux groupes d'acides gras.

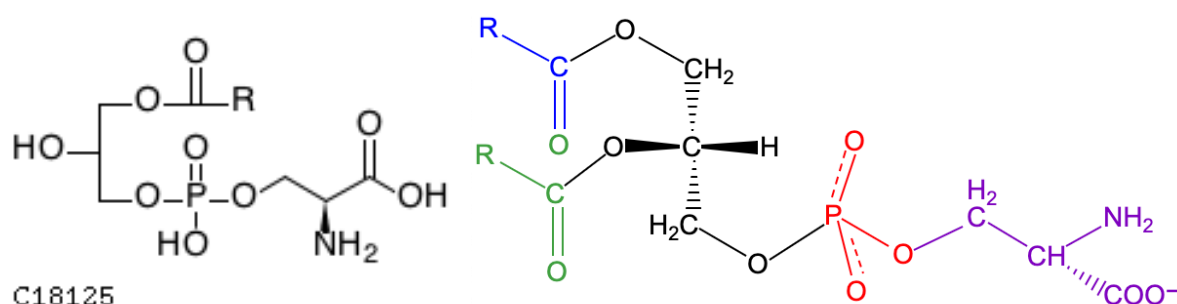


Figure 28 : Formule chimique de la lysophosphatidylsérine (LPS) à gauche et de la phosphatidylsérine à droite : groupe d'acides gras (bleu et vert), groupe glycérol (noir), groupe phosphate (rouge), groupe sérine (violet). Source : KEGG et Wikipédia.

En 2021, *Omi et al.* (89) font une revue de la littérature concernant l'activité biologique de la LPS. Il est connu depuis de nombreuses années que la LPS stimule la dégranulation des mastocytes. Il a récemment été mis en évidence le rôle immunomodulateur de la LPS à travers des récepteurs membranaires spécifiques (GPR34, P2Y10, et GPR174) et le récepteur membranaire des macrophages TLR2. D'après les auteurs, l'activation du système immunitaire semble aboutir à une augmentation de la LPS, en particulier via une production et une libération par les macrophages et par les plaquettes. En effet, dans certaines pathologies inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Sjögren ou le lupus, il semble que l'activité de la PS-PA1 soit augmentée. Cette augmentation d'activité enzymatique pourrait ainsi expliquer l'augmentation de la concentration de la LPS. De manière tout à fait intéressante, les auteurs rapportent, chez la souris, que les plaquettes expriment fortement la PS-PA1 et que la LPS pourrait être un marqueur de l'activation plaquettaire. Néanmoins, plusieurs études ont mis en évidence une surexpression de la LPS dans le cadre de cancers, suggérant aussi un potentiel rôle de la LPS dans la genèse tumorale. A ce jour, et comme en témoigne le **Tableau 13**, le rôle physiopathologique précis de la LPS n'est pas précisément connu.

Receptor	Experiment	Model or cell-types	Functions
GPR34/LPS ₁	In vivo	DTH model	Suppress pro-inflammatory cytokine production
	In vivo	Fungal infection model	Promote fungal clearance
	In vivo	Neuropathic pain model	Enhance microglial pro-inflammatory responses
	In vitro	Primary microglia	Promote phagocytosis
	In vitro	Cervical cancer cell gastric cancer cell colorectal cancer cell	Promote cellular invasion and proliferation
P2Y10/LPS ₂	In vitro	Primary dendritic cell, microglia	Suppress cytokine production
	In vitro	Primary eosinophil	Promote degranulation, survival, and formation of EET
GPR174/LPS ₃	In vivo	EAE model sepsis model	Attenuate disease severity by suppressing Treg cell function
	In vivo in vitro	Primary CD4 T cell	Suppress IL-2 production
	In vivo	Splenic follicular B cell	Inhibit the cellular migration into the follicle center
	In vivo	Splenic marginal zone B cell	Inhibit the inflammatory responses, proliferation, and differentiation

Tableau 13 : Rôle physiopathologique supposé de la LPS dans différentes études. Tableau tiré de *Omi et al.* (89)

A notre connaissance, nous sommes les premiers à avoir découvert un lien entre HIC et la LPS sérique. L'ensemble de ces informations rend l'interprétation de l'augmentation de la LPS dans notre cohorte d'HIC aigüe délicate : cela pourrait être un marqueur précoce de l'inflammation, la conséquence directe des mécanismes d'hémostase ou un tout autre processus encore inconnu.

La phosphatidylcholine (PC), parfois appelée lécithine, est un lipide appartenant à la famille des glycérophospholipides. Sa composition chimique est détaillée dans la **Figure 29**. C'est un autre composant essentiel des membranes plasmiques, en particulier au niveau cérébral où elle représente environ 30 % du poids sec du cerveau. Les voies du métabolisme de la PC sont complexes, comme en témoigne la **Figure 30**, avec de nombreux métabolites d'amont et d'aval. On pourra néanmoins mentionner la proximité métabolique avec l'acétylcholine, la phosphatidylsérine (PS) et la phosphatidyléthanolamine (PE). *Van Der Veen et al.* (90) détaillent le rôle physiopathologique de la PC. En plus de son rôle structurel, ils rapportent que la PC est un métabolite intermédiaire capital des voies métaboliques des lipides et de l'acétylcholine. Son rôle physiopathologique est évoqué dans des maladies telles que la NASH (Non Alcoholic Steato Hepatitis) ou les pathologies du surfactant pulmonaire, dont elle est un des principaux composants. A ce jour, la PC ne semble pas être décrite comme un messenger direct des voies de signalisations intracellulaires. En revanche, la PC peut être métabolisée en acide arachidonique qui peut être à son tour métabolisé en eicosanoïdes, second messenger pro-inflammatoire. De plus, la PC peut être métabolisée en diacylglycérol (DAG) et en phosphocholine par la Phosphatidylcholine-specific phospholipase C (PC-PLC). La phosphocholine est connue comme second messenger de différentes voies de signalisation intracellulaire en lien avec l'apoptose, l'inflammation ou l'athérogénèse (91). Dans un modèle

murin, *Wang et al.* (92) décrivent la PC comme un métabolite en lien avec la présence de microbleeds liée à l'HTA. Dans un modèle murin d'HSA, *Li et al.* (93) ont mis en évidence un impact péjoratif de la PC-LPC sur le pronostic neurologique des souris. Une diminution de l'activité de la PC-LPC permettait de diminuer l'œdème cérébral, les dommages de la BHE et ceux induits par l'inflammation. De manière tout à fait intéressante, *Clark et al.* (94) ont réalisé une étude pharmaceutique de phase I concernant la Citicoline (un précurseur de la PC) dans l'HIC. La Citicoline a montré son bénéfice dans des modèles d'AVC ischémique en diminuant la concentration en acides gras libres, en augmentant la concentration de phosphatidylcholine et en améliorant la survie des neurones. Les auteurs ont montré, dans leur modèle murin d'HIC, que le traitement Citicoline améliore le pronostic fonctionnel et réduit le volume des lésions ischémiques péri-hématome.

Similairement à la LPS, l'ensemble de ces informations rend l'interprétation de l'augmentation de la PC dans notre cohorte d'HIC aigüe délicate : cela pourrait être un faux positif (parmi toute les PC dosées, une seule a montré une différence statistiquement significative), la conséquence directe de la mort cellulaire avec le relargage de composants de la membrane plasmique dans le sérum, le reflet indirect de l'initiation d'un mécanisme de protection cellulaire ou un tout autre processus encore inconnu.

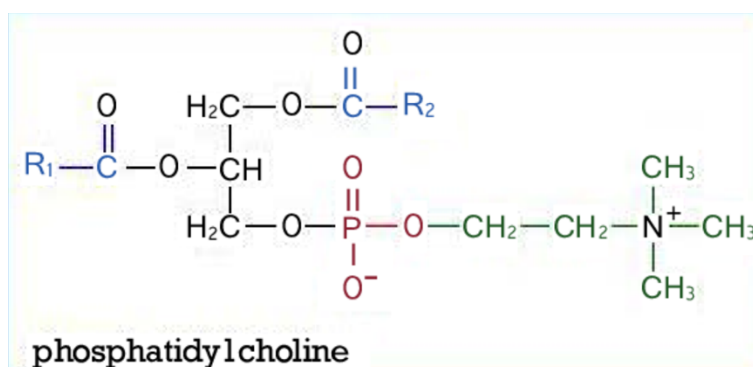


Figure 29 : Formule chimique de la phosphatidylcholine. En bleu les acides gras à chaîne carbonée variable, en noir le groupe glycérol, en rouge le groupe phosphate et en vert le groupe choline. Figure tirée de *Siraj et al.* (95).

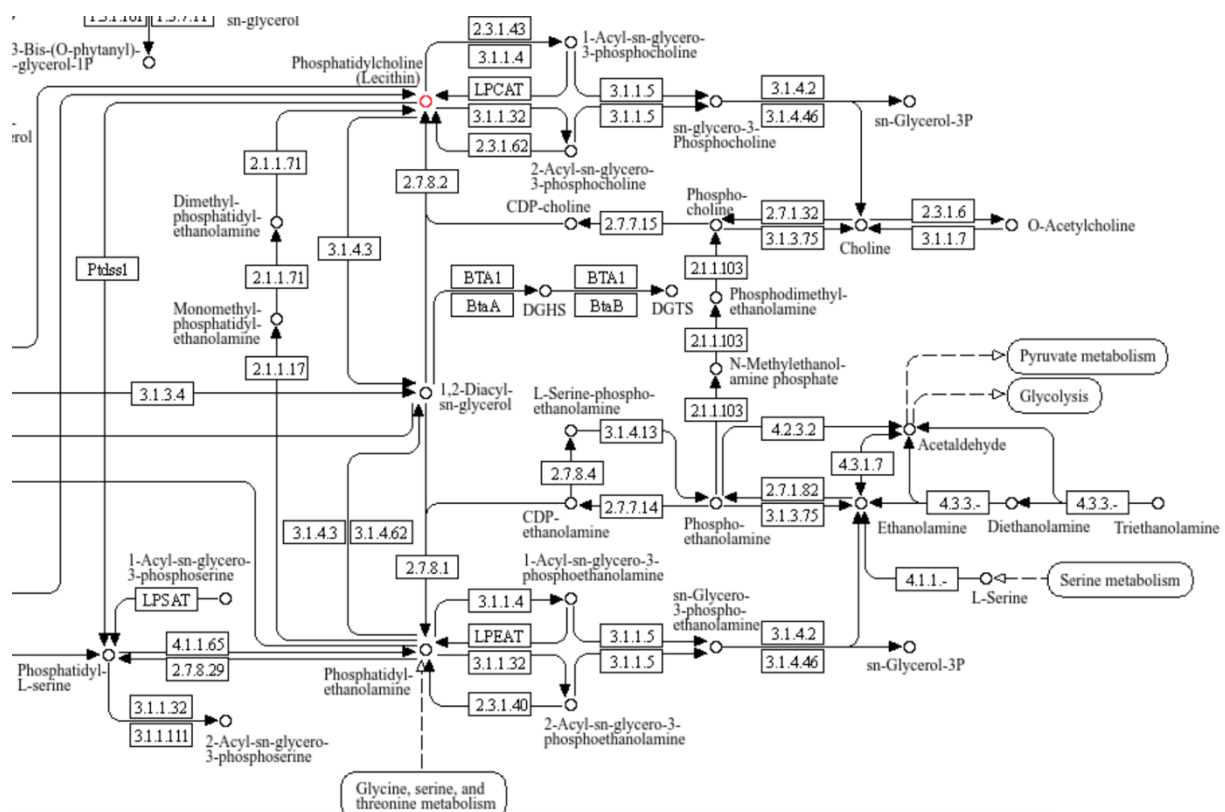


Figure 30 : Extrait des voies du métabolisme des glycérophospholipides (KEGG). PC visible en haut en rouge.

Maintenant que nous avons brièvement parcouru les voies du métabolisme et de la signalisation des phospholipides, nous allons détailler tout spécifiquement le rôle des sphingomyélines.

Les sphingomyélines sont des sphingolipides que l'on retrouve en particulier dans la membrane des couches de myélines. Comme on peut le voir grâce à la **Figure 31**, ils sont formés à partir d'une sphingosine à laquelle s'ajoute un groupe phosphocholine (en bleu) et un acide gras dont la chaîne carbonée est variable (en rouge). Les sphingomyélines représentent environ 85 % des sphingolipides, ils participent à hauteur de 15 à 20 % à la composition des membranes plasmiques et leur concentration est très importante dans les tissus nerveux.

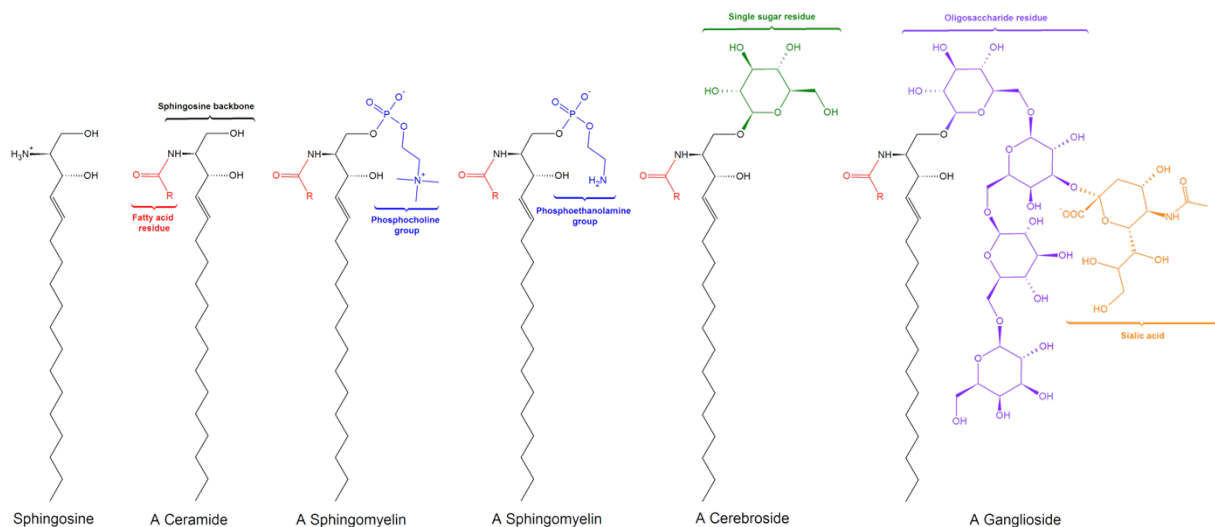


Figure 31 : Formule chimique des différents sphingolipides (Wikipédia).

