



**Journée
de la SFR ICAT**
Masters, Doctorants, Post-docs
9 juin 2022



Maladies dysmétaboliques

Conférence plénière
Hervé Blottière

« Le microbiote intestinal, un des acteurs clés des maladies
dysmétaboliques »





Introduction à la Journée de la SFR ICAT 2022

La journée thématique 2022 de la SFR ICAT aura cette année pour thème « Les Maladies Dysmétaboliques » et sera illustrée par une conférence plénière du Docteur Hervé Blottière (UMR 1280 PhAN INRAE – Université de Nantes). Le choix de cette thématique répond bien évidemment à des questions scientifiques et sociétales actuelles.

Cette journée est une occasion unique pour les masters, doctorants et post-doctorants de présenter leurs travaux et de vivre une première expérience « grandeur nature » de communication de leurs travaux. Il s'agit également d'une excellente opportunité pour les équipes de recherche de notre site angevin d'exposer leurs travaux et savoir-faire dans leurs domaines d'expertise respectifs.

La journée scientifique de la SFR constitue enfin un temps de partage d'expérience entre chercheurs et cliniciens au travers de la place réservée à des présentations de membres des équipes cliniques du CHU d'Angers.

La direction de la SFR ICAT remercie chaleureusement les responsables de l'animation scientifique pour l'organisation de cette belle journée qui reste un temps fort de notre communauté scientifique.

Nicolas Papon et Guillaume Mabillean
Direction de la SFR Santé ICAT

Comité organisateur :

Nicolas Papon, Guillaume Mabillean, Anaïs Hérivaux, Samuel Legeay, Camille Savary, Stéphanie Pinot.

Contact :

animsfr@univ-angers.fr

Lieu :

Faculté de Pharmacie, Site Daviers, Angers



Journée de la SFR ICAT 2022

Programme

8h15-8h45 **Accueil des participants sur le site Daviers (Faculté de Pharmacie)**

8h45-9h00 **Introduction**

Nicolas Papon (Directeurs de la SFR ICAT 4208)

Session axe « Immunologie – Cancérologie »

Modérateurs : Céline Beauvillain et Caroline Polly

9h-10h30

9h00 : **Wilson Tété Nobert** (IRSET Ester)

La dose d'activité physique nécessaire pour améliorer le retour au travail après cancer : méta-régression.

9h15 : **Agathe Vely** (Services des Maladies du Sang, CHU Angers)

Profil de toxicité selon la posologie d'étoposide et de cytarabine au cours des intensifications thérapeutiques avant autogreffe par « BEAM » pour le traitement des patients atteints de lymphome.

9h30 : **Molina Pena Rodolfo** (CRCI2NA)

Silk-fibroin interventional nano-trap for the treatment of glioblastoma.

9h45 : **Mosnier Carole** (Service des maladies du sang, CHU Angers – CRCI2NA)

Valeur et intérêt du dosage de PTX3 au cours des neutropénies fébriles chez les patients atteints d'hémopathie maligne recevant un traitement intensif.

10h00 : **Floris Chabrun** (Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers – MitoVasc)

SPECTR : intelligence artificielle d'interprétation automatisée des électrophorèses des protéines sériques.

10h15 : **Caroline Lefevre** (CHU Angers, Université d'Angers)

Analyse de biomarqueurs de la fibrose hépatique dans le sérum en fonction des mutations du promoteur basal du core/pré-core du virus de l'hépatite B.



10h30-11h15 Pause Café autours des posters

Session axe « Nanomédecines »

Modérateurs : *Emilie Roger et Guillaume Bastiat*

11h15-12h45

11h15 : **Flavien Delaporte** (MINT)

In vitro evaluation of acute and chronic liver toxicity of lipid nanocapsules: what size for a better biocompatibility?

11h30 : **Pierre Idlas** (MINT)

Combination of stealth ferrocifen LNCs and standard chemotherapies: a promising treatment against multidrug resistant ovarian adenocarcinoma.

11h45 : **Amel Djoudi** (CRCI2NA – Gliad)

Development of innovative nanocomposite hydrogels for the treatment of Glioblastoma Multiforme.

12h : **Marion Sicot** (MINT)

Nanocristaux d'acide ursolique comme inhibiteur de la MGMT dans le traitement du glioblastome.

12h15 : **Lebreton Vincent** (MINT – CHU Angers)

Population pharmacokinetic modelling of intravenous LNCs FRET in rat.

12h45 : **Xavier Nicolas** (MINT)

Biodistribution et interaction des nanocapsules lipidiques avec les cellules sanguines et hépatiques humaines.

12h45-14h00 Déjeuner - Posters



Session axe « Maladies dysmétaboliques – Cardiologie – Mitochondrie – Thérapeutiques »

Modérateurs : Soazig Le Lay et Olivier Baris

14h00-15h00 Conférence plénière :

Dr Hervé Blottière

Directeur-adjoint de l'UMR 1280 PhAM (INRAE, Université de Nantes)

« Le microbiote intestinal, un des acteurs clés des maladies dysmétaboliques »

15h00-15h30

15h15 : **Clémence Canivet** (HIFIH)

Validation of the blood tests MACK-3 for the non-invasive diagnosis of fibrotic NASH: an international multicentre study with 1,924 patients.

15h30 : **Théophile Thibault** (MitoVasc)

Impact des contrôles-qualité de l'ADN mitochondrial sur son instabilité au cours du vieillissement cardiaque.

15h30-16h00

Pause Posters

16h00-17h30

16h00 : **Marc Fadel** (IRSET, ESTER)

Association entre horaires de travail long et cas incidents d'AVC ischémiques et hémorragiques dans la cohorte CONSTANCES.

16h15 : **Xavier Dieu** (Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers – MitoVasc)

Post-infarct cardiac remodeling predictions with machine learning.

16h30 : **Léa Réthoré** (MitoVasc)

A cell-based assay using Fura-2 fluorescent probe to characterize new ligands of NaV channels.

16h45 : **Maël Bouillon** (CRCI2NA)

Etude in vitro de l'influence sur les cellules souches nerveuses endogènes d'une thérapie cellulaire pour la paralysie cérébrale.



17h00 : **Malory Couchot** (RMeS – REGOS)

Development of dual GIP/GLP-2 analogues for the treatment of bone fragility.

17h15 : **Samuel Bonnet** (SFR-ICAT – PRISM)

Spectroscopie de diffusion par résonance magnétique : focus sur un nouvel outil d'analyse transposable pour le suivi de thérapies in vivo.

17h30 – ...

Cocktail – Remise des Prix



Partenaires



Contact :

animsfr@univ-angers.fr





Conférence plénière

Dr Hervé Blottière

*Nantes Université, INRAE UMR 1280, PhAN, CRNH Ouest, IMAD, 44093 Nantes
Université Paris-Saclay, INRAE, MetaGenoPolis, 78352 Jouy-en-Josas*

« Le microbiote intestinal, un des acteurs clés des maladies dysmétaboliques »

Résumé

Depuis les travaux pionniers de l'équipe de Jeff Gordon à Saint-Louis dans l'obésité, la communauté scientifique a pris conscience de l'importance de la part microbienne des organismes dont l'homme. Réel holobionte, notre corps est composé d'autant de microorganismes que nous avons de cellules humaines. Ce microbiote exerce des fonctions, en particulier des fonctions métaboliques, qui participent à la balance énergétique et métabolique de notre organisme. Les projets Européens, MétaHIT, MetaCardis et plus récemment Microb-Predict, ont montré le rôle contributeur du microbiote dans les maladies dysmétaboliques. Ainsi, une perte de richesse et de certaines fonctions métaboliques dont celles de synthèses d'un acide gras à chaîne courte, le butyrate, a été observée chez certains obèses, directement associée aux risques cardio-métaboliques. De même, les fonctions de synthèse d'acides aminés à chaîne ramifiée par certaines bactéries intestinales, ont été directement associées à la résistance à l'insuline. L'importance du microbiote dans les diabètes et les maladies hépatiques (NAFLD, NASH, ALD) a également été démontrée. Cette nouvelle science permet de mieux comprendre l'étiologie des pathologies dysmétaboliques, d'envisager de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques qui pourraient modifier la prise en charge des patients, et définir des stratégies de prévention ciblant la part microbienne de notre organisme.



Communications orales

Session axe « Immunologie – Cancérologie »

Wilson Tété Nobert (*IRSET Ester*)

Agathe Vely (*Service des Maladies du Sang, CHU Angers*)

Molina Pena Rodolfo (*CRCI2NA*)

Mosnier Carole (*Service des maladies du sang, CHU Angers – CRCI2NA*)

Floris Chabrun (*Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers – MitoVasc*)

Caroline Lefeuvre (*CHU Angers, Université d'Angers*)

Session axe « Nanomédecines »

Flavien Delaporte (*MINT*)

Pierre Idlas (*MINT*)

Amel Djoudi (*CRCI2NA - Gliad*)

Marion Sicot (*MINT*)

Lebreton Vincent (*MINT – CHU Angers*)

Xavier Nicolas (*MINT*)

Session axe « Maladies dysmétaboliques – Cardiologie – Mitochondries – Thérapeutiques »

Clémence Canivet (*HIFIH*)

Théophile Thibault (*MitoVasc*)

Marc Fadel (*IRSET, ESTER*)

Xavier Dieu (*Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers – MitoVasc*)

Léa Réthoré (*MitoVasc*)

Maël Bouillon (*CRCI2NA*)

Malory Couchot (*RMeS – REGOS*)

Samuel Bonnet (*SFR-ICAT – PRISM*)



Session axe « Immunologie – Cancérologie »

Communication 1

La dose d'activité physique nécessaire pour améliorer le retour au travail après cancer : méta-régression.