En plus de leur rôle structural isolant de membrane, comme nous pouvons le constater dans la **Figure 27**, les sphingomyélines jouent un rôle dans la voie signalétique de l'apoptose en étant dégradées en céramide par la sphingomyéline phosphodiesterase, qui à son tour pourra participer à la voie signalétique de l'apoptose BAX/BCL-2 (96). De plus, les céramides peuvent être métabolisés en sphingosine et participer à la nécroptose via l'augmentation de la perméabilité lysosomale, comme en témoigne la **Figure 32**.

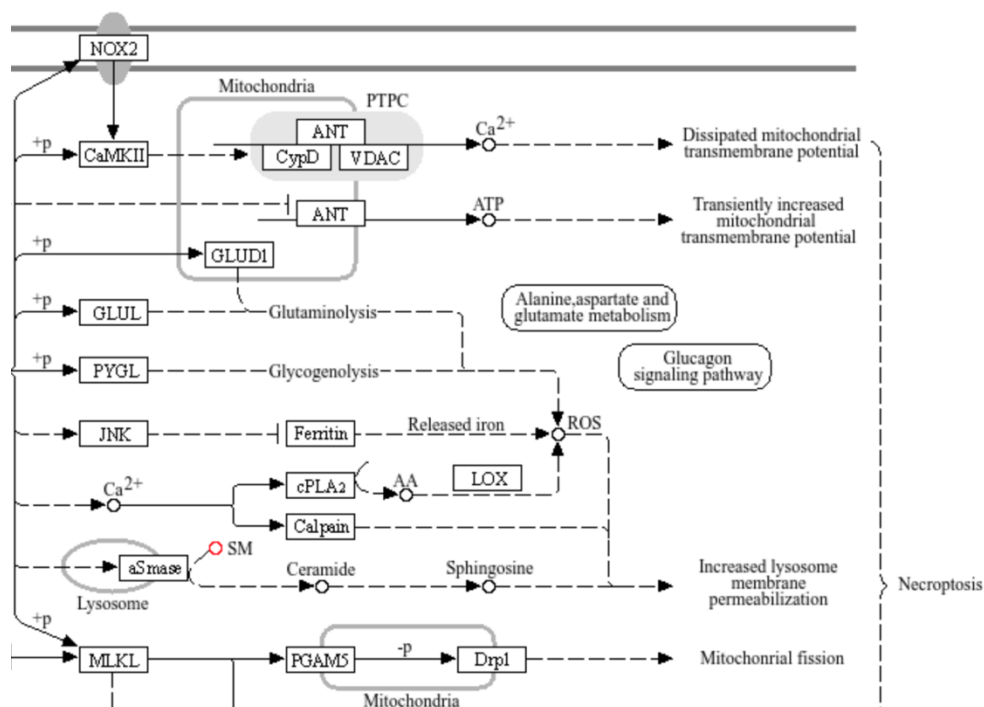


Figure 32 : Extrait du rôle de la sphingomyéline dans la nécroptose (KEGG).

Milhas, Delphine et al. (97) font en 2011 une revue de littérature concernant le métabolisme de la sphingomyéline. Comme suscité, lorsque l'on s'intéresse à la sphingomyéline, il est capital d'étudier les enzymes qui interagissent avec elle : la sphingomyélinase (SMase) et la sphingomyéline synthétase (SMS). De manière tout à fait pertinente, il existe différentes localisations de la sphingomyélinase : au niveau du lysosomale, au niveau du feuillet interne de la membrane plasmique ou dans le sérum (cf. **Figure 33**). Il existe aussi une possibilité de translocation de la SMase depuis le lysosome à la membrane plasmique avec pour conséquence une activité pro inflammatoire et pro apoptotique. Pour fonctionner normalement dans le lysosome, la SMase a besoin d'un pH acide. Il existe néanmoins une classe de SMase qui peut fonctionner à pH neutre. Cette SMase se situe au niveau de la membrane plasmique ou dans le sérum et palie au manque de pH acide grâce à des ions Mg^{2+} . Cette SMase neutre semble activer la voie Fas et TNF-Alpha. Elle joue aussi un rôle dans le processus inflammatoire en réponse à l'IL-1 β . Plus précisément, son activation renforce la signalisation de l'IL-1 β (cf. I.C.3.c) en empêchant la phosphorylation et l'ubiquitination d'IRAK-1 à travers la protéine phosphatase 2 (PP2A) (enzyme activée par les céramides comme suscité). De plus, l'activation de la SMase neutre induite par le TNF- α est impliquée dans l'induction de molécules d'adhésion aux cellules vasculaires (VCAM). *Kornhuber et al. (98)* détaillent le fonctionnement de la SMase sérique, mais il existe encore des zones d'ombre. On notera tout de même que son activité enzymatique est augmentée par certaines cytokines, la lysophosphatidyl choline (LPC) et le stress oxydatif.

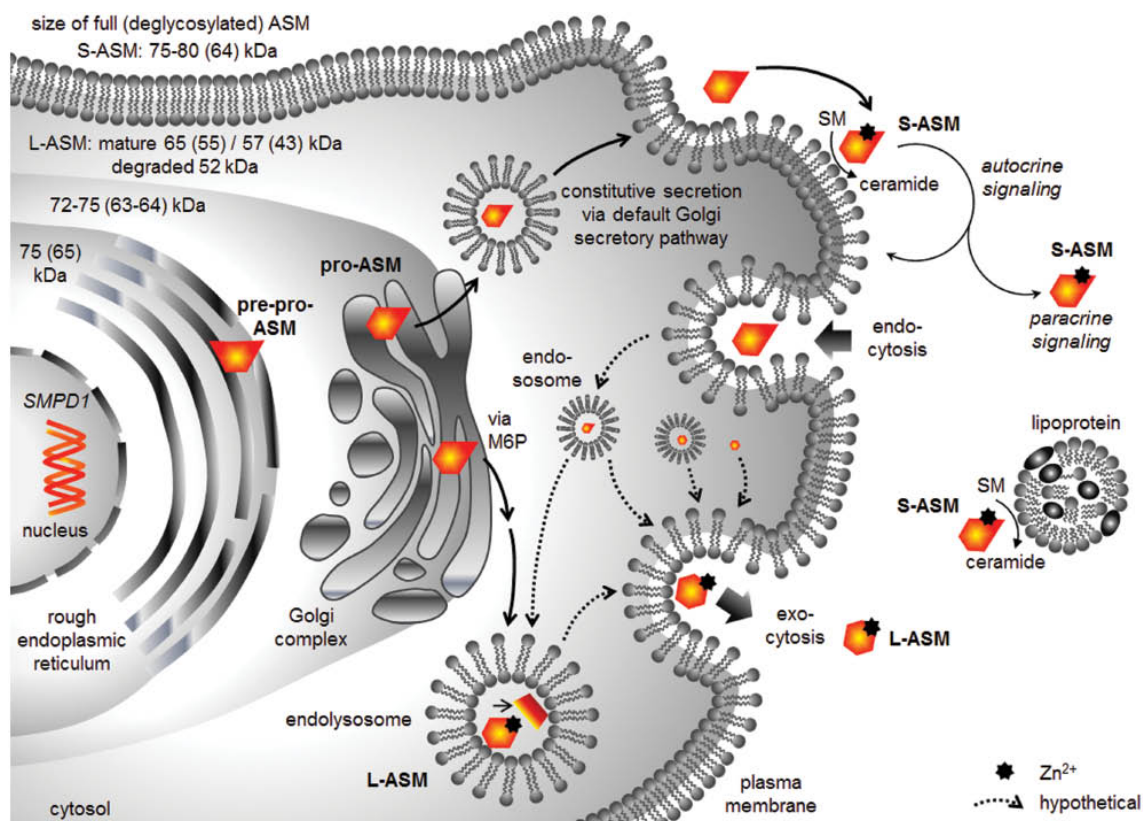


Figure 33 : Schéma détaillant la production et la translocation de la SMase (97).

De l'autre côté, la sphingomyéline synthéase (SMS) est exprimée au niveau du Golgi ou au niveau membranaire. Son rôle au niveau membranaire est mal connu et des études ont montré des résultats contradictoires avec soit un effet pro-apoptotique, soit un effet anti-apoptotique.

D'un point de vue clinique, à notre connaissance, il existe peu d'études chez l'humain mettant en lien le métabolisme des sphingolipides et les HIC.

Chez le rat, *Shen et al.* (99) ont mis en évidence un lien avec la voie du catabolisme des sphingolipides avec une approche multi-omics pour évaluer de potentiels biomarqueurs prédictifs de pronostique d'HIC. Les auteurs émettent l'hypothèse que l'accumulation de sphingolipides pourrait provoquer une production excessive de céramide et finalement contribuer à la neuroinflammation et induire l'apoptose des cellules dans l'HIC.

Dans une étude sur base de données finlandaise, *Huang et al.* (100) mettent en évidence un lien entre le métabolisme lipidique et le risque d'HIC. Les auteurs décrivent que des modifications de type « Single nucleotide polymorphisms » (SNP) dans les loci des gènes en lien avec le métabolisme de la sphingomyéline, des esters de stérol et de la phosphatidylcholine augmentent le risque d'HIC. Pour expliquer cette corrélation, les auteurs émettent l'hypothèse d'un lien

avec les voies de l'inflammation, en particulier via la protéine TRAIL (de la famille du TNF) et l'HGF (hepatic growth factor).

Dans une étude transcriptomique, comparant 4 patients ICH à 7 sujets sains, *Diao et al.* (101) mettent en évidence une surexpression de SphK1 (kinase phosphorylant les sphingosines en S1P). Les auteurs rappellent que la S1P est possiblement en lien avec la ferroptose (cf. I.C.3.b). Ils émettent l'hypothèse que la surexpression de SphK1 puisse favoriser l'inflammation. Pour mieux explorer cette piste, ils réalisent un modèle murin avec où ils inhibent l'activité de la SphK1 par des inhibiteurs chimiques de Sphk1 et des siRNA. Cette inhibition semble protéger contre la ferroptose et atténuer les lésions cérébrales chez la souris.

Comme le rappellent *Shao et al.* (102), des résultats prometteurs, bien que parfois contradictoires, ont abouti à de petits essais cliniques concernant de potentiels thérapeutiques agissant sur la voie de la S1P. Une étude murine avait mis en évidence un effet protecteur d'un agoniste de S1PR1. C'est dans ce contexte que le Fingolimod, un analogue de la S1P se liant sur S1PR1, 3, 4, et 5, a été étudié sur des modèles murins d'HIC. Pour rappel, le Fingolimod est un médicament qui a son AMM pour le traitement de la sclérose en plaque. Il a un effet immunosuppresseur sur les lymphocytes T via S1PR1. Sur une étude murine d'HIC, le Fingolimod a mis en évidence un effet neuroprotecteur. Malheureusement, une seconde étude murine d'HIC n'a pas permis de reproduire cet effet bénéfique. Malgré ces résultats divergents, en 2014, *Fu et al.* (103) mettent en évidence sur une étude pivot (23 patients HIC répartis en 2 bras : traitement et contrôle) un effet bénéfique du Fingolimod sur les HIC. Ils montrent une atténuation des déficits neurologiques, du volume de l'œdème péri-lésionnel et une amélioration du rétablissement. A notre connaissance, il n'y a pas eu d'autre étude de plus grande envergure concernant l'utilisation du Fingolimod en phase aiguë d'HIC.

La sphingomyéline a déjà montré son rôle dans d'autres pathologies neurologiques comme la maladie de Niemann-Pick ou la sclérose en plaque. Dans la maladie de Niemann-Pick, une inactivité enzymatique de la SMase entraîne une accumulation lysosomale de sphingomyéline dans différents organes, dont le cerveau. Dans la sclérose en plaque, il existe des arguments pour penser que l'augmentation de certaines cytokines comme le TNF- α activerait la SMase. Cette activation aboutirait à l'hydrolyse de la sphingomyéline en céramide, favorisant ainsi les voies de l'apoptose (104). Il a aussi été mis en évidence une association entre la concentration sérique de sphingomyéline et le risque coronarien athéromateux par *Clark Nelson et al.* (105).

Dans le domaine proche de l'hémorragie sous-arachnoïdienne, *Testai, Fernando D. et al.* ont mis en évidence une augmentation importante du taux de céramide dans le LCR des patients par rapport à des contrôles. De plus, cette augmentation était plus importante chez les patients présentant un vasospasme concomitant (106). Il a été mis en évidence chez le rat que l'ischémie cérébrale est associée à une augmentation des concentrations de céramide, résultat de l'activation de la SMase (107). *Zheng et al.* ont mis en évidence chez le chien que la céramide et la SMase neutre provoquent une vasoconstriction des artères cérébrales en augmentant la concentration intracellulaire de Ca^{2+} dans les cellules musculaires lisses des vaisseaux cérébraux (108). Pour finir, il a été démontré que la céramide active la cascade des caspases participant une fois de plus aux voies de l'apoptose (109).

En synthèse de cette section : en phase aiguë d'HIC, nous avons observé une tendance à la diminution des sphingomyélines sériques ; en particulier dans un sous-groupe spécifique qui reste à caractériser. En confrontant cette diminution aux données de la littérature suscités, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'il existe une augmentation de l'activité de la SMase sérique en réponse aux lésions tissulaires cérébrales. Cette suractivité entraînerait une augmentation du catabolisme de la sphingomyéline en céramide. Céramide qui pourrait participer à l'activation des voies de l'apoptose ou être métabolisé en sphingosine-1-phosphate (S1P), second messenger participant aux voies de l'inflammation telles que la voie NF- κ B. Pour confronter cette hypothèse, d'autres travaux sont nécessaires. Il serait pertinent d'évaluer, en phase aiguë d'HIC, l'activité de la SMase, la concentration des différents métabolites suscités (céramide, S1P) ainsi que les médiateurs des voies de signalisation d'aval. La SMase semble une cible thérapeutique pertinente, soit grâce un inhibiteur direct, soit à travers un inhibiteur de sa translocation du cytoplasme dans le sérum.

b) Le métabolisme des purines

En dehors des phospholipides, on pourra noter un signal métabolomique pertinent par rapport au métabolisme des purines : guanine, guanosine et inosine.