Tête Norbert Wilson^{1*}, Aboubakari Nambiema¹, Bertrand Porro¹, Alexis Descatha^{1,2,3}, Agnès Aublet-Cuvelier⁴, Bradley Evanoff⁵, Yves Roquelaure¹

¹Univ Angers, CHU Angers, Univ Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMR_S 1085, SFR-ICAT, Angers, France

²Department of Occupational Medicine, Epidemiology and Prevention, Northwell Health, New York, USA

³Centre Antipoison et de toxicovigilance, CHU Angers, Angers, France

⁴INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité), Direction des Etudes et de Recherches, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

⁵Division of General Medical Sciences, Washington University School of Medicine, MO 63310, Saint-Louis, USA

tetenorebert.wilson@etud.univ-angers.fr

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité des interventions d'activité physique (AP) sur le retour au travail (RAT) et d'estimer par méta-régression la dose d'AP nécessaire pour améliorer le RAT des survivants de cancer. Une revue systématique a été réalisée sur six principales bases de données, PubMed, EMBASE, Web of Science, CENTRAL, PsycINFO et Scopus. Des recherches dans la littérature grise ont été également effectuées, et complétées par la recherche manuelle et la consultation d'experts. Deux auteurs ont indépendamment analysé les titres et résumés des articles puis le texte complet pour inclusion. Une méta-analyse et méta-régression ont été effectuées pour évaluer l'efficacité de l'AP sur le RAT et déterminer la dose d'AP nécessaire en utilisant le modèle à effet aléatoire. Au total 2655 articles ont été identifiés, parmi lesquels 8 études interventionnelles ont été incluses, avec 1087 participants âgés de 18 à 75 ans et de nombreux types de cancers. Comparées aux soins habituels, les interventions d'AP ont un effet positif significatif sur le RAT des survivants du cancer, avec un RR global estimé à **1,29** (IC 95 % : 1,17, 1,42). Une dose d'AP entre **7,6 METs.h/semaine et 15 METs.h/semaine** correspondant à 50-60 minutes d'exercice physique, d'intensité modérée ou élevée, deux fois par semaine, semble appropriée pour améliorer le RAT. Nous avons montré avec des preuves d'évidence modérée que les interventions d'AP sont plus efficaces que les soins habituels pour améliorer le RAT chez les survivants du cancer.

Mots-clés : activité physique, retour au travail, cancer.



Communication 2

Profil de toxicité selon la posologie d'etoposide et de cytarabine au cours des intensifications thérapeutiques avant autogreffe par « BEAM » pour le traitement des patients atteints de lymphome.

Agathe VELY¹, Jérôme PAILLASSA¹, Christopher NUNES GOMES¹, Aurélien GILTAT¹, Sophie FOUQUET², Anne LEBRETON³, Marion KLEMENCIE¹, Aline CLAVERT¹, Marie-Pierre MOLES-MOREAU¹, Aline TANGUY-SCHMIDT^{1,4,5}, Mathilde HUNAUT-BERGER^{1,4,5}, Corentin ORVAIN^{1,4,5}

¹Maladies du Sang, CHU d'Angers, Angers, France

²Etablissement Français du Sang, Angers, France

³Département de Pharmacie, CHU d'Angers, Angers, France

⁴Fédération Hospitalo-Universitaire Grand-Ouest Acute Leukemia, FHU-GOAL

⁵Université d'Angers, Inserm UMR 1307, CNRS UMR 6075, Nantes Université, CRCI2NA, F-49000 Angers

agathe.vely@chu-angers.fr

L'association de carmustine, etoposide, cytarabine et melphalan (BEAM) suivi d'une autogreffe de cellules souches est le traitement habituel des lymphomes réfractaires ou en rechute, ou dès la 1^{ère} ligne pour certains lymphomes. Les posologies d'etoposide et la cytarabine varient de 100 à 400mg/m². Notre étude vise à comparer la toxicité entre BEAM 200 et BEAM 400 (etoposide et cytarabine à 200 ou 400mg/m²). 110 patients atteints de lymphome B diffus à grandes cellules (n=32), folliculaire (n=17), à cellules du manteau (n=39) ou Hodgkinien (n=22) ont reçu un traitement par BEAM et autogreffe (41 BEAM 200 et 69 BEAM 400). 75% des patients était en réponse complète avant l'intensification par BEAM. Les patients du groupe BEAM 400 avaient plus de toxicité hématologique et digestive (neutropénie fébrile de 6 vs 3 jours, p<0.001 ; 7 vs 5 transfusions plaquettaires, p=0.013 ; mucite dans 99% vs 73% des cas, p<0.001). Les survies sans progression et globale étaient plus faibles dans le groupe BEAM 200 sans différence statistiquement significative (p=0.053 et p=0.12, respectivement). Une maladie chimioréfractaire ou en progression avant BEAM étaient associés à une survie sans progression plus faible en analyse multivariée. Les résultats de survie sont à interpréter avec précaution devant l'hétérogénéité des patients. Le traitement par BEAM 200 est associé à une toxicité hématologique et digestive moins importante. Une étude multicentrique dans les centres du Grand Ouest est en cours afin d'évaluer les données de survie et confirmer le profil de toxicité chez les patients atteints de lymphome d'histologie homogène.

Mots clés : BEAM, lymphoma, autogreffe.



Communication 3

Silk-fibroin interventional nano-trap for the treatment of glioblastoma.

Rodolfo Molina-Pena^{1*}, Natalia Ferreira^{1*}, Audrey Rousseau¹, Mathie Najberg¹, Charlotte Roy¹, Loris Roncali¹, Sylvie Avril¹, Muhammad Haji Mansor¹, Frank Boury¹, Carmen Alvarez-Lorenzo^{2*}, Emmanuel Garcion^{1*}

¹Univ Angers, Université de Nantes, Inserm, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

²Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, I+D Farma (GI-1645), Facultad de Farmacia, and Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

* Eq contribution

rodolfo.molinapena@univ-angers.fr ; natalia.ferreira@univ-angers.fr

Glioblastoma (GBM) is a devastating tumor of the central nervous system. The two main limitations contributing to the failure of conventional therapy are treatment resistance and sub-optimal delivery of active principles. GBM tumor recurrence mostly occurs within 6 – 14 mm from the tumor resection cavity. Therefore, the targeting of infiltrated tumor cells in the resection margins is a major goal for the treatment of GBM. While much of current research explores Paul Ehrlich's "magic bullet" concept aiming at selectively targeting infiltrative aggressive "guerrilla" GBM cells, the objective of our work is to rather bring the target to a controlled biointeractive nanostructured polymeric deposit that we called here a "glioblastoma cell trap", before their elimination. Stromal cell derived factor-1 α (SDF-1 α) and its receptor CXCR4 constitute a chemotaxis axis that was found of particular interest to direct the migration of infiltrative GBM cells. We present here a freeze-dried sponge composed of silk fibroin (SF), hyaluronic acid (HA) and heparin (hep), with pore sizes ranging from 20 to 140 μ m, and loaded with SDF-1 α , as a GBM cell trap. The sponges showed good cytocompatibility and biodegradability, and preferentially attracted U87MG cells expressing the CXCR4 receptor (U87MG-CXCR4+) as shown by a 4-fold larger area of migration under an agarose gel as compared to controls. The biointerphase of the sponges was evaluated by depositing a single glioma-spheroid (GS) containing U87MG-CXCR4+ cells in direct contact with the sponges. A 1.4-fold larger on-top area of GS attachment and a 1.6-fold larger infiltrated area was observed in SDF-1 α -loaded sponges. Finally, a GBM resection rat model has been developed, and the ongoing experiments are expected to reveal the bioperformance of the sponges *in vivo*: i.e., the capability of SF-HA-Hep implants to establish an *in situ* chemoattraction gradient, and their capacity to attract and trap GBM cells in the brain.

Mots-clés : silk fibroin implant, glioblastoma, cell trap.



Communication 4

Valeur et intérêt du dosage de PTX3 au cours des neutropénies fébriles chez les patients atteints d'hémopathie maligne recevant un traitement intensif.

Carole Mosnier^{1,2}, Corentin Orvain^{1,2}, Coralie Mallebranche^{1,4}, Gauthier Foulon^{1,2}, Sylvain Thepot^{1,2}, Pascale Pignon¹, Mathilde Hunault-Berger^{1,2}, Pascale Jeannin^{1,3}, Yves Delneste¹, Isabelle Pellier^{1,4}, Céline Beauvillain^{1,3}, Aline Schmidt-Tanguy^{1,2}

¹Université Angers, Université de Nantes, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000, France

²Service des maladies du sang, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

³Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

⁴Service d'onco-immuno-hémato pédiatrique, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49100 Angers, France

mosniercarole@gmail.com

Les complications infectieuses lors des épisodes de neutropénie fébrile sont grévées d'une morbidité importante. Nous nous sommes intéressés à la Pentraxine 3 (PTX3), protéine de l'immunité humorale. En cas de déficience acquise en PTX3, les patients présentent une susceptibilité accrue à certains pathogènes comme *Aspergillus Fumigatus*. En réanimation, un taux élevé de PTX3 s'est révélé être un marqueur prédictif de mortalité. Le dosage de PTX3 a été peu étudié au cours des neutropénies fébriles. L'objectif principal de cette étude descriptive, prospective et monocentrique est de décrire les variations de PTX3 au cours des neutropénies prolongées consécutives à un traitement intensif dans les hémopathies. 169 patients adultes ont été inclus entre 2014 et 2017 dans le service d'hématologie du CHU d'Angers. Sur les 159 patients en aplasie analysés, 41 sont restés apyrétiques et 118 ont présenté une neutropénie fébrile dont 61 une neutropénie fébrile simple (NFS), 33 un sepsis(S) et 11 un sepsis sévère (SS). Les taux de PTX3 augmentent d'en moyenne 0.69 ng/mL avant la neutropénie à 3.26 ng/mL le jour de la fièvre ainsi que les jours suivants alors que ces taux restent stables chez les patients qui restent apyrétiques. Le taux de PTX3 augmente significativement le jour de la fièvre pour les patients neutropéniques qui développeront par la suite un sepsis ou sepsis sévère en comparaison aux patients avec neutropénie fébrile simple (NFS=1.12ng/mL VS S=1.12ng/mL p=0.002; NFS=1.12ng/mL VS SS=13.49ng/mL p=0.012). Ces résultats indiquent que PTX3 pourrait être un marqueur prédictif de complication chez les patients neutropéniques atteints d'une hémopathie.

Mots-clés : pentraxine 3, PTX3, neutropénie fébrile.



Communication 5

SPECTR : première IA mondiale d'interprétation automatisée des électrophorèses des protéines sériques.