Dans notre cohorte, les patients HIC présentaient en moyenne une élévation conjointe de la guanine, de la guanosine et de l'inosine. Comme en témoigne la **Figure 34**, les voies métaboliques des purines sont complexes. Les purines sont des bases azotées essentielles aux acides nucléiques mais elles participent aussi aux voies de production énergétique via l'ATP. De plus, elles jouent un rôle clé dans la signalisation cellulaire et la régulation des processus métaboliques. Bien que *Xiao et al.* (110) mettent en évidence une atteinte du métabolisme des

purines à la phase aiguë de leur modèle murin d'HIC, les auteurs montrent une corrélation négative de ces métabolites (avec par exemple une diminution de la concentration de la guanine chez les souris HIC). En 2005, *Nakamura et al.* (111) ont mis en évidence une augmentation de l'oxydation de la guanine dans des modèles murins d'HIC. *Lorente et al.* (112) confirment ces résultats et prouvent que l'augmentation des produits de l'oxydation de la guanine est corrélée à une mortalité plus importante chez des patients HIC. Comme visible à droite de la **Figure 34**, l'adénosine peut être directement dégradée en inosine. *Zhai et al.* (113) ont mis en évidence une suractivation des récepteurs A1 à l'adénosine en phase initiale d'HIC sur des modèles murins. Les auteurs montrent que cette suractivation aboutit à une diminution de la mort neuronale et de l'œdème péri-lésionnel.

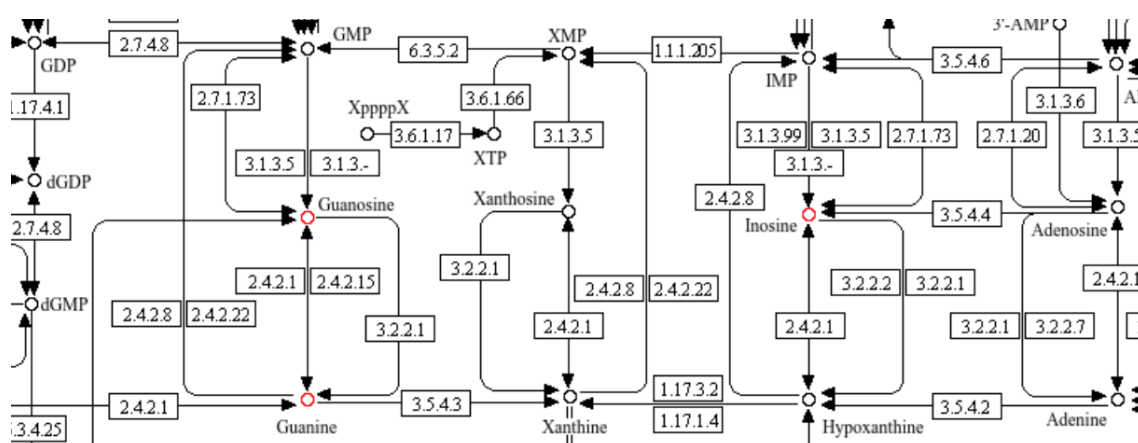


Figure 34 : Extrait des voies du métabolisme des purines (KEGG). Guanine, la guanosine et l'inosine visibles en rouge.

Au vu de l'ensemble de ces éléments, nous pouvons émettre plusieurs hypothèses pour expliquer l'augmentation des purines dans notre cohorte d'HIC : la conséquence direct du relargage dans le sérum de l'ADN intranucléaire des cellules détruites, les produits de dégradation de nombreux messagers cellulaires tels que l'AMP ou le GMP (conséquence de l'hyperactivité métabolique induite par l'HIC), les conséquence de l'activation de mécanismes de sauvegarde cellulaire ou un tout autre processus encore inconnu.

c) *Modèle diagnostique*

Contrairement à la découverte de la troponine dans l'infarctus du myocarde, la recherche d'un unique biomarqueur sérique spécifique et sensible aux HIC s'est révélée être un échec. Notre étude n'a pas fait exception, comme en témoignent les AUC modestes des différents métabolites pris isolément (cf. **Figure 22**). En effet, bien que l'AUC de la SM(36_1) soit bonne avec une

valeur à 0,826, nous pouvons constater sur la **Figure 16** qu'une grande proportion d'HIC semblent avoir une concentration de SM non franchement abaissée par rapport aux contrôles. Cette distinction met en avant deux sous-groupes d'HIC : ceux avec des concentrations de SM franchement diminuées et ceux avec des concentrations de SM intermédiaires. Nous avons essayé de trouver un marqueur clinique ou physiopathologique pouvant expliquer ces deux sous-groupes, en particulier nous avons exploré un possible lien avec l'étiologie de l'HIC. Comme visible **Figure 35**, l'interprétation des résultats est précaire en raison des petits effectifs dans chaque sous-groupe. Nous rappelons que c'est pour cette raison que nous n'avons pas pu réaliser d'analyse du profil métabolomique en fonction de l'étiologie de l'HIC (en particulier MAH versus AAC). De cette figure, il semble néanmoins possible d'extraire visuellement un signal : la concentration globale des SM semblerait plus faible dans les MAH que dans les AAC. Ce signal semble retrouver un écho dans l'étude de *Harshfield et al.* (55) qui ont montré une corrélation statistiquement significative entre biomarqueurs IRM de MPA et concentration de différentes sphingomyélines/céramides. De plus, comme il sera détaillé dans les sections suivantes, il ne semble pas y avoir de lien entre la concentration des sphingomyélines et la durée entre le début des symptômes, le volume de l'hématome ou le volume de l'œdème péri-lésionnel.

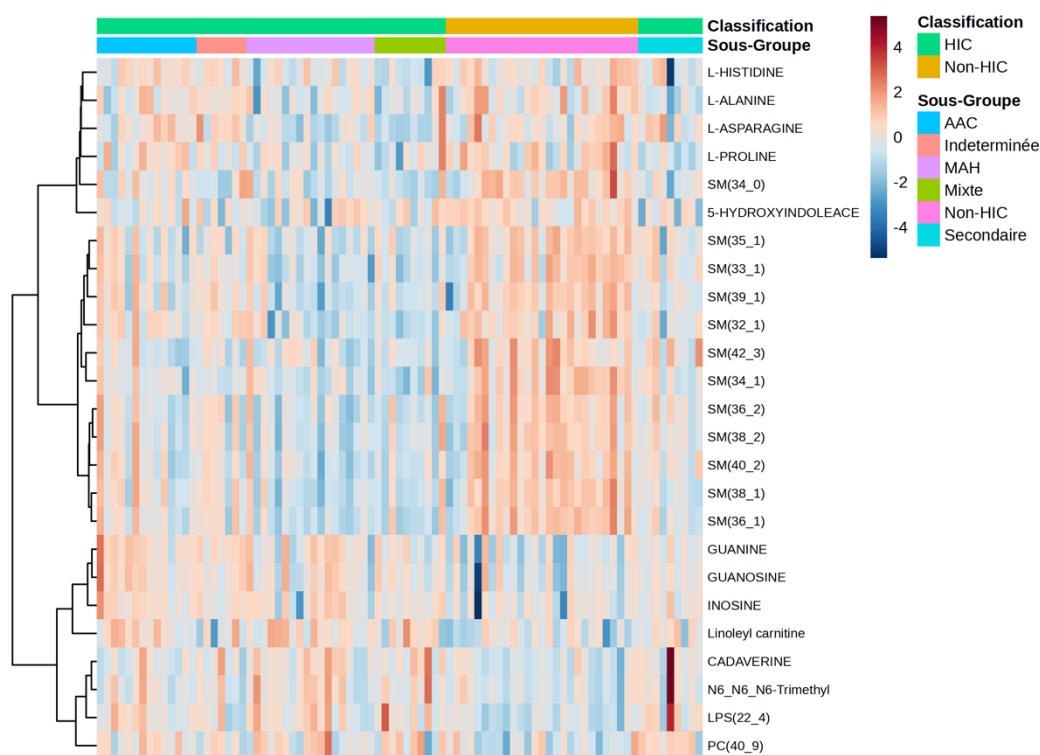


Figure 35 : Heatmap de clustering hiérarchique avec dendrogramme pour les métabolites pertinents. HIC versus Non-HIC en fonction de l'étiologie de l'HIC.

Pour confirmer ces résultats, une étude sur une plus grande population est nécessaire.

Pour améliorer les compétences de notre modèle diagnostique, nous avons décidé de sélectionner plusieurs métabolites afin de mieux capter les différentes dimensions de cette pathologie complexe. Afin de garder un objectif clinique, et pour éviter un overfitting, nous avons décidé de sélectionner le plus petit nombre de métabolites possible. Cette sélection a été faite dans le but de trouver, parmi chaque cluster métabolomique d'HIC (cf. **Figure 16**), et pour chaque groupe de métabolites covariants (cf. **Figure 15**) un unique métabolite discriminant. Nous avons donc ciblé les métabolites suivants : la SM(36_1), le LPS(22_4), la PC(40_9), la linoléyl carnitine, la guanine et le 5-hydroxyindolacétate. Comme mentionné ci-dessus, on retrouve la SM(36_1) qui est franchement diminuée dans environ la moitié des patients HIC. L'ajout d'autres métabolites permet de classifier les patients HIC avec des concentrations de SM(36_1) autour de la moyenne ou discrètement élevées (sous-groupe à droite dans la **Figure 16**). Par rapport au sous-groupe d'HIC avec une concentration abaissée de SM(36_1), on pourra remarquer que les patients HIC avec une concentration de SM(36_1) moyenne ou discrètement élevée présentent surtout une concentration élevée de LPS(22_4), de PC(40_9) et qu'ils présentent volontiers une concentration abaissée de 5-hydroxyindolacétate. Ayant déjà décrit la majeure partie des métabolites de notre modèle diagnostique dans la section 0 et b), nous allons ici détailler brièvement le rôle du 5-hydroxyindolacétate.

Le 5-hydroxyindolacétate (5-HIAA), ou acide 5-hydroxyindolacétique fait partie de la voie métabolique du tryptophane. Plus spécifiquement, c'est un métabolite de la dégradation de la sérotonine (5-HT). Comme visible sur la **Figure 36**, la 5-HT est dégradée en 5-hydroxyindolacétaldéhyde (5-HIAL) par la monoamine oxydase (MAO), puis la 5-HIAL est dégradée en 5-HIAA par une aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Nous émettons alors l'hypothèse que la diminution du 5-HIAA est la conséquence d'une diminution de la dégradation de la sérotonine. Bien que la physiopathologie de la sérotonine soit imparfaitement connue, son rôle semble certain dans la physiologie cardiovasculaire, gastro-intestinale et circulatoire. *Jonnakuty et al.* (114) décrivent, en dehors de son importance dans la physiopathologie psychiatrique, le rôle de la sérotonine dans la thrombogénèse (via la dégranulation plaquettaire) et son rôle dans la vasoréactivité artérielle. Historiquement, le dosage du 5-HIAA était utile pour le dépistage de tumeur neuroendocrine telle que le phéochromocytome (115). A notre connaissance, nous n'avons pas trouvé d'étude mettant en lien le 5-hydroxyindolacétate et l'HIC. Dans une ancienne étude de 1982, sur 26 patients ayant

présenté une rupture d'anévrisme, le dosage de la sérotonine dans le liquide cérébro-spinal n'était pas modifié entre patient et contrôle (116).

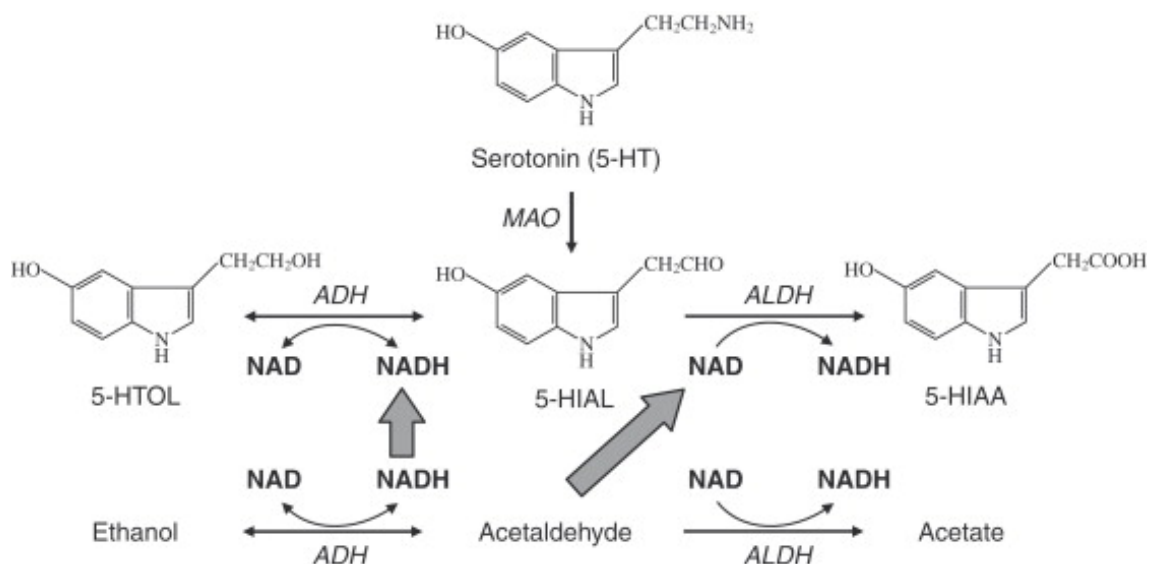


Figure 36 : Produits de dégradation de la sérotonine (5-HT). Figure de *Helander et al.* (117).