Floris Chabrun^{*1,2}, Xavier Dieu^{1,2}, Marc Ferré², Olivier Gaillard³, Anthony Mery¹, Juan Manuel Chao de la Barca^{1,2}, Audrey Taisne¹, Geoffrey Urbanski^{2,4}, Pascal Reynier^{1,2}, Delphine Mirebeau-Prunier^{1,2}

¹Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France

²Unité Mixte de Recherche (UMR) MITOVASC, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) 6015, Institut National de la Santé et de la recherche Médicale (INSERM) U1083, Université d'Angers, France

³Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier du Mans, France

⁴Service de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France

floris.chabrun@chu-angers.fr

L'électrophorèse des protéines sériques (EPS) est une analyse de routine en laboratoire de biologie médicale, dont l'indication principale est le dépistage, le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales. Une lecture humaine est à ce jour indispensable pour mettre en évidence les motifs pathologiques pertinents et éviter les pièges pouvant altérer la lecture du tracé d'électrophorèse. Cette étape humaine limite la cadence, l'harmonisation et la sécurisation des résultats. Un ensemble de 159.969 tracés d'électrophorèse, annotés par des experts, a été employé pour développer SPECTR, une intelligence artificielle (IA), qui analyse et interprète des tracés d'EPS afin de produire des commentaires textuels compréhensibles et utilisables par les praticiens. SPECTR a été validé sur une cohorte externe, indépendante, de 70.362 EPS et comparé à un panel de 9 experts indépendants de différents centres hospitaliers en France. De plus, notre IA montre une grande précision pour la détection (AUC-ROC $\geq 0,99$) et la quantification ($r = 0,99$) des pics d'aspect monoclonal ; et détecte avec précision les anomalies quantitatives ($r \geq 0,98$ pour la quantification des fractions) et qualitatives (AUC-ROC $\geq 0,90$ pour la détection, des aspects de restriction d'hétérogénéité des gammaglobulines et des blocs bêta-gamma). SPECTR est reproductible et résistant aux variations mineures sur le tracé, et sa concordance avec les experts humains est similaire ($\kappa = 0,632$) à la concordance des experts entre eux ($\kappa = 0,624$). SPECTR est une intelligence artificielle basée sur du deep learning capable d'assurer une interprétation fiable, rapide, harmonisée et sécurisée des tracés d'électrophorèse des protéines sériques.

Mots-clés : intelligence artificielle, électrophorèse des protéines sériques, gammopathie monoclonale.



Communication 6

Analyse de biomarqueurs de la fibrose hépatique dans le sérum en fonction des mutations du promoteur basal du core/pré-core du virus de l'hépatite B.

C. Lefeuvre^{1,2}, M. Roux², S. Blanchard³, H. Le Guillou-Guillemette^{1,2}, J. Boursier^{2,4}, F. Lunel-Fabiani^{1,2}, P. Jeannin³, A. Pivert^{1,2}, A. Ducancelle^{1,2}

¹Laboratoire de virologie, Département de Biologie des Agents Infectieux, CHU Angers, F-49000 Angers, France

²Univ Angers, HIFIH, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

³Univ Angers, INSERM Unité 892, CNRS Unit 6299, F-49000 Angers, France

⁴Service Hépato-gastro-entérologie, CHU Angers, F-49000 Angers, France

caroline.lefeuvre@chu-angers.fr

La double mutation A1762T/G1764A dans la région du promoteur basal du core (PBC) du virus de l'hépatite B est associée à des lésions hépatiques sévères tandis que l'association de la mutation G1899A (région précore) avec la double mutation semblerait réduire significativement le risque de fibrose hépatique sévère. Le but de l'étude est de mesurer certains marqueurs de fibrose dans le sérum de patients ayant une hépatite B chronique et d'évaluer les relations entre ces biomarqueurs et les mutants PBC/precore en tenant compte du stade de fibrose. Les taux sériques de résistine, TGF- β 1, MMP-1, TIMP-1, Collagène IA1 et PDGF-BB, marqueurs connus pour être impliqués dans le processus de fibrose hépatique, ont été dosés. Les patients ont été classés comme ayant une fibrose sévère (\geq F3 METAVIR) ou non sévère ($<$ F3 METAVIR). Les taux sériques de PDGF-BB ($p=0,002$), TIMP-1 ($p=0,001$) et le profil de mutation étaient indépendamment associés à une fibrose avancée. Un taux sérique élevé de TIMP-1 était associé à une fibrose avancée quel que soit le statut mutationnel, tandis qu'un taux élevé de PDGF-BB serait associé à une fibrose modérée chez les patients présentant un statut de mutation A1762T/G1764A ou à la fois le double mutant A1762T/G1764A et la mutation G1899A. Nos résultats suggèrent un impact de la mutation A1762T/G1764A sur les processus biologiques liés au TGF- β 1 et PDGF-BB. L'utilisation de marqueurs pour la prédiction de la fibrose hépatique doit tenir compte à la fois du virus et, en particulier, de la présence ou non des mutations PBC/precore.

Mots-clés : fibrose hépatique, hépatite B chronique, biomarqueurs.



Session axe « Nanomédecines »

Communication 1

In vitro evaluation of acute and chronic liver toxicity of lipid nanocapsules: what size for a better biocompatibility?

Flavien Delaporte¹, Emilie Roger¹, Frédéric Lagarce¹, Camille Savary¹

¹Micro et Nanomédecines Translationnelles UMR1066 CNRS6021

flavien.2606@gmail.com

Lipid nanocapsules (LNCs) represent a great interest to treat various diseases, notably involving chronic treatment. LNCs allow an improved targeting while decreasing the active drug's side effects. However, they partially accumulate in the liver after intravenous administration, regardless of size and composition. The objective of this study is to study the toxicity effects of LNCs' formulation on hepatocytes. Thus, HepG2 and differentiated HepaRG cells (low vs. high xenobiotic enzymatic activity) were exposed to different LNC formulations (50 and 100nm diameter) aiming to determine the effect of size on both toxicity and internalization (kinetics and pathways) following exposure in an acute and chronic conditions. In terms of size, after 24h exposure, 100nm LNCs induced less toxicity than the 50nm ones on both cell lines. Whereas for internalization, 100nm LNCs were readily internalized in HepG2 cells after 2h (100%) and accumulated 4 times more compared to HepaRG cells (only 80% at 24h). On the other hand, caspase 3 activity assessment showed the lack of apoptosis for both LNCs in both models. Regarding pathways of internalization, no difference was observed due to LNCs' size. LNCs are mainly internalized via caveolin-mediated endocytosis: the use of genistein, a caveolin inhibitor, successfully blocked 40% and 60% of LNCs' internalization in HepG2 and HepaRG cells respectively. Additionally, after 28 days of chronic exposure, 50nm LNCs still exhibited more toxicity than 100nm ones. The internalization rate of both sizes was similar to the rate during acute exposure. In conclusion, inducing less toxicity on differentiated cells while being internalized faster in cancerous ones, Captex® 100nm LNCs are the most promising candidate for liver targeted therapy.

Mots-clés : liver, toxicity, lipid nanocapsules.



Communication 2

Combination of stealth ferrocifen LNCs and standard chemotherapies: a promising treatment against multidrug resistant ovarian adenocarcinoma.

Pierre Idlas¹, Abdallah Ladaycia¹, Fariba Nemati², Elise Lepeltier¹, Gerard Jaouen³, Didier Decaudin² and Catherine Passirani¹

¹Micro et Nanomédecines Translationnelles, MINT, UNIV Angers, INSERM 1066, CNRS 6021, Angers, France

²Translational Research Department, Laboratory of preclinical Investigation, Institut Curie, 26 rue d'Ulm, Paris 75248, France

³PSL Chimie Paris Tech, 11 rue P. et M. Curie and Sorbonne Université IPCM, CNRS, UMR 8232, IPCM, Paris, 75005, France

pierre.idlas@univ-angers.fr

Ovarian cancer is one the deadliest epithelial malignancy in women because of multidrug resistances affecting the success of traditional chemotherapies like carboplatin and paclitaxel [1]. High grade serous ovarian carcinoma (HGSOV) can be classified in two subtypes, the High OXPHOS tumor that is chemosensitive, and the Low OXPHOS tumor that is chemoresistant [2]. The difference of sensitivity could come from the redox status of these tumors. Ferrocifens, bio-organometallic compounds, are considered as ROS producers with good cytotoxicity on multi-drug resistant cancer cell lines like ovarian cancer [3]. Nevertheless, to be administered *in vivo*, nanocarriers as the lipid nanocapsules (LNCs) are needful because of their hydrophobic nature [3]. The aim of this study was to evaluate the *in vivo* efficiency of ferrocifen lipid nanocapsules (LNCs) on a Low OXPHOS ovarian cancer Patient-Derived-Xenograft (PDX) model, alone or in combination to standard chemotherapies (carboplatin and paclitaxel). Concretely, two ferrocifens, P53 and P722, were encapsulated into 50 nm monodisperse LNCs. The surface of LNCs was decorated with a PEGylated phospholipid, DSPE-PEG2000, in order to confer stealth properties to the nanovectors. Stealth P722 LNCs in combination with chemotherapies showed higher tumor reduction than the combination with stealth P53 LNCs on a Low OXPHOS model compared to standard chemotherapie (54 % of variation and 29 % of variation respectively). These results showed that combining standard chemotherapies, carboplatin and paclitaxel, with stealth P722 LNCs could be a promising approach to treat resistant ovarian adenocarcinoma compared to chemotherapies alone.

Mots-clés : ovarian cancer, ferrocifen, lipid nanocapsule.



Communication 3

Development of innovative nanocomposite hydrogels for the treatment of Glioblastoma Multiforme.

Amel Djoudi¹, Rodolfo Molina-Pena¹, Sylvie Avril¹, Emmanuel Garcion¹, Frank Boury¹

¹CRCINA, INSERM, Université de Nantes, Université d'Angers, Angers, France

amel.djoudi@univ-angers.fr

Glioblastoma multiforme (GB) is the most aggressive and lethal subtype of brain cancer. According to the WHO, it belongs to the Grade IV brain cancers. It is highly invasive and can infiltrate cerebral tissue, and therefore the complete resection of the tumor is difficult. GB tumor is removed by surgery, but it relapses in 90% of cases, 6 to 7 months after treatment due to radiotherapy resistance. Gliadel® associated to radiotherapy and Temozolomide increases the overall survival from 1 to 2 years for GB patients. The current project is based on a new injectable nanocomposite hydrogel where a protein is encapsulated in polymeric nanoparticles (NPs). PLGA NPs are prepared via non-toxic and biocompatible solvents and are incorporated into nanocomposite hydrogels to achieve a controlled release of BMP-4, a cytokine involved in neurogenesis. Herein, a differentiating strategy is applied to lead cancer cells and more precisely cancer stem cells to acquire a less aggressive phenotype that may increase their radiotherapy sensitivity. Since brain microenvironment is composed of a Hyaluronic acid (HA) enriched extracellular matrix (ECM), we expect to develop an injectable, biocompatible, bioadhesive and biodegradable HA scaffold. HA is thus a good candidate since it possesses all those functionalities. Finally, the most challenging part of this innovative strategy is the encapsulation of the BMP protein and tuning its delivery *in situ*. The encapsulation yield and release from hydrogel will be studied *in vitro* to obtain a proof of concept regarding cytotoxicity and efficiency on fibroblast and GB cell lines. During this work, optimization of the formulation process and physico-chemical characterizations such as rheology, mechanical properties tests and others will be performed. Biocompatibility evaluation of our device on preclinical models is also expected.