Pour conclure sur notre modèle diagnostique, il ne faut pas oublier que la majeure partie de ces dosages ne sont pas disponibles en routine clinique, encore moins dans des délais pertinents. L'imagerie cérébrale reste le gold standard diagnostique par sa rapidité et son accessibilité. Pour poursuivre les investigations dans ce domaine, il serait pertinent d'essayer de réaliser des dosages sériques dans des cohortes de plus grande ampleur, par exemple avec des kits commerciaux, comme il en existe pour le dosage des sphingomyélines.

2. Analyse secondaire : durée entre le début des symptômes

Comme visible dans le **Tableau 8**, la L-asparagine, la PC(28_0), la PC(30_0), la LPC(14_0) et l'adipoyl-L-carnitine sont les métabolites qui ont montré un signal concernant leur corrélation avec la durée entre le début des symptômes et le prélèvement. Nous rappelons que cette corrélation n'est pas statistiquement significative après correction par la méthode FDR. Nous pouvons alors conclure que cette corrélation est incertaine et d'intensité modeste.

Au vu de ces résultats, il semble raisonnable de conclure que les sphingomyélines ne sont pas des métabolites influencés par la durée entre le début des symptômes et le prélèvement (dans la limite de la phase hyperaigüe). De fait, la durée entre le début des symptômes et le prélèvement ne semble pas être le facteur discriminant entre les deux sous-groupes d'HIC : SM diminuées et SM intermédiaires.

S'il paraît évident que le métabolisme se modifie au cours de l'évolution de l'HIC, il est très probable que la temporalité des différentes phases mises en jeu soit plus importante. On notera par exemple, dans l'étude de *Mader et al.* (54) concernant le métabolisme de l'arginine dans le LCR des HIC avec dérivation ventriculo-péritonéale, que les délais de prélèvements étaient de 0 à 3 jours, de 4 à 7 jours et de 9 à 11 jours post HIC. De même, dans l'étude murine de *Hu et al.* (78) concernant les variations temporelles du métabolome sérique des HIC, les auteurs ont réalisé les prélèvements à 3 jours et 14 jours post HIC.

Pour finir, il est important de remarquer que le modèle OPLS-Regression utilisé pour sélectionner les métabolites pertinents présentait des paramètres prédictifs mauvais avec un RY^2 négatif (cf. Annexe VII.G). De fait, pour limiter au maximum les faux négatifs (métabolites statistiquement corrélés mais non mis en évidence par le modèle OPLS-Regression), nous avons complété notre analyse statistique par une corrélation de Spearman sur l'ensemble des 198 métabolites sans ajustement sur les facteurs de confusion. Les résultats, disponibles en Annexe VII.H pour les $p < 0.10$, ne mettent pas en évidence de corrélation statistiquement significative après correction par la méthode FDR. A nouveau, l'arginine n'a pas montré de pertinence avec une p valeur à 0,48.

3. Analyse secondaire : volume de l'hématome et de l'œdème

En intégrant les paramètres de volume dans l'analyse métabolomique multivariée, nous avons espéré mettre en évidence des métabolites nous renseignant spécifiquement sur les voies physiopathologiques mises en jeu dans la croissance de l'hématome et dans l'expansion de l'œdème péri-lésionnel. De plus, nous avons espéré que la signature métabolomique des patients avec de volumineuses HIC serait plus marquée ; permettant ainsi de mieux définir le métabolome de l'HIC.

Malheureusement, comme visible dans la section IV.C.3, les résultats sont globalement négatifs. Après ajustement pour les facteurs de confusion et correction pour les tests multiples par la méthode FDR, aucun métabolite n'a montré de corrélation avec le volume de l'hématome et seule la PC(38_6) a montré une corrélation statistiquement significative avec le volume de l'œdème péri-lésionnel.

Pareillement aux résultats de corrélations concernant la durée entre le début des symptômes et le prélèvement, les modèles OPLS-Regression de cette section avaient de mauvais paramètres avec des RY^2 négatifs (cf. Annexe VII.G). A nouveau, nous avons complété nos analyses

statistiques par une corrélation de Spearman sur l'ensemble des 198 métabolites sans ajustement sur les facteurs de confusion. Les résultats, disponibles en Annexe VII.I pour les $p < 0.10$, ne mettent pas en évidence de corrélation statistiquement significative après correction par la méthode FDR. Une exception faite concernant la corrélation entre la créatine et le volume de l'œdème péri-lésionnel. Cette corrélation est à pondérer étant donné qu'elle semble le reflet d'un biais de confusions. En effet, d'après les **Tableau 11** et **Tableau 12**, la créatine perd sa corrélation lors de l'ajustement multivarié pour les facteurs de confusion.

De manière intéressante, on pourra noter que les SM ne semblent pas en lien avec l'œdème péri-lésionnel. A nouveau, nous pouvons supposer que le volume de l'hématome et de l'œdème péri-lésionnel ne sont pas des critères discriminants pour expliquer la différence entre le groupe d'HIC avec des SM diminuées et le groupe d'HIC avec des SM intermédiaires. Ces résultats pourraient nous amener à émettre l'hypothèse que le rôle des SM est plutôt en rapport avec les voies apoptiques qu'avec celles de l'inflammation.

En réalité, il existe aussi une autre hypothèse moins probable : le fait que les SM ne soient pas le reflet direct de l'HIC mais plutôt de la pathologie chronique sous-jacente. Cette hypothèse semble peu probable au vu des résultats de l'analyse principale car nos patients contrôles sont porteurs d'une MPA visible sur l'IRM cérébrale. Il est néanmoins possible que les mécanismes moléculaires physiopathologiques mis en jeu dans les MPA aboutissant aux HIC soient différents de ceux mis en jeu dans les MPA qui n'aboutiront jamais à une HIC. Dans cette situation, il serait tout de même difficile d'expliquer pourquoi *Harshfield et al.* (55) mettent en évidence une corrélation entre SM et biomarqueur IRM de MPA chez des patients sans HIC.

D. Forces et limites

Cette étude présente plusieurs limites : 1 – Étant donné le choix d'exclure les décès précoces, notre faible nombre de patients entraîne un manque de puissance, en particulier pour les analyses secondaires et les analyses de sous-groupes. Ce petit effectif pourrait expliquer les capacités de notre modèle à mettre en évidence des différences statistiquement significatives dans les analyses secondaires. De plus, il est d'autant plus difficile de séparer la cohorte en deux groupes : un groupe d'apprentissage pour le modèle et un groupe de validation pour le modèle. 2 – Étude monocentrique avec biais de recrutement. 3 – Ce projet est un premier travail collaboratif pour notre équipe, il existe donc des risques d'erreur méthodologique.

Concernant les forces de notre étude : 1 – Cohorte multiniveau avec un bon phénotypage clinique et radiologique grâce à la réalisation, dans les 72 h après le début des symptômes, d'une IRM multimodale systématique pour tous les patients présentant une HIC. 2 – Enrôlement prospectif systématique de tous les patients acceptés en alerte AVC limitant le biais de sélection. 3 – Groupe contrôle adapté pour la création d'un modèle diagnostique : patients pris en charge en alerte AVC. 4 – Méthode statistique rigoureuse et discriminante permettant de sélectionner précisément les métabolites d'intérêts. 5 – A notre connaissance, première étude métabolomique sérique humaine dans la phase hyperaigüe de l'AVC hémorragique dans une population caucasienne. A ce jour, les rares études de métabolomiques dans l'HIC chez l'homme ont été réalisées en Asie où l'on sait que le génotype des patients est différent. En particulier, il existe un réel impact clinique à cette différence car l'incidence des HIC spontanées est bien plus importante dans les populations asiatiques que dans celles caucasiennes.

V. Conclusion

Dans cette étude prospective monocentrique, « proof of concept », nous avons décrit le métabolome sérique des patients HIC en phase hyperaigüe. Nous avons mis en évidence 23 métabolites pertinents avec une différence statistiquement significative après correction pour les tests multiples par la méthode FDR. Nous n'avons pas mis en évidence de métabolites statistiquement corrélés au volume de l'hématome et à celui de l'œdème péri-lésionnel, mais cela pourrait être dû à un manque de puissance. Les sphingomyélines semblent avoir une part prépondérante dans la signature métabolomique des patients HIC en phase hyperaigüe. Métabolisés en céramide ou en sphingosine-1-phosphate, les sphingomyélines pourraient participer aux voies de l'apoptose ou à celles de l'inflammation. D'après nos résultats, la sphingomyélinase pourrait être une nouvelle cible thérapeutique à explorer. Pour confirmer ces résultats, il est nécessaire de renouveler ces analyses sur une cohorte multicentrique de plus grande ampleur. Afin de mieux caractériser le rôle précis des sphingomyélines en phase hyperaigüe d'HIC, une approche combinée, dite « multi-omics » (génomique, transcriptomique, protéomique et métabolomique), permettra de décrire l'ensemble des voies physiopathologiques impliquées.

VI. Bibliographies

1. Feigin VL, Stark BA, Johnson CO, Roth GA, Bisignano C, Abady GG, et al. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Neurol.* oct 2021;20(10):795-820.
2. Anderson CS, Heeley E, Huang Y, Wang J, Stapf C, Delcourt C, et al. Rapid Blood-Pressure Lowering in Patients with Acute Intracerebral Hemorrhage. *N Engl J Med.* 20 juin 2013;368(25):2355-65.
3. Becker KJ, Baxter AB, Cohen WA, Bybee HM, Tirschwell DL, Newell DW, et al. Withdrawal of support in intracerebral hemorrhage may lead to self-fulfilling prophecies. *Neurology.* 27 mars 2001;56(6):766-72.
4. Parry-Jones AR, Sammut-Powell C, Paroutoglou K, Birleson E, Rowland J, Lee S, et al. An Intracerebral Hemorrhage Care Bundle Is Associated with Lower Case Fatality. *Ann Neurol.* 2019;86(4):495-503.
5. Ma L, Hu X, Song L, Chen X, Ouyang M, Billot L, et al. The third Intensive Care Bundle with Blood Pressure Reduction in Acute Cerebral Haemorrhage Trial (INTERACT3): an international, stepped wedge cluster randomised controlled trial. *The Lancet.* 1 juill 2023;402(10395):27-40.
6. Pasi M, Casolla B, Kyheng M, Boulouis G, Kuchcinski G, Moulin S, et al. Long-term functional decline of spontaneous intracerebral haemorrhage survivors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* mars 2021;92(3):249-54.
7. Pasi M, Sugita L, Xiong L, Charidimou A, Boulouis G, Pongpitakmetha T, et al. Association of Cerebral Small Vessel Disease and Cognitive Decline After Intracerebral Hemorrhage. *Neurology.* 12 janv 2021;96(2):e182-92.
8. Grinberg LT, Thal DR. Vascular pathology in the aged human brain. *Acta Neuropathol (Berl).* 2010;119(3):277-90.
9. Puy L, Parry-Jones AR, Sandset EC, Dowlatshahi D, Ziai W, Cordonnier C. Intracerebral haemorrhage. *Nat Rev Dis Primer.* 16 mars 2023;9(1):1-18.
10. Magid-Bernstein J, Girard R, Polster S, Srinath A, Romanos S, Awad IA, et al. Cerebral Hemorrhage: Pathophysiology, Treatment, and Future Directions. *Circ Res.* 15 avr 2022;130(8):1204-29.
11. Charidimou A, Boulouis G, Gurol ME, Ayata C, Bacskai BJ, Frosch MP, et al. Emerging concepts in sporadic cerebral amyloid angiopathy. *Brain.* 1 juill 2017;140(7):1829-50.
12. Koemans EA, Chhatwal JP, Veluw SJ van, Etten ES van, Osch MJP van, Walderveen MAA van, et al. Progression of cerebral amyloid angiopathy: a pathophysiological framework. *Lancet Neurol.* 1 juill 2023;22(7):632-42.
13. Cannistraro RJ, Badi M, Eidelman BH, Dickson DW, Middlebrooks EH, Meschia JF. CNS small vessel disease. *Neurology.* 11 juin 2019;92(24):1146-56.
14. Charidimou A, Boulouis G, Frosch MP, Baron JC, Pasi M, Albucher JF, et al. The Boston criteria version 2.0 for cerebral amyloid angiopathy: a multicentre, retrospective, MRI–neuropathology diagnostic accuracy study. *Lancet Neurol.* août 2022;21(8):714-25.
15. Fischer U, Cooney MT, Bull LM, Silver LE, Chalmers J, Anderson CS, et al. Acute post-stroke blood pressure relative to premorbid levels in intracerebral haemorrhage versus major ischaemic stroke: a population-based study. *Lancet Neurol.* avr 2014;13(4):374-84.
16. Shi K, Tian DC, Li ZG, Ducruet AF, Lawton MT, Shi FD. Global brain inflammation in stroke. *Lancet Neurol.* nov 2019;18(11):1058-66.
17. Tschoe C, Bushnell CD, Duncan PW, Alexander-Miller MA, Wolfe SQ. Neuroinflammation after Intracerebral Hemorrhage and Potential Therapeutic Targets. *J Stroke.* janv 2020;22(1):29-46.