Mots-clés : GB, nanocomposite hydrogel, polymeric nanoparticles.



Communication 4

Nanocristaux d'acide ursolique comme inhibiteur de la MGMT dans le traitement du glioblastome.

Marion Sicot¹, Patrick Saulnier¹, Guillaume Bastiat¹

¹Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

marion.sicot@univ-angers.fr

Les patients atteints de glioblastome sont actuellement pris en charge suivant le protocole de Stupp, qui consiste en une exérèse de la tumeur, suivie d'un protocole de radio/chimiothérapie au témozolomide (TMZ). Une des causes de résistance au traitement est l'expression de la 6-O-méthylguanine-ADN-méthyltransférase (MGMT). La MGMT retire naturellement les groupements méthyles de l'ADN pour le protéger/réparer. Cependant, l'action pharmacologique du TMZ est d'ajouter des groupements à l'ADN pour éliminer les cellules tumorales. L'action du TMZ étant inhibée par l'expression de la MGMT et la proportion de patients atteints de glioblastome exprimant la MGMT étant d'environ 45%, le but de cette étude est d'inhiber l'expression de la MGMT pour restaurer l'efficacité du TMZ. Un inhibiteur de la MGMT pouvant être utilisé pour cet objectif est l'acide ursolique (UA). L'UA diminue l'expression de la protéine et des transcrits de MGMT, améliorant ainsi la toxicité du TMZ en cotraitement sur les cellules MGMT-positives. L'UA a ensuite été formulé en nanocristaux d'environ 200nm en utilisant une méthode de cristallisation par effet antisolvant dans le but d'une administration locale. Des fluorochromes induisant un signal FRET ont été ajoutés aux formulations de nanocristaux d'UA ce qui a permis l'étude de leur internalisation (effective après 6h de contact avec des cellules MGMT-positives) et leur déstabilisation *in cellulo*. L'efficacité des nanocristaux d'UA à diminuer l'expression de la MGMT reste à étudier mais ces résultats préliminaires semblent prometteurs dans la resensibilisation des patients atteints de glioblastome résistants au TMZ.

Mots-clés : glioblastome, acide ursolique, 6-O-méthylguanine-ADN-méthyltransférase.



Communication 5

Population pharmacokinetic modelling of intravenous LNCs FRET in rat.

Vincent Lebreton^{1,2}, Norraseth Kaeokhamloed¹, Florence Gattacceca³, Patrick Saulnier^{1,2}, Emilie Roger¹, Frédéric Lagarce^{1,2}, Samuel Legeay¹

¹University of Angers, MINT Inserm 1066 CNRS, Angers, France

²CHU Angers, 4 rue Larrey, 49033 Angers, France

³Université Aix-Marseille, SMARTc Inserm U1068, CRCM, Marseille, France

vincent.lebreton@univ-angers.fr

Nanomedicines drug product which obtained the market authorization, are scarce mainly because of lack of relevant PK evaluations. This study investigated the pharmacokinetics (PK) of intact lipid nanocapsules (LNCs) after two rats intravenous injections separated by 7 days. Six different *Förster resonance energy transfer* LNCs (FRET-LNCs) have been studied with 2 sizes (50 and 85 nm) and 3 coating (none, DSPE-mPEG 2000 or stearylamine). Sprague Dawley male were chosen according to protocol APAFIS#27335-2020092411444021. The injected dose was fixed and similar 7 days after. Non-compartmental (NCA) and population compartmental (POPPK) analysis were performed using PKanalix and Monolix softwares respectively (MonolixSuite 2020R1, Lixoft, Antony, France). Covariates (type, size, size+type, occasion) were included based on the decrease of the BICc criteria. Finally, 43 kinetic profiles were obtained in 28 rats, 15 rats being used twice (430 samples, 55 missing values, 80 values below the lower limit of quantification (BLOQ)). The data were best described by a 1 compartment model with a Michaelis-Menten elimination and proportional error. The PK evaluation showed elimination of FRET-LNCs which was dependent on size and surface modification (CLLNC50PEG > CLLNC85PEG), while distribution was dependent on size (Vd LNC50 > Vd LNC85). All the parameters of the final model were estimated with a good precision, with RSE below 20% and acceptable residual error. This first PK model of intact LNCs allowed a thorough understanding of size and coating influence on pharmacokinetic properties and paves the way for future mechanistic modelling approaches to predict the fate of LNCs *in vivo*.

Mots-clés : FRET, lipid nanocapsules, population pharmacokinetics.



Communication 6

Biodistribution et interaction des nanocapsules lipidiques avec les cellules sanguines et hépatiques humaines.

Xavier NICOLAS¹, Flavien DELAPORTE¹, Pascale PIGNON¹, Yves DELNESTE¹, Emilie ROGER¹, Samuel LEGEAY¹ et Camille SAVARY¹

¹Laboratoires MiNT et CRCINA

xnicolas@etud.univ-angers.fr

L'encapsulation de molécules thérapeutiques dans des nanoparticules permet d'améliorer leur biodistribution, d'augmenter leur efficacité tout en diminuant leurs effets indésirables. Des études *in vivo* chez le rat de biodistribution de nanocapsules lipidiques (NCL) formulées au laboratoire MiNT ont montré une accumulation hépatique de ces nanoparticules mais aucune étude ne s'est intéressée à comprendre comment les NCL pouvaient arriver dans cet organe. Plusieurs hypothèses pourraient l'expliquer : i) l'internalisation par les cellules sanguines comme les neutrophiles ou les monocytes qui sont ensuite captés au niveau du foie ; ii) une accumulation directe par les cellules hépatiques comme les cellules de Kupffer ou les cellules endothéliales des sinusoides iii) une stase dans les compartiments intercellulaires comme l'espace de Disse. L'objectif de ce projet de Master 2 est donc d'étudier l'influence de la pegylation et de la taille (50 et 100 nm) sur la cinétique d'internalisation des NCL dans le sang total humain mais aussi au sein des monocytes primaires, des cellules endothéliales et enfin des cellules hépatiques (hépatocytes, macrophages, cellules étoilées). L'encapsulation d'un fluorochrome (le DiI) a permis d'établir la cinétique d'internalisation des NCL dans ces types cellulaires et de conclure à une internalisation plus lente des LNC pegylées et de petite taille. Aussi, l'étude de l'expression de marqueurs macrophagiques et du profil cytokinique ont permis de caractériser les effets d'une exposition aux NCL sur la réponse immunitaire. Ces résultats originaux nous permettent une première compréhension de la biodistribution des NCL. Ils devront être validés *in vivo* dans un objectif final d'adapter les formulations pour un ciblage ou non hépatique.

Mots-clés : nanocapsules, biodistribution, macrophages.



Session axe « Maladies dysmétaboliques – Cardiologie – Mitochondries – Thérapeutiques »

Communication 1

Validation of the blood tests MACK-3 for the non-invasive diagnosis of fibrotic NASH: an international multicentre study with 1,924 patients.

Clémence M CANIVET^{1,2}, Ming-Hua ZHENG³, Hannele YKI-JARVINENE⁴, Sven FRANQUE⁵, Wah Kheong CHAN⁶, Charlotte COSTENTIN⁷, Jacob GEORGE⁸, Elisabetta BUGIANESI⁹, Leon ADAMS¹⁰, Jean-François DUFOUR¹¹, Odile BLANCHET¹², Marine ROUX², Jérôme BOURSIER^{1,2}

¹Hepato-Gastroenterology and Digestive Oncology Department, Angers University Hospital, Angers, France

²HIFIH Laboratory UPRES EA3859, SFR 4208, Angers University, Angers, France

³Wenzhou, Chine

⁴Helsinki, Finlande

⁵Antwerp, Belgique

⁶Kuala Lumpur, Malaisie

⁷Grenoble, France

⁸Sydney, Australie

⁹Torino, Italie

¹⁰Perth, Australie

¹¹Bern, Suisse

¹²Hematology Department & CRB – BB-0033-00038, Angers University Hospital, Angers, France

clemence.canivet@chu-angers.fr

Drug development in NASH is hampered by a high screen failure rate in therapeutic trials that reaches 80%. As these trials enrol patients with fibrotic NASH, we aimed to perform an international multicentric validation of the blood test MACK-3 recently developed for this diagnostic target. 1,924 patients with biopsy proven NAFLD from 10 centres in Asia, Australia, and Europe were included. All patients had calculation of the blood tests MACK-3 and FIB4. The FAST, an elastography-based test for fibrotic NASH, was available in a subset of 655 patients. Fibrotic NASH was defined as the presence of NASH on liver biopsy with NAFLD Activity Score ≥ 4 and fibrosis stage F ≥ 2 according to the NASH CRN scoring system. AUROC of MACK-3 was 0.791 ± 0.012 , with significant difference compared to the FIB4 (AUROC: 0.698 ± 0.015 , $p < 0.001$). The previously published MACK-3 threshold < 0.135 provided 90.8% sensitivity, and specificity at the > 0.549 threshold was 84.6%. MACK-3 AUROC was not affected by age, sex, diabetes, or BMI. In the subset of 655 patients where it was available, FAST provided an AUROC 0.797 ± 0.017 vs 0.766 ± 0.019 for MACK-3 ($p = 0.033$). A sequential combination of MACK-3 with FAST detected 59% of the patients with fibrotic NASH with only 39% false positive (screen failure rate for therapeutic trials). While it resulted in 35% sensitivity, agreement between FIB4 ≥ 1.30 and MACK-3 > 0.549 or FAST ≥ 0.67 decreased the screen failure rate to only 30%. MACK-3 is an accurate tool to improve patient selection in NASH therapeutic trials.

Mots-clés : NASH, fibrosis, blood test.



Communication 2

Impact des contrôles-qualité de l'ADN mitochondrial sur son instabilité au cours du vieillissement cardiaque.