18. Pongvarin Nippon, Bhoopat Wiyada, Viriyavejakul Adulya, Rodprasert Prakit, Buranasiri Panya, Sukondhabhant Sombut, et al. Effects of Dexamethasone in Primary Supratentorial Intracerebral Hemorrhage. *N Engl J Med*. 14 mai 1987;316(20):1229-33.
19. Chen S, Yang Q, Chen G, Zhang JH. An Update on Inflammation in the Acute Phase of Intracerebral Hemorrhage. *Transl Stroke Res*. févr 2015;6(1):4-8.
20. Keep RF, Hua Y, Xi G. Intracerebral haemorrhage: mechanisms of injury and therapeutic targets. *Lancet Neurol*. août 2012;11(8):10.1016/S1474-4422(12)70104-7.
21. Babu R, Bagley JH, Di C, Friedman AH, Adamson C. Thrombin and hemin as central factors in the mechanisms of intracerebral hemorrhage-induced secondary brain injury and as potential targets for intervention. *Neurosurg Focus*. avr 2012;32(4):E8.
22. Ye F, Garton HJL, Hua Y, Keep RF, Xi G. The Role of Thrombin in Brain Injury After Hemorrhagic and Ischemic Stroke. *Transl Stroke Res*. 1 juin 2021;12(3):496-511.
23. Burzynski LC, Humphry M, Pyrrillou K, Wiggins KA, Chan JNE, Figg N, et al. The Coagulation and Immune Systems Are Directly Linked through the Activation of Interleukin-1 α by Thrombin. *Immunity*. 16 avr 2019;50(4):1033-1042.e6.
24. Posma JJN, Posthuma JJ, Spronk HMH. Coagulation and non-coagulation effects of thrombin. *J Thromb Haemost*. 1 oct 2016;14(10):1908-16.
25. Aronowski J, Zhao X. Molecular Pathophysiology of Cerebral Hemorrhage. *Stroke*. juin 2011;42(6):1781-6.
26. Wang J, Doré S. Heme oxygenase-1 exacerbates early brain injury after intracerebral haemorrhage. *Brain*. 1 juin 2007;130(6):1643-52.
27. Wang J, Doré S. Heme oxygenase 2 deficiency increases brain swelling and inflammation after intracerebral hemorrhage. *Neuroscience*. 9 sept 2008;155(4):1133-41.
28. Wagner I, Volbers B, Kloska S, Doerfler A, Schwab S, Staykov D. Sex differences in perihemorrhagic edema evolution after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Eur J Neurol*. 2012;19(11):1477-81.
29. Nakamura T, Hua Y, Keep RF, Park JW, Xi G, Hoff JT. Estrogen therapy for experimental intracerebral hemorrhage in rats. *J Neurosurg*. juill 2005;103(1):97-103.
30. Weber A, Wasiliew P, Kracht M. Interleukin-1 (IL-1) Pathway. *Sci Signal*. 19 janv 2010;3(105):cm1-cm1.
31. Frenay J, Bellaye PS, Oudot A, Helbling A, Petitot C, Ferrand C, et al. IL-1RAP, a Key Therapeutic Target in Cancer. *Int J Mol Sci*. janv 2022;23(23):14918.
32. Loan JJ, Kirby C, Emelianova K, Dando OR, Poon MT, Pimenova L, et al. Secondary injury and inflammation after intracerebral haemorrhage: a systematic review and meta-analysis of molecular markers in patient brain tissue. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. févr 2022;93(2):126-32.
33. Ye L, Gao L, Cheng H. Inflammatory Profiles of the Interleukin Family and Network in Cerebral Hemorrhage. *Cell Mol Neurobiol*. oct 2018;38(7):1321-33.
34. Parry-Jones AR, Stocking K, MacLeod MJ, Clarke B, Werring DJ, Muir KW, et al. Phase II randomised, placebo-controlled, clinical trial of interleukin-1 receptor antagonist in intracerebral haemorrhage: BLOcking the Cytokine IL-1 in ICH (BLOC-ICH). *Eur Stroke J*. sept 2023;8(3):819.
35. Guo Q, Jin Y, Chen X, Ye X, Shen X, Lin M, et al. NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications. *Signal Transduct Target Ther*. 4 mars 2024;9(1):1-37.
36. Ma R. Role of nuclear factor κ B in the central nervous system. *Pharmacol Rep*. 2007;
37. Lawrence T. The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 12 janv 2009;1(6):a001651.
38. Aronowski J, Hall CE. New Horizons for Primary Intracerebral Hemorrhage Treatment: Experience From Preclinical Studies. *Neurol Res*. avr 2005;27(3):268-79.

39. Wagner KR, Sharp FR, Ardizzone TD, Lu A, Clark JF. Heme and iron metabolism: role in cerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. juin 2003;23(6):629-52.
40. Lattanzi S, Di Napoli M, Ricci S, Divani AA. Matrix Metalloproteinases in Acute Intracerebral Hemorrhage. *Neurotherapeutics*. 1 avr 2020;17(2):484-96.
41. Castellazzi M, Tamborino C, De Santis G, Garofano F, Lupato A, Ramponi V, et al. Timing of serum active MMP-9 and MMP-2 levels in acute and subacute phases after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2010;106:137-40.
42. Howe MD, Furr JW, Zhu L, Edwards NJ, McCullough LD, Gonzales NR. Sex-specific Association of Matrix Metalloproteinases with Secondary Injury and Outcomes after Intracerebral Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc*. juin 2019;28(6):1718-25.
43. Hernandez-Guillamon M, Martinez-Saez E, Delgado P, Domingues-Montanari S, Boada C, Penalba A, et al. MMP-2/MMP-9 Plasma Level and Brain Expression in Cerebral Amyloid Angiopathy-Associated Hemorrhagic Stroke. *Brain Pathol*. 2012;22(2):133-41.
44. Graham SF, Chevallier OP, Roberts D, Hölscher C, Elliott CT, Green BD. Investigation of the Human Brain Metabolome to Identify Potential Markers for Early Diagnosis and Therapeutic Targets of Alzheimer's Disease. *Anal Chem*. 5 févr 2013;85(3):1803-11.
45. Ali SE, Farag MA, Holvoet P, Hanafi RS, Gad MZ. A Comparative Metabolomics Approach Reveals Early Biomarkers for Metabolic Response to Acute Myocardial Infarction. *Sci Rep*. 8 nov 2016;6(1):36359.
46. Fan Y, Li Y, Chen Y, Zhao YJ, Liu LW, Li J, et al. Comprehensive Metabolomic Characterization of Coronary Artery Diseases. *J Am Coll Cardiol*. sept 2016;68(12):1281-93.
47. Song L, Chen C, Chen X, Guo Y, Liu F, Lin Y, et al. INTensive ambulance-delivered blood pressure Reduction in hyper-ACute stroke Trial (INTERACT4): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 6 déc 2021;22(1):885.
48. Fischer U, Fung C, Beyeler S, Bütikofer L, Z'Graggen W, Ringel F, et al. Swiss trial of decompressive craniectomy versus best medical treatment of spontaneous supratentorial intracerebral haemorrhage (SWITCH): an international, multicentre, randomised-controlled, two-arm, assessor-blinded trial. *Eur Stroke J*. 12 févr 2024;23969873241231047.
49. Zhang X, Li Y, Liang Y, Sun P, Wu X, Song J, et al. Distinguishing Intracerebral Hemorrhage from Acute Cerebral Infarction through Metabolomics. *Rev Investig Clinica*. 28 nov 2017;69(6):305.
50. Zhang J, Su X, Qi A, Liu L, Zhang L, Zhong Y, et al. Metabolomic profiling of fatty acid biomarkers for intracerebral hemorrhage stroke. *Talanta*. janv 2021;222:121679.
51. Sun G, Jiang F, Hu S, Cheng H, Qu L, Tao Y, et al. Metabolomic analysis reveals potential biomarkers and serum metabolomic profiling in spontaneous intracerebral hemorrhage patients using UPLC/quadrupole time-of-flight MS. *Biomed Chromatogr BMC*. janv 2022;36(1):e5241.
52. Kim M, Jung S, Lee SH, Lee JH. Association between Arterial Stiffness and Serum L-Octanoylcarnitine and Lactosylceramide in Overweight Middle-Aged Subjects: 3-Year Follow-Up Study. *PLOS ONE*. 17 mars 2015;10(3):e0119519.
53. Cui H, Wei Z min, Cai J fang, Li Y, Fan L, Hu Y xin, et al. [Prevalence of hypertension and glucose/lipid metabolism disorders in 4960 inpatients with chronic obstructive pulmonary disease during 2000-2010]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 1 sept 2011;31(9):1498-503.
54. Mader MM, Böger R, Appel D, Schwedhelm E, Haddad M, Mohme M, et al. Intrathecal and systemic alterations of L-arginine metabolism in patients after intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 août 2021;41(8):1964-77.
55. Harshfield EL, Sands CJ, Tuladhar AM, de Leeuw FE, Lewis MR, Markus HS. Metabolomic profiling in small vessel disease identifies multiple associations with disease

severity. *Brain J Neurol*. 7 févr 2022;awac041.

56. You Q, Peng Q, Yu Z, Jin H, Zhang J, Sun W, et al. Plasma lipidomic analysis of sphingolipids in patients with large artery atherosclerosis cerebrovascular disease and cerebral small vessel disease. *Biosci Rep*. 30 sept 2020;40(9):BSR20201519.

57. Ighodaro ET, Graff-Radford J, Syrjanen JA, Bui HH, Petersen RC, Knopman DS, et al. Associations Between Plasma Ceramides and Cerebral Microbleeds or Lacunes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. nov 2020;40(11):2785-93.

58. Capodivento G, De Michelis C, Carpo M, Fancellu R, Schirinzi E, Severi D, et al. CSF sphingomyelin: a new biomarker of demyelination in the diagnosis and management of CIDP and GBS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. mars 2021;92(3):303-10.

59. Lemaitre RN, Jensen PN, Hoofnagle A, McKnight B, Fretts AM, King IB, et al. Plasma Ceramides and Sphingomyelins in Relation to Heart Failure Risk. *Circ Heart Fail*. juill 2019;12(7):e005708.

60. Langley RJ, Tsalik EL, Velkinburgh JC van, Glickman SW, Rice BJ, Wang C, et al. An Integrated Clinico-Metabolomic Model Improves Prediction of Death in Sepsis. *Sci Transl Med*. 24 juill 2013;5(195):195ra95-195ra95.

61. Steuer AE, Wartmann Y, Schellenberg R, Mantiniéks D, Glowacki LL, Gerostamoulos D, et al. Postmortem metabolomics: influence of time since death on the level of endogenous compounds in human femoral blood. Necessary to be considered in metabolome study planning? *Metabolomics*. 9 mai 2024;20(3):51.

62. Rogers AJ, McGeachie M, Baron RM, Gazourian L, Haspel JA, Nakahira K, et al. Metabolomic Derangements Are Associated with Mortality in Critically Ill Adult Patients. *PLOS ONE*. 30 janv 2014;9(1):e87538.

63. Charidimou A, Schmitt A, Wilson D, Yakushiji Y, Gregoire SM, Fox Z, et al. The Cerebral Haemorrhage Anatomical RaTing inStrument (CHARTS): Development and assessment of reliability. *J Neurol Sci*. 15 janv 2017;372:178-83.

64. Duering M, Biessels GJ, Brodtmann A, Chen C, Cordonnier C, de Leeuw FE, et al. Neuroimaging standards for research into small vessel disease-advances since 2013. *Lancet Neurol*. juill 2023;22(7):602-18.

65. Goeldlin MB, Mueller M, Siepen BM, Zhang W, Ozkan H, Locatelli M, et al. Cadmus. *Neurology*. 9 janv 2024;102(1):e207977.

66. Blasco H, Bessy C, Plantier L, Lefevre A, Piver E, Bernard L, et al. The specific metabolome profiling of patients infected by SARS-COV-2 supports the key role of tryptophan-nicotinamide pathway and cytosine metabolism. *Sci Rep*. 8 oct 2020;10(1):16824.

67. Sprügel MI, Kuramatsu JB, Volbers B, Gerner ST, Sembill JA, Madžar D, et al. Perihemorrhagic edema. *Neurology*. 17 sept 2019;93(12):e1159-70.

68. Tokarz J, Adamski J. Confounders in metabolomics. In: *Metabolomics for Biomedical Research* [Internet]. Elsevier; 2020 [cité 31 janv 2023]. p. 17-32. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128127841000025>

69. An SJ, Kim TJ, Yoon BW. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Features of Intracerebral Hemorrhage: An Update. *J Stroke*. janv 2017;19(1):3-10.

70. Goyal N, Tsivgoulis G, Male S, Metter EJ, Iftikhar S, Kerro A, et al. Fabs. *Stroke*. sept 2016;47(9):2216-20.

71. Liberman AL, Prabhakaran S. Stroke Chameleons and Stroke Mimics in the Emergency Department. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 22 févr 2017;17(2):15.

72. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *The Lancet*. 10 juill 2010;376(9735):112-23.

73. He J, Whelton PK, Vu B, Klag MJ. Aspirin and risk of hemorrhagic stroke: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 9 déc 1998;280(22):1930-5.

74. Anderson CS, Heeley E, Huang Y, Wang J, Stapf C, Delcourt C, et al. Rapid blood-pressure lowering in patients with acute intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med*. 20 juin 2013;368(25):2355-65.
75. Mustanoja S, Strbian D, Putaala J, Meretoja A, Curtze S, Haapaniemi E, et al. Association of Prestroke Statin Use and Lipid Levels With Outcome of Intracerebral Hemorrhage. *Stroke*. août 2013;44(8):2330-2.
76. Kofink D, Eppinga RN, van Gilst WH, Bakker SJL, Dullaart RPF, van der Harst P, et al. Statin Effects on Metabolic Profiles. *Circ Cardiovasc Genet*. déc 2017;10(6):e001759.
77. Biffi A, Greenberg SM. Cerebral Amyloid Angiopathy: A Systematic Review. *J Clin Neurol Seoul Korea*. mars 2011;7(1):1-9.
78. Hu E, Ding R, Li T, Li P, Feng D, Hu W, et al. Temporal metabolomic alteration in rat brains of experimental intracerebral hemorrhage. *Brain Res Bull*. mai 2021;170:234-45.
79. Boulouis G, van Etten ES, Charidimou A, Auriel E, Morotti A, Pasi M, et al. Association of Key Magnetic Resonance Imaging Markers of Cerebral Small Vessel Disease With Hematoma Volume and Expansion in Patients With Lobar and Deep Intracerebral Hemorrhage. *JAMA Neurol*. 1 déc 2016;73(12):1440-7.
80. Smith EE, Nandigam KRN, Chen YW, Jeng J, Salat D, Halpin A, et al. MRI Markers of Small Vessel Disease in Lobar and Deep Hemispheric Intracerebral Hemorrhage. *Stroke*. sept 2010;41(9):1933-8.
81. Lioutas VA, Wu B, Norton C, Helenius J, Modak J, Selim M. Cerebral small vessel disease burden and functional and radiographic outcomes in intracerebral hemorrhage. *J Neurol*. 1 déc 2018;265(12):2803-14.
82. Posener S, Hmeydia G, Benzakoun J, Oppenheim C, Baron JC, Turc G. Remote Diffusion-Weighted Imaging Lesions and Intracerebral Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Stroke*. avr 2023;54(4):e133-7.
83. Huhndorf M, Röcken C, Flüh C, Weiler C, Kuhlenbäumer G, Tegeler N, et al. Frequency of deep-seated cerebral microbleeds in patients with lobar hemorrhages and histopathological evidence for cerebral amyloid angiopathy. *Front Neurol*. 2023;14:1146737.
84. Schwarz G, Banerjee G, Hostettler IC, Ambler G, Seiffge DJ, Brookes TS, et al. Magnetic resonance imaging-based scores of small vessel diseases: Associations with intracerebral haemorrhage location. *J Neurol Sci*. 15 mars 2022;434:120165.
85. Smith EE, Eichler F. Cerebral Amyloid Angiopathy and Lobar Intracerebral Hemorrhage. *Arch Neurol*. 1 janv 2006;63(1):148-51.
86. Litak J, Mazurek M, Kulesza B, Szmygin P, Litak J, Kamieniak P, et al. Cerebral Small Vessel Disease. *Int J Mol Sci*. janv 2020;21(24):9729.
87. Wishart DS, Guo A, Oler E, Wang F, Anjum A, Peters H, et al. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. *Nucleic Acids Res*. 7 janv 2022;50(D1):D622-31.
88. Sun N, Keep RF, Hua Y, Xi G. Critical role of the sphingolipid pathway in stroke: a review of current utility and potential therapeutic targets. *Transl Stroke Res*. oct 2016;7(5):420-38.
89. Omi J, Kano K, Aoki J. Current Knowledge on the Biology of Lysophosphatidylserine as an Emerging Bioactive Lipid. *Cell Biochem Biophys*. 1 sept 2021;79(3):497-508.
90. van der Veen JN, Kennelly JP, Wan S, Vance JE, Vance DE, Jacobs RL. The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr*. 1 sept 2017;1859(9, Part B):1558-72.
91. Li H, Zhang L, Yin D, Zhang Y, Miao J. Targeting Phosphatidylcholine-Specific Phospholipase C for Atherogenesis Therapy. *Trends Cardiovasc Med*. 1 juill 2010;20(5):172-6.
92. Wang S, Zou X, Wang L, Zhou H, Wu L, Zhang Y, et al. Potential preventive markers in the intracerebral hemorrhage process are revealed by serum untargeted metabolomics in mice using hypertensive cerebral microbleeds. *Front Endocrinol*. 2023;14:1084858.

93. Li B, Li H, Wang Z, Wang Y, Gao A, Cui Y, et al. Evidence for the role of phosphatidylcholine-specific phospholipase in experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Exp Neurol*. 1 oct 2015;272:145-51.
94. Clark W, Gunion-Rinker L, Lessov N, Hazel K. Citicoline Treatment for Experimental Intracerebral Hemorrhage in Mice. *Stroke*. oct 1998;29(10):2136-40.
95. Siraj K, Tesema T, Alvi N. Supported Bilayer Lipid Membrane: A Review. *J Chem Appl Biochem*. 1 janv 2014;1:102.
96. Moon-Taek Park. Phytosphingosine Induces Apoptotic Cell Death via Caspase 8 Activation and Bax Translocation in Human Cancer Cells1. *Clin Cancer Res*. 2003;
97. Milhas D, Clarke CJ, Hannun YA. Sphingomyelin Metabolism at the Plasma Membrane: Implications for Bioactive Sphingolipids. *FEBS Lett*. 3 mai 2010;584(9):1887-94.
98. Kornhuber J, Rhein C, Müller CP, Mühle C. Secretory sphingomyelinase in health and disease. *Biol Chem*. 1 juin 2015;396(6-7):707-36.
99. Shen Y, Yang W, Xiong X, Li X, Xiao Z, Yu J, et al. Integrated Multiomics Analysis Identifies a Novel Biomarker Associated with Prognosis in Intracerebral Hemorrhage. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021(1):2510847.
100. Huang M, Liu Y, Cheng Y, Dai W. Role of inflammatory biomarkers in mediating the effect of lipids on spontaneous intracerebral hemorrhage: a two-step, two-sample Mendelian randomization study. *Front Neurol*. 2024;15:1411555.
101. Diao X, Cui Q, Tian N, Zhou Z, Xiang W, Jiang Y, et al. Hemorrhage-Induced Sphingosine Kinase 1 Contributes to Ferroptosis-Mediated Secondary Brain Injury in Intracerebral Hemorrhage. *Mol Neurobiol*. 1 mars 2022;59(3):1381-97.
102. Shao A, Zhu Z, Li L, Zhang S, Zhang J. Emerging therapeutic targets associated with the immune system in patients with intracerebral haemorrhage (ICH): From mechanisms to translation. *eBioMedicine*. 1 juill 2019;45:615-23.
103. Fu Y, Hao J, Zhang N, Ren L, Sun N, Li YJ, et al. Fingolimod for the Treatment of Intracerebral Hemorrhage: A 2-Arm Proof-of-Concept Study. *JAMA Neurol*. 1 sept 2014;71(9):1092-101.
104. Qin J, Berdyshev E, Goya J, Natarajan V, Dawson G. Neurons and Oligodendrocytes Recycle Sphingosine 1-Phosphate to Ceramide: SIGNIFICANCE FOR APOPTOSIS AND MULTIPLE SCLEROSIS *. *J Biol Chem*. 7 mai 2010;285(19):14134-43.
105. Nelson JC, Jiang XC, Tabas I, Tall A, Shea S. Plasma Sphingomyelin and Subclinical Atherosclerosis: Findings from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Epidemiol*. 15 mai 2006;163(10):903-12.
106. Testai FD, Hillmann M, Amin-Hanjani S, Gorshkova I, Berdyshev E, Gorelick PB, et al. Changes in the Cerebrospinal Fluid Ceramide Profile After Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*. août 2012;43(8):2066-70.
107. Takahashi K, Ginis I, Nishioka R, Klimanis D, Barone FC, White RF, et al. Glucosylceramide synthase activity and ceramide levels are modulated during cerebral ischemia after ischemic preconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. juin 2004;24(6):623-7.
108. Zheng T, Li W, Wang J, Altura BT, Altura BM. Sphingomyelinase and ceramide analogs induce contraction and rises in $[Ca^{2+}]_i$ in canine cerebral vascular muscle. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. mai 2000;278(5):H1421-8.
109. Kilkus J, Goswami R, Testai FD, Dawson G. Ceramide in rafts (detergent-insoluble fraction) mediates cell death in neurotumor cell lines. *J Neurosci Res*. 2003;72(1):65-75.
110. Xiao Z, Li P, Shen Y, Manaenko A, Yang W, Wang P, et al. Multi-time point metabolomics reveals key metabolic features from the ultra-early stage of intracerebral hemorrhage in mice. *Exp Neurol*. 1 oct 2023;368:114507.
111. Nakamura T, Keep RF, Hua Y, Hoff JT, Xi G. Oxidative DNA injury after experimental

intracerebral hemorrhage. *Brain Res.* 28 mars 2005;1039(1):30-6.

112. Lorente L, Martín MM, González-Rivero AF, Pérez-Cejas A, Abreu-González P, Sabatel R, et al. High Serum DNA and RNA Oxidative Damage in Non-surviving Patients with Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *Neurocrit Care.* 1 août 2020;33(1):90-6.

113. Zhai W, Chen D, Shen H, Chen Z, Li H, Yu Z, et al. A1 adenosine receptor attenuates intracerebral hemorrhage-induced secondary brain injury in rats by activating the P38-MAPKAP2-Hsp27 pathway. *Mol Brain.* 14 juin 2016;9(1):66.

114. Jonnakuty C, Gragnoli C. What do we know about serotonin? *J Cell Physiol.* 2008;217(2):301-6.

115. Tormey WP, FitzGerald RJ. The clinical and laboratory correlates of an increased urinary 5-hydroxyindoleacetic acid. *Postgrad Med J.* 1 sept 1995;71(839):542-5.

116. Voldby B, Engbaek F, Enevoldsen EM. CSF serotonin concentrations and cerebral arterial spasm in patients with ruptured intracranial aneurysm. *Stroke.* mars 1982;13(2):184-9.

117. Helander A, Beck O. Chapter 17 Analytical markers of acute and chronic alcohol consumption. In: Bogusz MJ, éditeur. *Handbook of Analytical Separations* [Internet]. Elsevier Science B.V.; 2008 [cité 3 oct 2024]. p. 567-88. (Forensic Science; vol. 6). Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567719206060177>

VII. Annexes

A. Classification CADMUS

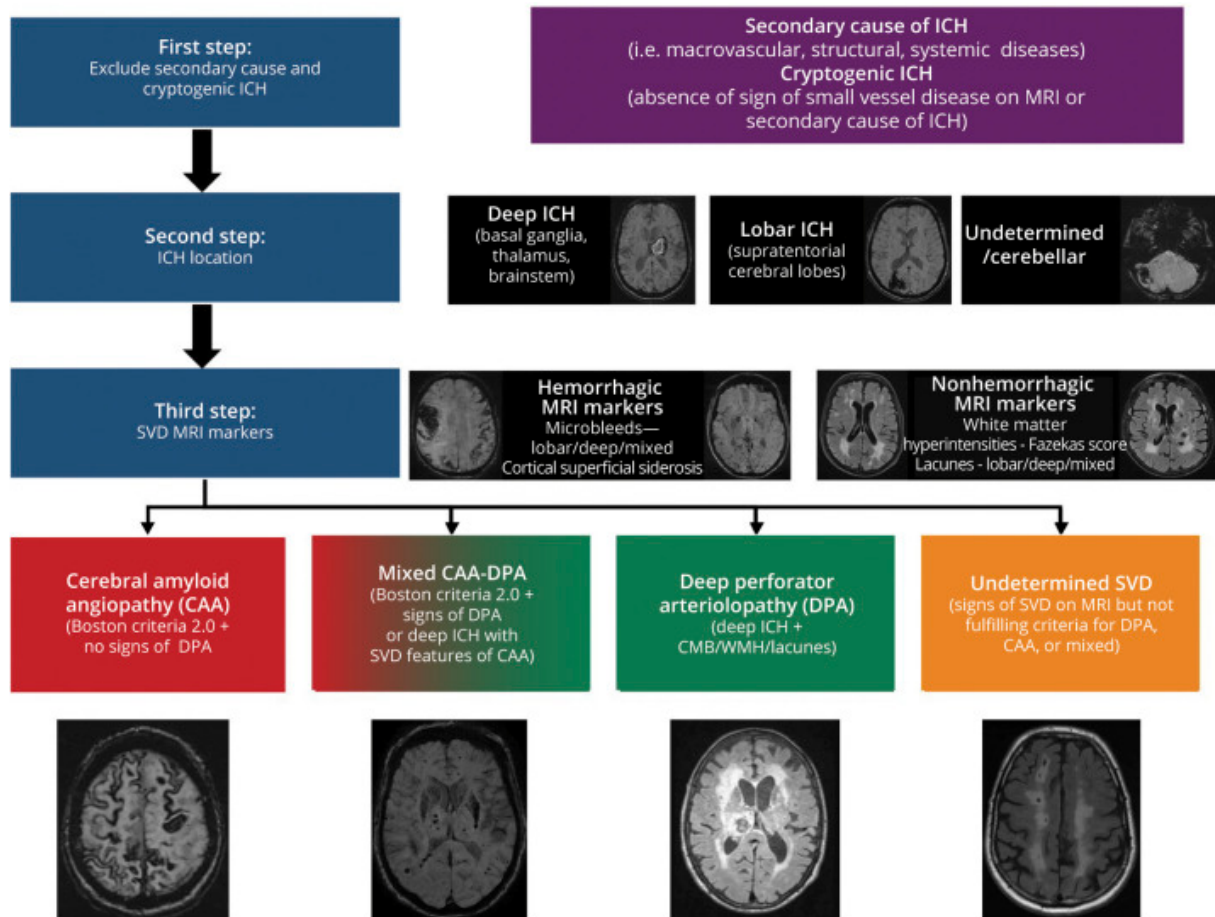


Table 1 SVD CADMUS Phenotype Criteria

Main classification	
CAA	Boston criteria 2.0 Supratentorial lobar ICH or nonaneurysmatic, cSAH AND ≥1 of the following: • ≥1 additional, supratentorial lobar, cortical or subcortical hemorrhagic lesion (ICH, CMB, cSS/cSAH distant to the index ICH) • >20 CSO-PVSs per hemisphere • Multispot white matter hyperintensity pattern
Mixed CAA-DPA	Concomitant presence of characteristic features for CAA and DPA Deep supratentorial or brainstem ICH AND ≥1 of the following: • ≥1 additional, supratentorial lobar, cortical or subcortical hemorrhagic lesion (ICH, CMB, cSS/cSAH distant to the index ICH) • >20 CSO-PVSs per hemisphere • Multispot white matter hyperintensity pattern OR Lobar supratentorial or nonaneurysmatic, cSAH AND ≥1 of the following: • ≥1 additional, deep supratentorial or brainstem hemorrhagic lesion (ICH, CMB) • ≥1 deep supratentorial or brainstem lacune • Periventricular white matter lesions Fazekas grade ≥2 Additional SVD features can be present
DPA	Deep supratentorial or brainstem ICH AND ≥1 of the following: • ≥1 additional, deep supratentorial or brainstem hemorrhagic lesion (ICH, CMB) • ≥1 deep supratentorial or brainstem lacune • Periventricular white matter lesions Fazekas grade ≥2 Additional SVD features can be present
Undetermined SVD	ICH of any location AND Signs of SVD not fulfilling the criteria for CAA, DPA or mixed CAA-DPA, e.g. ≥1 of the following: • ≥1 lobar or cerebellar lacune • >20 BG-PVS per hemisphere • Periventricular white matter lesions Fazekas grade 1 or any isolated, deep white matter lesions • Recent, small infarcts OR Cerebellar or holohemispheric ICH or uncertain hematoma epicenter AND ≥1 of the following: • ≥1 additional, deep supratentorial or brainstem hemorrhagic lesion (ICH, CMB) • ≥1 deep supratentorial or brainstem lacune • Periventricular white matter lesions Fazekas grade ≥2 • ≥1 additional, supratentorial lobar, cortical or subcortical hemorrhagic lesion (ICH, CMB, cSS/cSAH distant to the index ICH) Additional SVD features can be present

Abbreviations: BG = basal ganglia; CAA = cerebral amyloid angiopathy; CMB = cerebral microbleed; CSO = centrum semiovale; cSAH = convexity subarachnoid hemorrhage; cSS = cortical superficial siderosis; DPA = deep perforator arteriopathy; ICH = intracerebral hemorrhage; PVS = perivascular space; SVD = small vessel disease.