Théophile THIBAULT¹, Guy LENAERS¹, Olivier BARIS¹

¹UMR CNRS 6015, UMR INSERM 1083, institut Mitovasc, Angers, France

Les maladies cardiovasculaires sont la 1^{ère} cause de mortalité dans monde. Dans les tissus vieillissants et notamment cardiaques, on observe fréquemment une mosaïque formée par quelques cellules dont la fonction mitochondriale est diminuée au sein de nombreuses cellules saines, et qui pourrait jouer un rôle dans le vieillissement pathologique cardiaque. Cette dysfonction résulte de l'instabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt), qui subit de nombreuses délétions au cours du vieillissement. L'étude vise à déterminer l'impact de la dynamique mitochondriale et de l'autophagie sur l'instabilité de l'ADNmt en utilisant notre modèle murin de vieillissement mitochondrial accéléré TWNK, dont l'hélicase de l'ADNmt est mutée et cause l'accumulation accélérée de délétions de l'ADNmt. La souris TWNK a d'abord été croisée avec des souris knockout hétérozygotes pour des gènes cruciaux de la dynamique, OPA1delTTAG (fusion) et DRP1+/- (fission). Après validation des modèles par western blot, la proportion de délétions de l'ADNmt et de cellules dysfonctionnelles a été évaluée par qPCR et coloration enzymatique COX/SDH, respectivement. Nous n'avons pas identifié de différences entre les proportions d'ADNmt ou de délétions. Cependant, les souris TWNK-OPA1delTTAG présentent 1,6 fois plus de cardiomyocytes déficients en activité mitochondriale que les souris TWNK, suggérant un rôle protecteur de la fusion dans le vieillissement cardiaque. Nous souhaitons moduler la mitophagie par régime ou traitement pharmacologique chez les souris TWNK afin de déterminer son impact sur l'instabilité de l'ADNmt et la dysfonction des cardiomyocytes. Nous espérons en promouvant le turn-over mitochondrial, induire l'élimination de mitochondries riches en ADNmt altéré.

Mots clés : maladies cardiovasculaires, vieillissement, ADN mitochondrial.



Communication 3

Association entre horaires de travail long et cas incidents d'AVC ischémiques et hémorragiques dans la cohorte CONSTANCES.

Marc Fadel¹, Audrey Petit¹, Yves Roquelaure¹, Alexis Descatha^{1,2,3}

¹Univ Angers, CHU Angers, Univ Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMR_S 1085, SFR ICAT F-49000 Angers, France

²Department of Occupational Medicine, Epidemiology and Prevention, Northwell Health, New York, USA

³Centre antipoison et de toxicovigilance Grand Ouest, CHU Angers, Angers, France

marc.fadel@univ-angers.fr

L'organisation mondiale de la santé estime que près de 400 000 décès par AVC en 2016 étaient liés à des horaires de travail long (HTL). L'objectif est d'étudier l'association entre l'exposition aux HTL et le risque d'AVC incident ischémique et hémorragique dans une grande cohorte prospective. De 2012 à 2018, tous les participants ayant complété les questionnaires d'entrée de CONSTANCES ont été inclus. Les variables d'intérêts des volets « mode de vie » et « expositions professionnelles » des questionnaires ainsi que celles de l'examen de santé ont été recueillies. Les participants ont indiqué dans le volet « expositions professionnelles » s'ils étaient exposés à des HTL, définis comme travailler >10 heures/jour plus de 50 jours/an. Les cas incidents d'AVC ischémique ou hémorragique ont été collectés depuis. L'association entre risque d'AVC et exposition aux HTL a été évaluée par des modèles logistiques multinomiaux ajustés sur les facteurs de risque cardio-vasculaire. Sur 160751 participants, 20723 ont rapporté une exposition aux HTL pendant plus de 10 ans et 190 cas d'AVC incidents ont été retrouvés. AVC ischémique et hémorragique étaient associés à une exposition aux HTL mais seul le risque d'AVC hémorragique demeurait significatif dans les modèles ajustés : ratio risque relatif 1.92(1.01-3.09). Cette étude sur données larges confirme le lien entre HTL et AVC incidents, notamment hémorragiques. La différence entre HTL, AVC hémorragique et ischémique peut évoquer des mécanismes causaux différents de l'association et des analyses spécifiques de médiations seront nécessaires.

Mots-clés : AVC, travail, épidémiologie.



Communication 4

Post-infarct cardiac remodeling predictions with machine learning.

Dieu Xavier^{1,*}, Chabrun Floris^{1,*}, Prunier Fabrice², Reynier Pascal¹, Furber Alain², Garcia Gabriel², Bière Loïc², Mirebeau-Prunier Delphine¹

¹Univ Angers, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers, Inserm, CNRS, MITOVASC, F-49000 Angers, France

²Univ Angers, Service de Cardiologie, CHU Angers, Inserm, CNRS, MITOVASC, F-49000 Angers, France

*contributed equally

xavier.dieu@chu-angers.fr

We sought to improve the risk prediction of 3-month left ventricular remodeling (LVR) occurrence after myocardial infarction (MI), using a machine learning approach. Patients were included from a prospective cohort study analyzing the incidence of LVR in ST-elevation MI in 443 patients that were monitored at Angers University Hospital, France. Clinical, biological and cardiac magnetic resonance (CMR) imaging data from the first week post MI were collected, and LVR was assessed with CMR at 3 months. Data were processed with a machine learning pipeline using multiple feature selection algorithms to identify the most informative variables. We retrieved 133 clinical, biological and CMR imaging variables, from 379 patients with ST-elevation MI. A baseline logistic regression model using previously known variables achieved an AUC of 0.71 on the test set, with 67% sensitivity and 64% specificity. In comparison, our best predictive model was a neural network using seven variables (in order of importance): creatine kinase, mean corpuscular volume, baseline left atrial surface, history of diabetes, history of hypertension, red blood cell distribution width, and creatinine. This model achieved an AUC of 0.78 on the test set, reaching a sensitivity of 92% and a specificity of 55%, outperforming the baseline model. These preliminary results show the value of using an unbiased data-driven machine learning approach. We reached a higher level of sensitivity compared to traditional methods for the prediction of a 3-month post-MI LVR.

Mots-clés : machine learning, infarctus du myocarde, remodelage cardiaque.



Communication 5

A cell-based assay using Fura-2 fluorescent probe to characterize new ligands of NaV channels.

Léa Réthoré¹, César Mattei¹, Hélène Tricoire-Leignel¹, Daniel Henrion¹, Christian Legros¹, Claire Legendre¹

¹INSERM 1083, CNRS 6015, MITOVASC, Equipe CarMe, SFR ICAT, University of Angers, 49000 Angers, France

lea.rethore@univ-angers.fr

Voltage-gated Na⁺ (NaV) channels are key molecular components in the electrical-excitability properties of excitable cells. These ion channels are involved in various pathologies and they constitute validated pharmacological targets for a large panel of drugs, such as anti-arrhythmics, anti-convulsants, anesthetics, and analgesics. Therefore, searching for new Nav channel modulatory drugs remain highly attractive for clinical and pharmaceutical purposes. To characterize the mode of action of new toxins or drugs targeting NaV channels, cell-based assay using fluorescent probes are easy to use, cheap and reliable. In order to develop such assay, we used a model of excitable cells and made the hypothesis that the activation of NaV channels and subsequent membrane depolarization, could in turn activate CaV channels and increase the intracellular Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i). Thus, the indirect effect of NaV channel activation on [Ca²⁺]_i could be monitored using the Ca²⁺ fluorescent probe, Fura-2. GH3b6 cells were used, as they express several NaV channel subtypes, among which, NaV1.3 was predominant. As expected, the NaV channel activator veratridine (VTD) induced a [Ca²⁺]_i increase which was totally suppressed either by the selective NaV channel blocker tetrodotoxin or by the selective L-type CaV channel (LTCC) blocker nifedipine. These data demonstrated that the activation of NaV channels triggered membrane depolarization and subsequent [Ca²⁺]_i mediated by LTCC. We exploited this crosstalk between Na⁺ and Ca²⁺ channels, to characterize the pharmacological properties of new ligands of NaV channels. We evidenced that crobenetine, a novel NaV channel blocker, abolished VTD-induced [Ca²⁺]_i elevation, while it had no direct effects on LTCC, confirming its selectivity for NaV channels. Finally, we showed that brevenal, a metabolite from the dinoflagellate *Karenia brevis*, prevented ciguatoxin and brevetoxin activation of NaV channels. Both toxins are responsible of human food intoxications in Pacific, Caribbean and Indian areas, for which there is no specific treatment and for which brevenal could be a promising molecule. Altogether, our findings show that the modulation of NaV channels can be monitored in GH3b6 cells using a Ca²⁺-sensitive dye, providing a suitable and convenient assay to characterize the pharmacological properties of new ligands of NaV channels.

Mots-clés : voltage-gated sodium channels, GH3b6, Fura-2.



Communication 6

Etude *in vitro* de l'influence sur les cellules souches nerveuses endogènes d'une thérapie cellulaire pour la paralysie cérébrale.

BOUILLON Maël¹ et MONTERO-MENEI Claudia¹

¹Stagiaire M2 (Université d'Angers) au CRCINA- Equipe 5 GLIAD

mabouillon@etud.univ-angers.fr

La Paralysie Cérébrale (PC) est la déficience motrice la plus courante chez l'enfant avec une incidence de 3 pour 1000 naissances, parfois accompagnée de difficultés cognitives ou sensorielles. D'un point de vue physiopathologique, la PC se caractérise par des lésions irréversibles conduisant à un dysfonctionnement de la neurogenèse et de la gliogenèse post-natale affectant le développement du SNC, notamment au niveau des zones périventriculaires et du cortex moteur. Afin d'établir une stratégie thérapeutique visant à réparer ces lésions, mon équipe d'accueil a mis au point une thérapie cellulaire avec une sous-population homogène de cellules souches mésenchymateuses (cellules MIAMI) pré-induites vers un phénotype neural/neuronal. Ces cellules sont ensuite greffées sur des microcarriers polymériques pour stimuler leur survie après greffe. Des données récentes ont mis en évidence le rôle majeur du secrétome des cellules souches mésenchymateuses dans la réparation cérébrale. Dans cette étude, nous mettons en place une co-culture pour étudier l'effet du secrétome des cellules MIAMI seules ou portées par des microcarriers sur les CSN endogènes. Nous voulons étudier la prolifération et la survie cellulaire des CSN induite par le secrétome des cellules MIAMI. Également, dans le cas où un nombre plus important de neurones matures, d'oligodendrocytes et d'astrocytes est observé, cela témoignerait d'une neurogenèse et d'une gliogenèse plus efficaces. Finalement, cette étude *in vitro* devrait permettre de mieux comprendre l'action paracrine des cellules MIAMI sur les CSN endogènes de la niche sous ventriculaire et d'entrevoir l'utilisation de cette nouvelle thérapie cellulaire en recherche clinique pour traiter la PC.

Mots-clés : paralysie cérébrale, co-culture, action paracrine.



Communication 7

Development of dual GIP/GLP-2 analogues for the treatment of bone fragility.