Goeldlin, Martina B., et al. "CADMUS: A Novel MRI-Based Classification of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage Associated With Cerebral Small Vessel Disease." *Neurology* 102.1 (2024): e207977.(65)

B. Classification Boston 2.0

Panel: Boston criteria version 2.0 for sporadic cerebral amyloid angiopathy

1. Definite CAA

Full brain post-mortem examination demonstrating:

- Spontaneous intracerebral haemorrhage, transient focal neurological episodes, convexity subarachnoid haemorrhage, or cognitive impairment or dementia
- Severe CAA with vasculopathy
- Absence of other diagnostic lesion

2. Probable CAA with supporting pathology

Clinical data and pathological tissue (evacuated haematoma or cortical biopsy) demonstrating:

- Presentation with spontaneous intracerebral haemorrhage, transient focal neurological episodes, convexity subarachnoid haemorrhage, or cognitive impairment or dementia
- Some degree of CAA in specimen
- Absence of other diagnostic lesion

3. Probable CAA

For patients aged 50 years and older, clinical data and MRI demonstrating:

- Presentation with spontaneous intracerebral haemorrhage, transient focal neurological episodes, or cognitive impairment or dementia
- At least two of the following strictly lobar haemorrhagic lesions on T2*-weighted MRI, in any combination: intracerebral haemorrhage, cerebral microbleeds, or foci of cortical superficial siderosis or convexity subarachnoid haemorrhage

OR

- One lobar haemorrhagic lesion plus one white matter feature (severe perivascular spaces in the centrum semiovale or white matter hyperintensities in a multispot pattern)[†]

- Absence of any deep haemorrhagic lesions (ie, intracerebral haemorrhage or cerebral microbleeds) on T2*-weighted MRI
- Absence of other cause of haemorrhagic lesions[‡]
- Haemorrhagic lesion in cerebellum not counted as either lobar or deep haemorrhagic lesion

4. Possible CAA

For patients aged 50 years and older, clinical data and MRI demonstrating:

- Presentation with spontaneous intracerebral haemorrhage, transient focal neurological episodes, or cognitive impairment or dementia
- Absence of other cause of haemorrhage[‡]
- One strictly lobar haemorrhagic lesion on T2*-weighted MRI: intracerebral haemorrhage, cerebral microbleeds, or foci of cortical superficial siderosis or convexity subarachnoid haemorrhage

OR

- One white matter feature (severe visible perivascular spaces in the centrum semiovale or white matter hyperintensities in a multispot pattern)[†]
- Absence of any deep haemorrhagic lesions (ie, intracerebral haemorrhage or cerebral microbleeds) on T2*-weighted MRI
- Absence of other cause of haemorrhagic lesions[‡]
- Haemorrhagic lesion in cerebellum not counted as either lobar or deep haemorrhagic lesion

CAA=cerebral amyloid angiopathy. [†]Notable changes from the Boston criteria v1.5.

[‡]Other causes of haemorrhagic lesion: antecedent head trauma, haemorrhagic transformation of an ischaemic stroke, arteriovenous malformation, haemorrhagic tumour, CNS vasculitis. Other causes of cortical superficial siderosis and acute convexity subarachnoid haemorrhage should also be excluded.

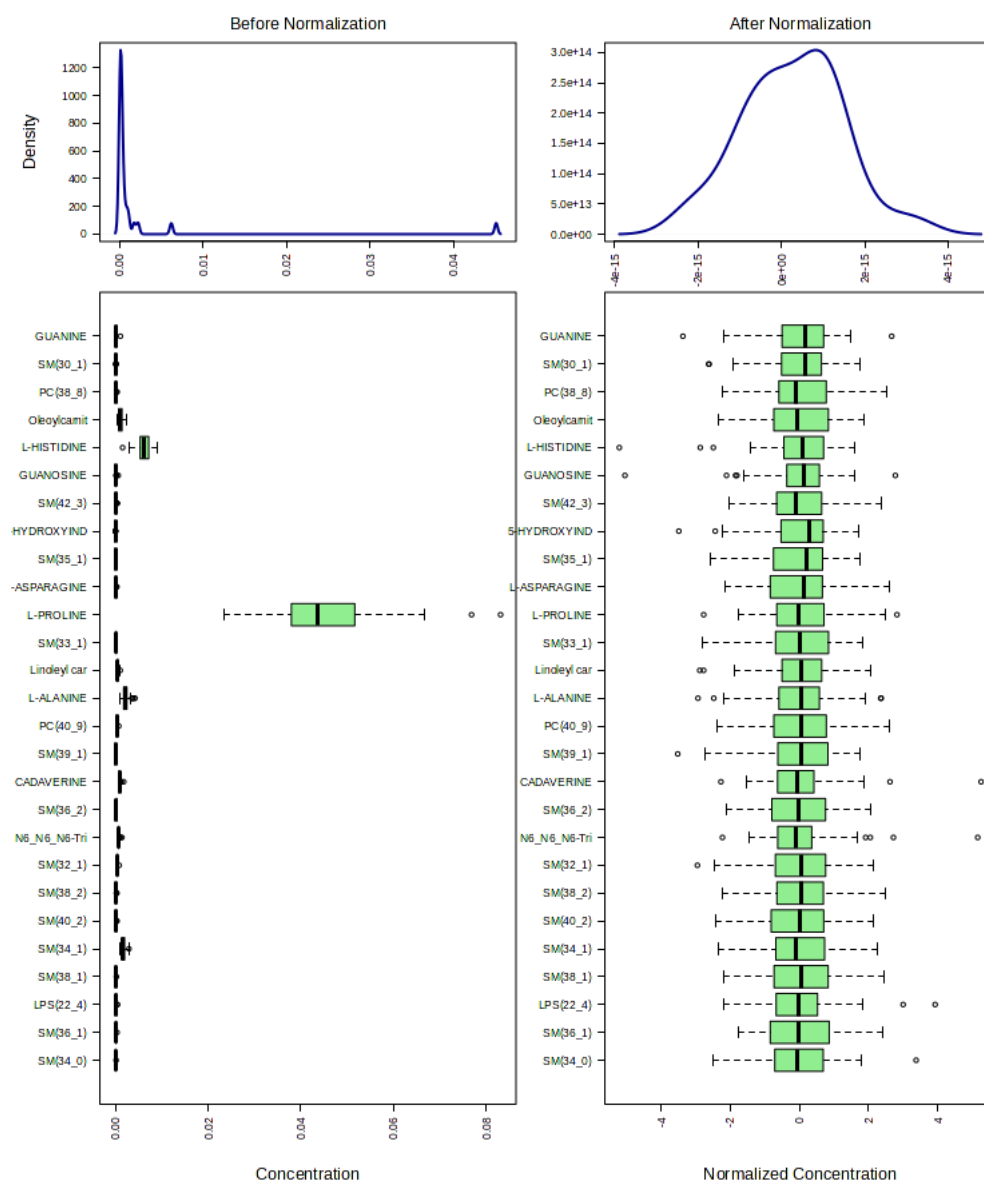
Charidimou, Andreas, et al. "The Boston criteria version 2.0 for cerebral amyloid angiopathy: a multicentre, retrospective, MRI–neuropathology diagnostic accuracy study." *The Lancet Neurology* 21.8 (2022): 714-725. (14)

C. Liste des métabolites analysés

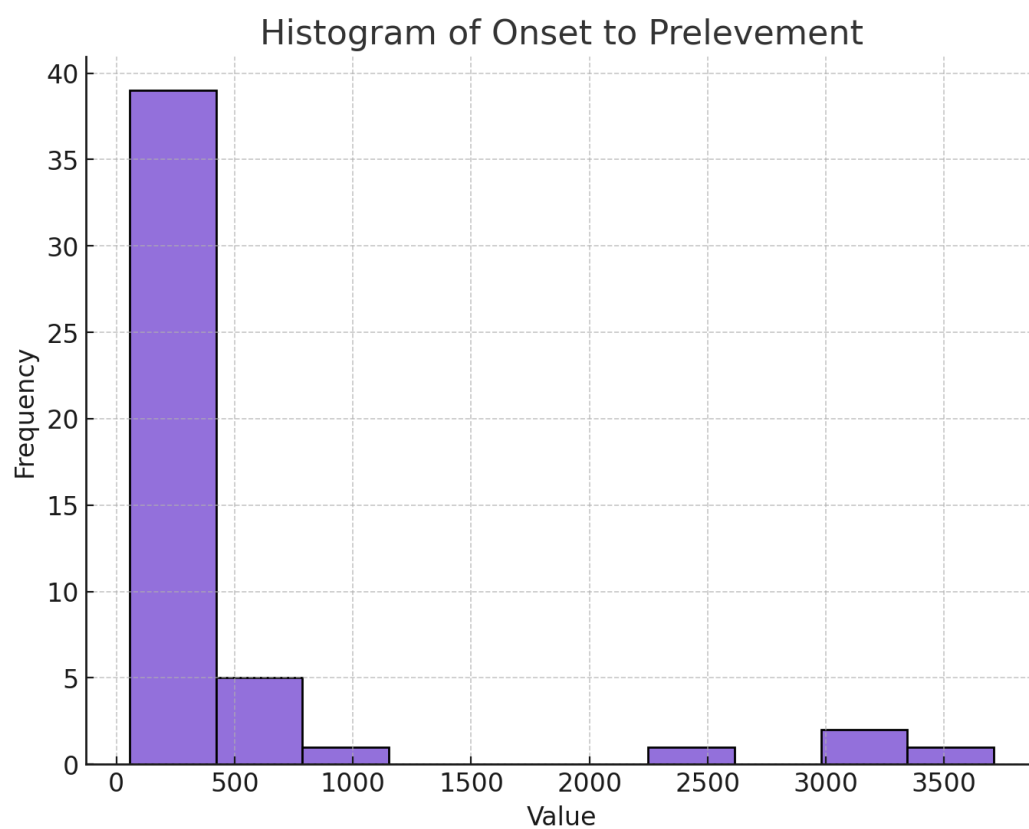
12-hydroxy-9-cis-octadecenoic acid	CREATINE	LPC(18_3)
2-Ethyl-2-hydroxybutyric acid	CREATININE	LPC(18_4)
3-Hydroxyglutarate	CYTIDINE	LPC(20_0)
5-Oxoproline	CYTOSINE	LPC(20_2)
CITRATE	Decanoyl-L-carnitine	LPC(20_3)
Deoxycholic acid	DEOXYCARNITINE	LPC(20_4)
Fumaric acid	DEOXYURIDINE	LPC(20_5)
Glutaric acid	Dodecanoylcarnitine	LPC(22_6)
GLYCERATE	Glutaryl carnitine	LPE(16_0)
Glycochenodeoxycholic acid	GLYCINE	LPE(18_0)
N-ACETYL-DL-GLUTAMIC ACID	GUANINE	LPE(20_4)
N-ACETYLGLYCINE	GUANOSINE	LPE(20_5)
Succinic acid	Hexadecanoylcarnitine	LPE(22_6)
(S)-1-PHENYLETHANOL	Hexanoylcarnitine	L-PHENYLALANINE
1-METHYLADENOSINE	HISTAMINE	L-PIPECOLIC ACID
2-AMINOPHENOL	HYDROQUINONE	L-PROLINE
3-AMINOISOBUTANOATE	Hydroxybutyrylcarnitine	LPS(22_4)
3-METHYL-2-OXINDOLE	HYPOXANTHINE	L-SERINE
3-METHYLHISTAMINE	INOSINE	L-THREONINE
4-HYDROXY-L-PROLINE	Kynurenic acid	L-TYROSINE
5_6-DIHYDROURACIL	L-ALANINE	L-VALINE
5-HYDROXYINDOLEACETATE	L-ARGININE	Malonyl-carnitine
5-Hydroxypipicollic acid	L-ASPARAGINE	METHYL BETA-D-GALACTOSIDE
5'-METHYLTHIOADENOSINE	LAUROYL CARNITINE	Myristoyl-L-carnitine
ACETYLCHOLINE	L-Carnitine	N(PAI)-METHYL-L-HISTIDINE
Acetyl-DL-carnitine	LEUCINE	N6_N6_N6-Trimethyl-L-lysine
ADENINE	L-GLUTAMINE	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE
ADENOSINE	L-HISTIDINE	N-ACETYL-L-LEUCINE
Adipoyl-L-carnitine	Linoleyl carnitine	N-ACETYLPUTRESCINE
Alpha-aminobutyric acid	L-LYSINE	N-Alpha-acetyllysine
ANILINE	L-NORVALINE	N-AMIDINO-L-ASPARTATE
BENZYL ALCOHOL	L-ORNITHINE	NICOTINAMIDE
BETAINE	LPC(14_0)	N-METHYL-D-ASPARTIC ACID
Butanoylcarnitine	LPC(16_0)	Octadecanoylcarnitine
CADAVERINE	LPC(16_1)	Octanoyl-L-carnitine
CARNOSINE	LPC(18_0)	Octenoyl-L-carnitine
CITRULLINE	LPC(18_1)	Oleoylecarnitine
CORTISOL	LPC(18_2)	PC(28_0)