Malory Couchot¹, Benoit Gobron¹, Erick Legrand^{1,2}, Béatrice Bouvard^{1,2}, Guillaume Mabillean^{1,3}

¹Univ Angers, Nantes Université, Oniris, Inserm, RMeS, REGOS, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

²Angers University Hospital, Rheumatology department, F-49000 Angers, France

³Angers University Hospital, Bone pathology unit, F-49000 Angers, France

malory.couchot@etud.univ-angers.fr

Aside from the gut microbiome, evidence has been provided in the last decade that several intestinal peptides were important for controlling bone strength. Among all gut hormones, glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-2 (GLP-2) exhibited potential effects in increasing bone material properties and strength in preclinical models. Recent studies suggest that GIP and GLP-2 exert separate effects on bone turnover and that combined administration may represent a viable alternative to treat bone fragility. The aim of the present study was to develop a series of dual GIP/GLP-2 analogues and to validate their action and potency in vitro and in vivo. An in-silico program has been developed and led to the generation of several dual GIP/GLP-2 analogues. In vitro validation has been conducted to assess receptor binding, reduction of osteoclast formation and enhancement of bone material properties. Two best candidates, GL-0001 and GL-0007, were further tested in a mice model of ovariectomy-induced bone loss and compared with 100µg/kg zoledronic acid. Three-point bending, microCT and Fourier-transform infrared microspectroscopy were performed to evaluate bone strength, microarchitecture and bone material properties. Analyses of variance have been performed and considered significant at $p < 0.05$. In vitro, dual GIP/GLP-2 analogues demonstrated different potencies in binding to hGIPr or hGLP-2r, reducing osteoclast formation and increasing collagen maturity. GL-0001 but not GL-0007 increased bone strength in OVX mice by 37% ($p = 0.003$) and more importantly, the magnitude of effect was 27% higher than with zoledronic acid. Interestingly, GL-0001 improved bone strength by enhancing significantly bone material properties and collagen maturity and limiting bone loss following ovariectomy. This study highlights the potential of dual GIP/GLP-2 analogues for the treatment of bone fragility. Further studies are required to assess the potency of these molecules in humans.

Mots-clés : fragilité osseuse, GIP, GLP-2.



Communication 8

Spectroscopie de diffusion par résonance magnétique : focus sur un nouvel outil d'analyse transposable pour le suivi de thérapies *in vivo*.

Samuel Bonnet¹, Florence Franconi^{1,2}, Laurent Lemaire^{1,2}, Sandrine Pottier^{1,3}, Arnaud Bondon^{1,3}, Maja Musse^{1,4}, Guylaine Collewet^{1,4}, François Mariette^{1,4}, Fanny Noury^{1,5}, Pierre-Antoine Eliat^{1,6,7}

¹PRISM, Biogenouest, Angers-Rennes, France

²MINT, Univ Angers, Inserm, CNRS, SFR ICAT, Angers, France

³ISCR, Univ Rennes, France

⁴INRAE UR OPAALE, Rennes, France

⁵Univ Rennes, INSERM, LTSI – U1099, F35000 Rennes, France

⁶CNRS, INSERM, BIOSIT – UMS 3480, US_S 018, F-35000 Rennes, France

⁷Univ Rennes, INRAE, INSERM, Institut NUMECAN – UMR_A 1341, UMR_S 1241, F-35000 Rennes, France

samuel.bonnet@univ-angers.fr

La spectroscopie de diffusion par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique couramment employée dans les domaines de la chimie et du biomédical, notamment pour des caractérisations *in vitro*. Toutefois, il n'existe actuellement pas de séquence dédiée utilisable sur des imageurs par résonance magnétique (IRM). Cet outil ouvrirait pourtant de nouvelles perspectives pour mesurer le coefficient de diffusion de signaux autres que celui de l'eau (molécules endogènes, médicaments, etc...), tout particulièrement lors d'études *in vivo* chez le petit animal. Une méthode de diffusométrie par spectroscopie localisée, basée sur une séquence de spectroscopie localisée PRESS1 à laquelle un motif de pondération en diffusion a été ajouté, a été développée sur les deux imageurs Bruker Biospec de la plateforme PRISM (imageurs 7T à Angers et 4.7T à Rennes). Elle a été testée à température contrôlée sur des solutions de polyéthylène glycol (PEG) de différentes masses moléculaires et des suspensions de nanocapsules lipidiques (LNC) libres ou incluses dans des gels d'agarose à différentes concentrations. Les coefficients de diffusion ont été comparés aux valeurs de références obtenues sur un spectromètre RMN Bruker 500 MHz (Plateforme PRISM, Rennes). À ce jour, cette méthode innovante est en mesure d'évaluer des coefficients de diffusion libres et restreints de signaux autres que ceux de l'eau, comme ceux des PEG, ou des lipides, qui sont des éléments constitutifs des LNC. Ces résultats ouvrent la voie à la transposition de cette méthode pour des études *in vivo* pour l'étude de l'intégrité de nanomédicaments post-administration.

Mots-clés : spectroscopie, diffusion, IRM.



Communications affichées

- P1. Mathilde Fourgeaud** (CRCI2NA)
- P2. Jérémy Richard** (MitoVasc)
- P3. Cécile Doualle** (MINT)
- P4. Bertrand Pavlovsky** (Service des Maladies du Sang, Département de Médecine Intensive Réanimation et Médecine Hyperbare, CHU Angers)
- P5. Loris Roncali** (CRCI2NA)
- P6. Marianne Schwarz** (Service des Maladies du Sang, CHU Angers)
- P7. Charles Declerck** (Service des Maladies du Sang, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Angers)
- P8. Marine Monnier** (CRCI2NA)
- P9. Chloé Delépine** (CRCI2NA)
- P10. Sihem Khelil** (MINT – CHU Angers)
- P11. Milad Baroud** (MINT)
- P12. Sébastien Wang** (MINT)
- P13. Clémence Moreau** (HIFIH)
- P14. Valentine Ghesquière** (Institut du thorax Nantes, EV-Link – Groupe dysmétabolique Angers)
- P15. Louison Bordron** (HIFIH)
- P16. Léa Tuifua** (MitoVasc)
- P17. Alexia Bodin** (MitoVasc)
- P18. Charlotte Orre** (MitoVasc)
- P19. Nolwenn Bounaix** (MitoVasc)
- P20. Florian Beignon** (MitoVasc)
- P21. Hajar Yaakoub** (IRF)
- P22. Kévin Ravenel** (IRF)



Poster 1

Interprétation fonctionnelle des variants touchant les séquences régulatrices non-codantes du gène *TP53* dans le cancer.

Fourgeaud Mathilde^{1,2}, Vergori Luisa^{1,2}, Fourage Ludivine^{1,2}, Dauvé Jonathan^{1,2}, Fey Luc², Soukarieh Omar³, Meguerditchian Caroline³, Delneste Yves¹, Bougeard Gaëlle⁴, Morel Alain^{1,2}, Tournier Isabelle^{1,2}

¹Univ Angers, INSERM U1307-CRCI2NA, Equipe 4 « Immunité Innée et Cancer », Angers

²Unité de Génomique Fonctionnelle et Département de Biologie Médicale, Institut de Cancérologie de l'Ouest, Angers

³Univ. Bordeaux, INSERM, BPH, U1219, Equipe ELEANOR, Epidémiologie moléculaire des pathologies vasculaires et cérébrales, Bordeaux

⁴Univ Rouen, INSERM U1245 - Cancer and Brain Genomics et Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rouen, Rouen

fourgeaudmathildemarie@gmail.com

Le gène suppresseur de tumeurs *TP53* est muté dans près de 40 % des cancers. La détection d'un variant délétère somatique de *TP53* est un élément important pour la classification moléculaire des tumeurs et peut être associée à un mauvais pronostic et impacter la prise en charge thérapeutique des patients. Au niveau constitutionnel, les mutations délétères de *TP53* sont associées à une prédisposition génétique à un large spectre de tumeurs de survenue précoce : le Syndrome de Li-Fraumeni (LFS). Chez ces individus, l'identification du variant pathogène est essentielle au conseil génétique et à une prise en charge médicale adaptée. Cependant, de nombreux variants détectés restent de signification biologique inconnue, et ne permettent pas de poser le diagnostic. Leur interprétation fonctionnelle est un enjeu majeur en oncologie. Le séquençage haut-débit permet maintenant le séquençage des régions régulatrices non-codantes (promoteurs, 5' et 3'UTR, introns) des gènes impliqués en cancérologie. Les données s'accumulent mais sont peu exploitées au titre du diagnostic. Pour cela, nous avons développé un test fonctionnel permettant de détecter l'impact biologique de ces variants somatiques ou constitutionnels touchant les zones promotrices ou les UTR du gène *TP53*. Ce test est basé sur l'utilisation d'un gène rapporteur luciférase. Nous souhaitons tester dans ce système les variants détectés dans les tumeurs solides des patients pris en charge à l'ICO ainsi que les variants constitutionnels détectés chez les patients pour lesquels un syndrome LFS est suspecté. Ces résultats seront également utilisés pour évaluer différents algorithmes de prédiction *in silico* spécifiques de ces régions.

Mots-clés : *TP53*, ADN non-codant, interprétation fonctionnelle.



Poster 2

Le régime cétogène renforce les effets anticancéreux via la voie PDL1 par une augmentation du métabolisme et biogénèse mitochondriale dans le carcinome rénal.

J. Richard¹, C. Beauvillain^{2, 3}, M. Benoit⁴, N. Gueguen^{1, 5}, A. Chevrollier¹, J. Bourreau¹, C. Aubert⁴, C. Rolley¹, M. Barth^{1, 6}, D. Henrion¹, V. Procaccio^{1, 6}, P. Bigot^{1, 4}

¹Univ Angers, Mitovasc Institute, UMR CNRS 6015 – INSERM U1083, SFR ICAT - Angers (France)

²Univ Angers, CRCINA, UMR CNRS 6299 – INSERM U1232, SFR ICAT - Angers (France)

³Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU Angers - Angers (France)

⁴Département d'Urologie, CHU Angers - Angers (France)

⁵Département de Biochimie, CHU Angers - Angers (France)

⁶Département de Génétique, CHU Angers - Angers (France)

jeremy.richard@univ-angers.fr

Le carcinome rénal à cellules claires (ccRCC) est caractérisé par une reprogrammation métabolique prédominante avec une production énergétique accrue via la glycolyse aérobie aux dépens de la phosphorylation oxydative, appelé "effet Warburg". Le régime cétogène (KD), consiste en un apport élevé en graisses et faible en glucides, apportant les substrats énergétiques nécessaires aux cellules saines tout en privant les cellules tumorales de glucose représentant une stratégie thérapeutique. In vitro, l'exposition aux corps cétoniques est associée à une réduction significative de la prolifération des lignées de cellules rénales (ACHN et RENCA). La croissance tumorale des xénogreffes est significativement réduite pour un modèle de souris nude. L'analyse de l'expression génique par RNA sequencing montre en particulier une surexpression de PDL-1. Nous avons traité des souris syngéniques avec un régime cétogène et/ou une immunothérapie anti-PD-L1. Nous avons constaté que le KD ralentit la croissance tumorale in vivo. Les souris traitées par une combinaison anti-PDL1 + KD ont une survie significativement augmentée. Le régime cétogène réduit de manière significative la prolifération des cellules tumorales rénales et augmente le métabolisme et la biogénèse mitochondriale. Il ralentit également la croissance tumorale des xénogreffes ACHN ainsi que des tumeurs RENCA et modifie l'immunité intratumorale associée à une surexpression de PD-L1. Ces effets bénéfiques du régime cétogène pourraient représenter une stratégie thérapeutique adjuvante en complément des immunothérapies, dans la prise en charge des patients atteints de cancer du rein métastatique. Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer les bénéfices thérapeutiques de ces stratégies métaboliques.

Mots-clés : cRCC, régime cétogène, corps cétoniques, mitochondrie, immunothérapie.



Poster 3

Mise au point et caractérisation d'un modèle de cellules souches de glioblastome.

Cécile Doualle¹, Julien Gouju¹, Audrey Griveau¹, Yousra Nouari¹, Patrick Saulnier¹, Joël Eyer¹, Franck Letournel¹

¹MINT U1066

cecile.doualle@etud.univ-angers.fr

Le glioblastome est la tumeur primitive la plus fréquente et agressive du système nerveux central. Les traitements actuels sont insuffisants et les rechutes, systématiques. En conséquence, l'espérance de vie des patients au diagnostic est d'environ 15 mois. La résistance au traitement et les rechutes sont attribuées en partie à la présence de cellules souches de glioblastome (CSG) au sein de la tumeur. Mieux comprendre les mécanismes de résistance de ces CSG permettrait de mettre au point des thérapies efficaces contre le glioblastome. Afin d'étudier leurs caractéristiques, deux types de modèles *in vitro* de CSG peuvent être utilisés : des cellules issues d'échantillons primaires ou des cellules dédifférenciées à partir de lignées de GBM. Les CSG induites par dédifférenciation sont plus faciles à étudier. Un protocole de dédifférenciation a donc été optimisé sur 4 lignées humaines de glioblastome (U87MG, U118MG, U251MG et T98G). Ce protocole nous permet d'obtenir rapidement des gliosphères, qui sont des structures cellulaires 3D caractéristiques des CSG. Les gliosphères obtenues sont morphologiquement similaires à celles formées par deux lignées de CSG primaires. En comparaison avec les lignées d'origine, nous avons montré, par cytométrie en flux et RT-qPCR, que les cellules dédifférenciées surexprimaient des marqueurs de cellules souches (tels que SOX2) et des marqueurs associés au phénotype mésenchymal de CSG (tels que CD44). Ce dernier est classiquement associé à des caractères d'agressivité tels que la résistance aux traitements. Ces cellules constituent donc un modèle robuste pour l'étude cellulaire et moléculaire des CSG et pour le développement de thérapies ciblées.

Mots-clés : glioblastome, cellules souches, modèle *in vitro*.



Poster 4

Caractéristiques et pronostic des manifestations neurologiques centrales chez les patients pris en charge en Soins Intensifs d'Hématologie.

B. Pavlovsky^{1,2}, A. Kouatchet², M. Taillantou-Candau², J. Riou³, L. Autier⁴, JB. Girot⁵, C. Darii⁵, S. Thepot^{1,6,7}, M. Hunault-Berger^{1,6,7}, A. Schmidt-Tanguy^{1,6,7}, C. Orvain^{1,6,7}

¹Service des Maladies du Sang, CHU d'Angers, Angers, France.

²Département de Médecine Intensive Réanimation et Médecine Hyperbare, CHU d'Angers, Angers, France.

³Université d'Angers, INSERM 1066 MINT, Angers, France.

⁴Département de Neurologie, CHU d'Angers, Angers, France.

⁵Département de Radiologie et Imagerie Médicale, CHU d'Angers, Angers, France.

⁶Fédération Hospitalo-Universitaire Grand-Ouest Acute Leukemia, FHU-GOAL

⁷Université d'Angers, INSERM UMR 1307, CNRS UMR 6075, Angers, France.

La caractérisation des complications intéressant le système nerveux central (SNC) des patients présentant une hémopathie avec traitement intensif sont mal connus. L'objectif de notre étude est d'étudier les manifestations neurologiques dans cette population. Tous les patients pris en charge en Soins Intensifs d'Hématologie au CHU d'Angers entre 01/2015 et 12/2019 étaient pré-inclus. Les dossiers cliniques des patients ayant fait l'objet d'une imagerie cérébrale étaient relus. Ceux présentant une manifestation neurologique centrale confirmée étaient inclus et analysés de façon rétrospective. Les atteintes primitives du SNC étaient exclues. Les variables associées à une surmortalité étaient explorées par analyse de régression multiple. 904 patients étaient pré-inclus. 80 patients présentaient une atteinte non-primitive du SNC et avaient reçu une imagerie cérébrale (8,8%). L'âge était de 55 [44-66] ans. 34 patients recevaient de la chimiothérapie intensive seule (43%), 39 (49%) une allogreffe et 7 (9%) une autogreffe de cellules souches. 21 avaient reçu de fortes doses cumulées de chimiothérapie (26%) ; 22 présentaient un sepsis au diagnostic de l'événement (28%). Les manifestations cliniques se répartissaient ainsi: confusion (44%), céphalées (39%), déficit (25%), coma (15%) et convulsions (5%). 19 patients présentaient des anomalies à l'imagerie (24%). 32 patients étaient décédés à un an (40%). Les facteurs associés de façon indépendante à la mortalité étaient l'âge >65 ans : 2.77 [1.26-6.11] (p=0.012) ; la présence d'un déficit : 3.51 [1.65-7.44] (p=0.001) ; le sepsis : 2.75 [1.29-8.55] (p=0.009) ; et l'exposition à de fortes doses cumulées de chimiothérapie : 2.15 [1.00-1.54] (p=0.049). La prévalence des événements neurologiques est de 8.8% dans cette population, avec une mortalité de 40%. L'âge, l'existence d'un déficit, le sepsis, l'exposition à de fortes doses de chimiothérapie étaient associés à une surmortalité.



Poster 5

Locoregional Astatine-211 Radioimmunotherapy Targeting Syndecan-1 in a Syngeneic Glioblastoma Mouse Model.

Loris Roncali^{1,2}, Charlotte Roy^{1,3}, Séverine Marionneau-Lambot^{2,4,5}, Sébastien Gouard^{2,6}, Romain Eychenne^{2,6}, Sylvie Avril¹, François Guérard², François Hindré^{1,3}, Michel Chérel^{2,4,5,6,7*}, Emmanuel Garcion^{1,3,8,*}

¹Université d'Angers, Inserm U1307, CNRS U6075, Nantes Université, CRCI2NA, Angers - France

²Nantes Université, Inserm U1307, CNRS U6075, Université d'Angers, CRCI2NA, Nantes - France

³PRIMEX (Plateforme de Radiobiologie et d'Imageries Expérimentales), SFR 4208, Université d'Angers, Angers - France

⁴Department of Nuclear Medicine, CHU Nantes, Nantes - France

⁵CIMA (Centre d'Imagerie Multi-modalités et Applications), Inserm U1307, CNRS U6075, Nantes Université, CRCI2NA, Angers - France

⁶Groupement d'Intérêt Public ARRONAX, Saint-Herblain - France

⁷ICO (Institut de cancérologie de l'Ouest) - René Gauducheau Cancer Center, Saint-Herblain - France

⁸PACEM (Plateforme d'Analyse Cellulaire et Moléculaire), SFR 4208, Université d'Angers, Angers - France

* Equivalent contribution

loris.roncali@etud.univ-angers.fr

Glioblastoma (GB) is the most common and aggressive brain tumor. The actual first-line treatment combines surgery, radiotherapy, and chemotherapy but limits overall survival to a 15 months median. Facing this clinical situation, locoregional vectorized radiotherapy appears as a promising prospect. Our current objective is to develop an α -radioimmunotherapy based on astatine-211 (^{211}At) associated with a monoclonal antibody (9E7.4) targeting syndecan-1, a GB biomarker linked to proliferation, migration, invasion and stemness. C57BL/6j mice were injected in the striatum with 50000 GL261 GB cells. To evaluate biodistribution and brain diffusion of our radiopharmaceutical, mice were injected 11 days after engraftment by convection-enhanced delivery with iodine-125-radiolabeled 9E7.4 ($n=3$ in each group). Locoregional brain diffusion was assessed by digital autoradiography and global biodistribution through gamma counting. To evaluate the overall survival, mice received a single injection of 200kBq ($n=5$) or 500kBq ($n=5$) of ^{211}At -9E7.4. The C57BL/6j-GL261 model shows a 35-days survival median ($n=6$). Biodistribution study exposes 60% of radioactivity retention in the brain 2 hours after injection and a low fixation to other tissues over time (from 1h to 72h). Digital autoradiography exhibits a local diffusion of the radioactivity around the injection site. Although survival trials are still ongoing, first results with ^{211}At -9E7.4 therapy shows a prolonged survival up to 59 days with an impact on the nature of the tumor. Altogether, these results demonstrate the low systemic toxicity induced by this strategy, allowing to concentrate radioactivity on targeted cell populations thus leading to a prolonged survival of the treated C57BL/6j animals bearing GB.

Mots-clés : glioblastoma, radioimmunotherapy, monoclonal antibody.



Poster 6

Prophylaxie pré-exposition anti SARS-CoV-2 par anticorps monoclonaux, description d'une cohorte de patient allogreffé suivi au CHU d'Angers.