PC(30_0)	PC(38_8)	SM(34_2)
PC(31_0)	PC(39_4)	SM(35_1)
PC(32_0)	PC(39_6)	SM(36_1)
PC(32_1)	PC(40_4)	SM(36_2)
PC(32_2)	PC(40_5)	SM(38_1)
PC(33_1)	PC(40_6)	SM(38_2)
PC(33_2)	PC(40_7)	SM(39_1)
PC(34_1)	PC(40_8)	SM(40_2)
PC(34_2)	PC(40_9)	SM(42_3)
PC(34_3)	PC(42_9)	SN-GLYCERO-3-PHOSPHOCHOLINE
PC(34_4)	PC(O-14_0_2_0)	SORBATE
PC(35_1)	PC(O-14_1_2_0)	SPERMIDINE
PC(35_2)	PC(O-16_2_2_0)	Succinylcarnitine
PC(35_3)	PC(O-16_3_2_0)	TAURINE
PC(35_4)	PC(O-18_4_2_0)	Tetradecenoyl-L-carnitine
PC(36_1)	PE(16_0_22_6)	THEOPHYLLINE
PC(36_2)	PE(18_1_18_1)	THYMINE
PC(36_3)	PE(22_6_18_1)	Tiglylcarnitine
PC(36_4)	PHENYLACETIC ACID	TRANS-CINNAMALDEHYDE
PC(36_5)	Propanoylcarnitine	TRIGONELLINE
PC(36_6)	PTERIN	URACIL
PC(37_4)	RIBOFLAVIN	URIDINE
PC(37_5)	SM(30_1)	Urocanic acid
PC(37_6)	SM(32_1)	Valeryl-L-carnitine
PC(38_3)	SM(32_2)	XANTHINE
PC(38_5)	SM(33_1)	XANTHOSINE
PC(38_6)	SM(34_0)	
PC(38_7)	SM(34_1)	

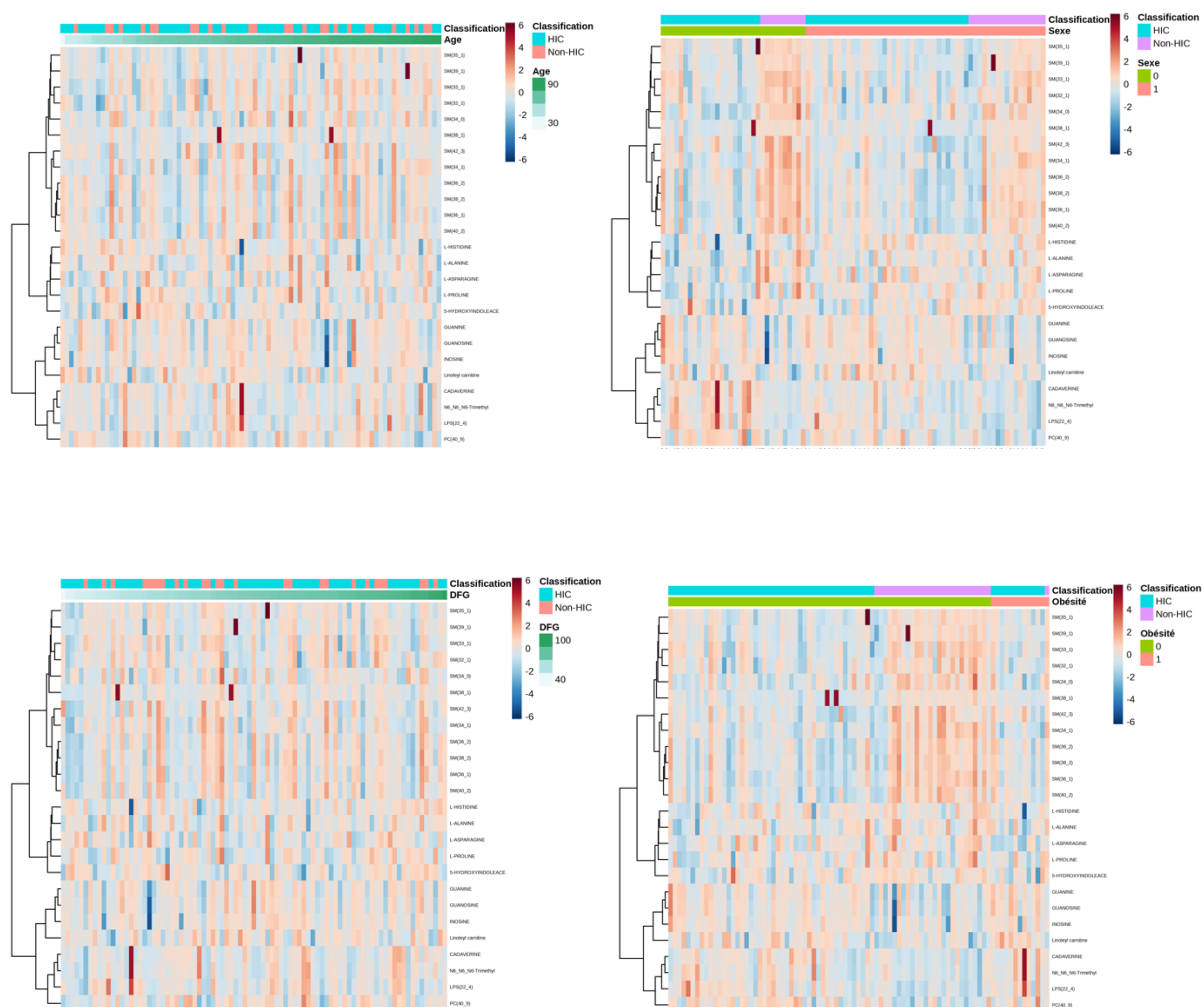
D. Normalisation des concentrations des métabolites



E. Histogramme de la durée entre le début des symptômes et le prélèvement



F. Heatmaps de clustering de l'analyse principale HIC vs Non-HIC pour les facteurs de confusion : Age, Sexe, DFG et obésité.



G. Métrique des modèles d'OPLS sur l'ensemble des métabolites

1. HIC vs Non-HIC

Q^2 : 0.432

RY^2 : 0.293

2. Durée entre le début des symptômes et le prélèvement

Number of components : 9

Q^2 : 0.8538

RY^2 : -0.1521

3. Volume de l'hématome

Number of components : 9

Q^2 : 0.4548

RY^2 : -1.1214

4. Volume de l'œdème péri-lésionnel

Number of components : 9

Q^2 : 0.5854

RY^2 : -0.4864

H. Corrélation de Spearman concernant l'ensemble des 198 métabolites et la durée entre le début des symptômes

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR
Hydroxybutyrylcarnitine	0,4685	0,0007	0,1345
BETAINE	-0,4445	0,0014	0,1350
LPE(20_4)	0,3864	0,0061	0,3072
THEOPHYLLINE	-0,3821	0,0067	0,3072
LPC(18_2)	-0,3530	0,0128	0,3072
LPC(14_0)	-0,3450	0,0152	0,3072
LEUCINE	0,3434	0,0157	0,3072
PC(28_0)	-0,3405	0,0167	0,3072
LPC(18_3)	-0,3352	0,0185	0,3072
Tetradecenoyl-L-carnitine	0,3345	0,0188	0,3072
PC(O-16_2_2_0)	-0,3321	0,0197	0,3072
PC(34_1)	0,3301	0,0205	0,3072
Acetyl-DL-carnitine	0,3257	0,0224	0,3072
PC(38_3)	0,3255	0,0225	0,3072
Oleoylcarnitine	0,3180	0,0260	0,3072
PC(36_4)	0,3165	0,0267	0,3072
Dodecenoylcarnitine	0,3152	0,0274	0,3072
L-ASPARAGINE	0,3100	0,0302	0,3072
LPS(22_4)	0,3058	0,0326	0,3072
NICOTINAMIDE	0,3055	0,0328	0,3072
Hexadecanoylcarnitine	0,3050	0,0331	0,3072
PC(30_0)	-0,3028	0,0345	0,3072
METHYL BETA-D-GALACTOSIDE	-0,2998	0,0363	0,3097
Adipoyl-L-carnitine	0,2884	0,0445	0,3461
CYTOSINE	-0,2870	0,0456	0,3461
TRIGONELLINE	-0,2866	0,0459	0,3461
3-METHYL-2-OXINDOLE	-0,2806	0,0508	0,3568
CORTISOL	-0,2804	0,0510	0,3568
3-METHYLHISTAMINE	-0,2762	0,0547	0,3698
2-Ethyl-2-hydroxybutyric acid	0,2737	0,0570	0,3727
2-AMINOPHENOL	0,2696	0,0611	0,3860
Linoleyl carnitine	0,2660	0,0648	0,3966
N(PAI)-METHYL-L-HISTIDINE	-0,2594	0,0719	0,4162
LPC(20_0)	-0,2581	0,0733	0,4162
LPE(22_6)	0,2573	0,0743	0,4162
LPC(20_5)	-0,2515	0,0814	0,4384
5-HYDROXYINDOLEACETATE	-0,2503	0,0828	0,4384
PC(31_0)	-0,2417	0,0944	0,4643
Alpha-aminobutyric acid	0,2416	0,0945	0,4643
ANILINE	-0,2412	0,0950	0,4643
3-AMINOISOBUTANOATE	0,2387	0,0986	0,4643
5-Oxoproline	0,2381	0,0995	0,4643

I. Corrélation de Spearman concernant l'ensemble des 198 métabolites et les volumes

1. Volume de l'hématome

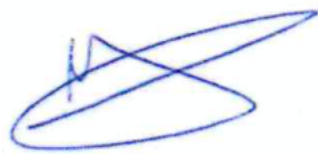
Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR
CREATINE	-0,4118	0,0014	0.2825
Urocanic acid	0,2972	0,0235	0.97175
CORTISOL	0,2711	0,0399	0.97175
Glutaryl carnitine	0,2568	0,0519	0.97175
PC(40_9)	-0,2302	0,0822	0.97175

2. Volume de l'œdème péri-lésionnel

Metabolites	Correlation coefficient	p value	FDR
CREATINE	-0,4695	0,0002	0,0394
PC(40_9)	-0,3733	0,0039	0,3751
PC(40_7)	-0,3584	0,0057	0,3751
CREATININE	0,3194	0,0145	0,7119
PC(38_6)	-0,3070	0,0191	0,7483
PC(38_8)	-0,2764	0,0357	0,9873
PC(38_7)	-0,2703	0,0402	0,9873
CORTISOL	0,2701	0,0403	0,9873
PC(38_5)	-0,2617	0,0472	0,9918
PC(40_8)	-0,2574	0,0511	0,9918
Succinyl carnitine	0,2472	0,0614	0,9918
XANTHINE	0,2436	0,0653	0,9918
PC(40_6)	-0,2428	0,0663	0,9918
L-ARGININE	-0,2269	0,0867	0,9918
N-ACETYL-L-LEUCINE	-0,2252	0,0893	0,9918
PTERIN	0,2249	0,0897	0,9918
PC(36_5)	-0,2190	0,0986	0,9918

Vu, le Directeur de Thèse

Pr PASI

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized loop with a smaller loop inside, and a short vertical stroke on the left side.

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

AMAR Valentin

124 pages – 13 tableaux – 36 figures – 9 annexes

Résumé

Introduction : L'hémorragie intra cérébrale (HIC) est une pathologie fréquente dont le manque de thérapeutique efficace est l'une des principales raisons expliquant la morbi-mortalité élevée. La métabolomique est un outil innovant pour améliorer nos connaissances physiopathologiques en analysant les métabolites circulant. Notre objectif principal est de décrire le profil métabolomique des HIC à la phase hyperaigüe pour améliorer la compréhension des mécanismes biologiques mis en jeu.

Matériel et méthode : MétAVC est une étude prospective au CHU de Tours entre décembre 2022 et novembre 2023. Nous avons inclus de manière consécutive tous les patients en alerte AVC et conservé leur sérum. Tous les patients avec une HIC ont réalisé une IRM cérébrale multimodale. Un groupe contrôle a été créé, par appariement pour les facteurs de confusion, en sélectionnant des patients parmi ceux qui ne présentaient pas d'AVC. Une étude métabolomique non ciblée par « High Performance Liquid Chromatography Mass Spectroscopy » a été réalisée. Nous avons comparé les profils métabolomiques entre HIC et Non-HIC et évalué leurs corrélations avec la durée entre le début des symptômes et le prélèvement, le volume de l'hématome et l'œdème péri-lésionnel. En combinant les métabolites les plus pertinents, nous avons créé un modèle diagnostique pour identifier les patients HIC.

Résultats : Nous avons inclus 58 patients avec une HIC et 27 patients témoins (Non-HIC). Les caractéristiques cliniques étaient globalement similaires entre les HIC et Non-HIC : âge moyen de 68,4 (sd 16,3) ans, 36/58 (62,1 %) d'hommes, 35/58 (60,3 %) de patients hypertendus et durée depuis le début des symptômes de 385 (sd 685) minutes. La comparaison entre HIC et Non-HIC a mis en évidence 23 métabolites statistiquement pertinents ($p < 0.05$ après correction par False Discovery Rate) : 13 sphingomyélines, la lysophosphatidylsérine LPS(22_4), la guanine, la guanosine, l'inosine, la phosphatidylcholine PC(40_9), la linoleyl carnitine, la cadavérine, le 5-hydroxyindolacetate, la L-alanine, la N6-N6-N6-triméthyl-L lysine et la L-proline. Notre modèle diagnostique présente une AUC de 0,959 (IC 95 % : [0,882 ; 1]). La phosphatidylcholine PC(38_6) est corrélée avec le volume de l'œdème péri-lésionnel.

Conclusion : Dans notre cohorte, le profil métabolomique des patients HIC en phase aiguë comporte principalement des phospholipides, des purines et quelques acides aminés. D'après nos résultats préliminaires, les sphingomyélines semblent jouer un rôle capital à la phase hyperaigüe des HIC. Métabolisés en céramide ou en sphingosine-1-phosphate, les sphingomyélines pourraient participer aux voies de l'apoptose ou à celles de l'inflammation. La sphingomyélinase qui convertit la sphingomyéline en métabolite actif pourrait être une nouvelle cible thérapeutique.

Mots clés :

Hémorragie intracérébrale, métabolomique, profil métabolomique, physiopathologie, cibles thérapeutiques, modèle diagnostique, IRM cérébrale, œdème péri-lésionnel, phospholipides, purines, sphingomyélines, sphingomyélinase.

Jury :

Président du Jury :	Professeur Philippe CORCIA
Directeur de thèse :	Professeur Marco PASI
Membres du Jury :	Professeur Hélène BLASCO
	Professeur Grégoire BOULOUIS

Date de soutenance : 22 octobre 2024