Marianne Schwarz¹, Carole Mosnier¹, Elise Bouthry², Alexandra Ducancelle², Aurélien Giltat¹, Sylvie François¹, Véronique Le Pecheur⁴, Vincent Dubée³, Aline Schmidt-Tanguy^{1, 5, 6}, Mathilde Hunault-Berger^{1, 5, 6}, Sylvain Thépot^{1, 5, 6}

¹Maladie du sang CHU Angers, Angers, France

²Laboratoire de virologie CHU Angers, Angers, France

³Maladie infectieuse et tropicale CHU Angers, Angers, France

⁴Pharmacie hospitalière CHU Angers, Angers, France

⁵Fédération Hospitalo-Universitaire Grand Ouest Acute Leukemia, FHU GOAL

⁶Université d'Angers, Inserm UMR 1307, CNRS UMR 6075, Nantes Université, CRCI2NA, F-4900 Angers

marianne.schwarz@chu-angers.fr

Deux anticorps monoclonaux ont obtenu une autorisation d'utilisation en 2021 en prophylaxie pré-exposition du COVID-19. Mais aucunes données de tolérance ou d'efficacité n'étaient disponibles chez les allogreffés. Etude rétrospective monocentrique de tous les patients allogreffés et ayant reçu au moins 2 doses de vaccin contre le COVID-19 entre janvier 2021 et mars 2022. 117 patients inclus, 102 patients répondeurs à 3 doses de vaccins et 15 patients non répondeurs. Le délai médian entre la greffe et la première vaccination était de 42,1 mois [3,1-342] chez les répondeurs et de 4,5 mois [3,1-35,1] chez les non répondeurs. 93% des non répondeurs étaient sous immunosuppresseurs vs 5% chez les répondeurs. Tous les non répondeurs ont été exposés à une corticothérapie de 236,5 jours de médiane [37-771]. Le phénotypage des lymphocytes réalisé avant la première injection d'anticorps retrouve un taux de lymphocytes médian à 882,5 cellules/ μ L [161-2831], 66% présentent une lymphopénie CD4 profonde. Sur les 33 injections de casirivimab/imdevimab réalisées, aucun effet indésirable n'a été rapporté. Devant l'inefficacité du casirivimab/imdevimab sur le variant OMICRON, les injections sont suspendues en décembre 2021, un relais par tixagévimab/cilgavimab est réalisé chez 10 patients. Deux patients vont présenter une infection non grave au variant OMICRON pendant le suivi. 14% des patients allogreffés ne répondent pas à 3 doses de vaccins. Leur profil est spécifique : sous immunosuppresseurs, allogreffe récente et lymphopénie T CD4. Aucun effet indésirable n'est rapporté après les injections d'anticorps monoclonaux.

Mots-clés : allogreffe, COVID19, vaccination.



Poster 7

Impact positif d'un protocole de prélèvement d'un set unique d'hémocultures en soins intensifs d'hématologie : amélioration diagnostique.

Charles Declerck^{1,2}, Aurélien Giltat^{1,3}, Marie Kempf⁴, Achille Kouatchet⁵, Rafael Mahieu², Mathilde Hunault-Berger^{1,3,6}, Aline Schmidt-Tanguy^{1,3,6}, Corentin Orvain^{1,3,6}

¹Service des Maladies du Sang, CHU Angers, Angers, France

²Service des maladies infectieuses et tropicales, CHU Angers, Angers, France

³Fédération Hospitalo-Universitaire Grand-Ouest Acute Leukemia, FHU-GOAL, Angers, France

⁴Département des agents infectieux, CHU Angers, Angers, France

⁵Médecine intensive et Réanimation, CHU Angers, Angers, France

⁶Univ Angers, Inserm, CRCINA, F-49000 Angers, Angers, France

Les épisodes fébriles, fréquent chez les patients atteints d'hémopathie, sont peu documentés microbiologiquement. L'objectif de ce travail est de décrire la mise en place et l'impact d'une procédure de prélèvement unique de 4 flacons d'hémocultures en soins intensifs d'hématologie. L'étude rétrospective monocentrique inclut les patients présentant un épisode fébrile dans l'unité de soins intensifs d'hématologie d'un CHU. En période 1 (09/2019 – 01/2020), une paire d'hémocultures était réalisé quotidiennement en cas de fièvre persistante. En période 2 (02/2020 – 07/2020) et en période 3 (08/2020 – 01/2021), un set de 4 flacons d'hémocultures était réalisé avec nouveau prélèvement si modification clinique ou fièvre persistante à J3. 198 patients ont été inclus pour un total de 445 épisodes fébriles. La majorité des patients était hospitalisée pour des autogreffes de CSP (21,8%) ou des chimiothérapies d'induction de LAM (19,3%). 3087 flacons d'hémocultures ont été prélevés avec 436 flacons positifs, correspondant à 104 bactériémies. Le nombre de bactériémies est resté stable avec respectivement 30 (19%), 34 (23%) et 40 (29%) épisodes pour les périodes 1, 2 et 3 mais avec une différence significative détectée entre les périodes 1 et 3 ($p = 0,05$) non retrouvée entre les périodes 1 et 2 et les périodes 1 et 3 ($p = 0,37$ et $0,29$ respectivement). 28 passages en réanimation et 26 décès ont été comptabilisés sans différence significative. Un prélèvement unique de 4 flacons semble améliorer les performances diagnostiques des hémocultures au cours des épisodes fébriles en soins intensifs d'hématologie sans engendrer de retard diagnostic pour le patient.

Mots-clés : hémocultures, neutropénie fébrile.



Poster 8

Impact du corps cétonique acétoacétate sur la polarisation fonctionnelle des macrophages humains.

Marine Monnier¹, Laurence Preisser¹, Alain Morel^{1,2}, Yves Delneste¹, Pascale Jeannin^{1,3}

¹Univ Angers, Nantes Université, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000 Angers

²Institut de Cancérologie de l'Ouest, ICO, F-49000 Angers

³Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, F-49000 Angers

marine.monnier@univ-angers.fr

Les macrophages sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques. Ils présentent donc une grande diversité de fonction, associée à une multitude de phénotypes. L'acquisition du phénotype est dictée par la nature et la quantité de signaux présents, localement, dans le tissu dans lequel ils résident. De plus, le phénotype des macrophages n'est pas figé et peut être profondément modifié lorsque l'environnement tissulaire varie, comme au cours de pathologies chroniques. Ce processus d'adaptation est appelé plasticité. De nombreuses études ont montré le rôle central des modifications épigénétiques dans la polarisation des macrophages. Nous avons montré que le corps cétonique acétoacétate (AcAc) induit *in vitro* la génération d'un nouveau sous type de macrophages. De manière intéressante, nous avons observé que l'acquisition de ce phénotype s'accompagne d'une expression séquentielle de transcrits codant pour des gènes de l'inflammation et des facteurs de croissance. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer les modifications épigénétiques induites par l'AcAc sur l'expression de gènes cibles. Les résultats montrent que l'acquisition de ce phénotype repose sur des modifications des niveaux de méthylation de l'histone H3K27 sur les promoteurs des gènes cibles. Ces données apportent des données nouvelles sur les mécanismes moléculaires impliqués dans la plasticité des macrophages humains.

Mots-clés : macrophages, acétoacétate, polarisation fonctionnelle, épigénétique.



Poster 9

Role of interleukin-34 in pancreatic physiology.

Chloé Delépine¹, Laurence Preisser¹, Raffaella Soleti¹, Laetitia Basset¹, Yves Delneste¹, Pascale Jeannin^{1,2}, Céline Beauvillain^{1,2}

¹Université Angers, Université de Nantes, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000, France

²Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers, France

chloe.delepine@etud.univ-angers.fr

Type 2 diabetes is mostly induced by obesity, and is characterized by sustained hyperglycemia linked to a decreased insulin tissue sensitivity associated to adipose tissue expansion and accompanied by inflammation. This inflammation leads to monocytes recruitment in the pancreas that will differentiate into proinflammatory macrophages. Macrophages play various roles in tissue homeostasis and repair, host defense and inflammation. They are plastic cells that polarize in different ways depending on the signal they receive. Among these signals, Interleukin 34 (IL-34) an alternative ligand for CD115 as well as M-CSF regulates macrophages survival and confers an immunoregulatory phenotype. In the laboratory, we have observed a constitutive production of IL-34 by β -cells from human pancreas Langerhans islets. Interestingly, this expression is increased in Langerhans islets of type 2 diabetic patients. Moreover, data from literature have involved IL-34 in type 2 diabetes suggesting that this cytokine could be associated with insulin resistance in the disease. Therefore, we have set up a mouse model invalidated for the IL-34 gene in the pancreatic- β -cells (IL-34 KO). This in vivo model has allowed to measure metabolic parameters in physiological and type 2 diabetes conditions. In physiological conditions, we observed that female IL-34 KO mice are more insulin sensitive than control mice. Moreover, diet-induced obesity accelerates the insulin resistance process in control mice but not in IL-34 KO mice. These preliminary results suggest that IL-34 could be a therapeutic target in diabetes due to its direct action on the pancreas or indirectly via pancreatic macrophages.

Mots-clés : interleukin 34, type 2 diabetes, pancreas.



Poster 10

Development of lipid nanocapsule for oral treatment of liver cancer.

S. Khelil¹, N. Lautram¹, D. Dallerac¹, M.-V. Venier-Julienne¹, C. Savary¹, E. Roger¹

¹Univ Angers, [CHU Angers], Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

sihem.khelil@etud.univ-angers.fr

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the second cause of cancer-related deaths worldwide, and the fifth most common tumor. HCC diagnosis is established at advanced stages leaving limited treatment options available. Sorafenib (SFN), the first drug approved for patients with advanced-stage HCC (SHARP study) is currently used as second line treatment in France, in case of failure or contraindication to immunotherapy. SFN is an oral kinase inhibitor exerting both antiangiogenic and direct antitumor effects. However, oral treatment by SFN demonstrated significant shortcomings such as low bioavailability, serious adverse effects, and resistance. To overcome these drawbacks, this study aims to encapsulate SFN into lipid nanocapsules (LNCs) for orally administrated treatment of HCC. Firstly, SFNs solubility was evaluated in different excipients, and a maximum solubility of 74.7 mg/g was reached in the co-solvent Transcutol® HP. Then, LNCs were formulated according to phase inversion method. A phase diagram varying three main components was established to determine the feasibility zone in which LNCs were formed. A design of experiment within the targeted feasibility domain has been used to determine, through a valid model, the quantitative composition of the desired size of the nanocapsules. LNCs with a size between 30 to 150nm with a PDI less than 0.25 were obtained. Optimized formulation composition has been determined and further characterization will be explored. Furthermore, a novel analytical method (UPLC-UV) was developed to quantify Sorafenib and is being validated according to ICH Q2R guidelines. Moreover, *In-vitro* cytotoxicity studies will be performed on HepG2, Huh7 and Huh7 coupled to LX2 cells to study SFN's resistance.

Mots-clés : hepatocellular carcinoma, lipid nanocapsule, sorafenib.



Poster 11(absent)

Self-assemblies of azacitidine prodrugs: a promising strategy of treatment for myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia.

Milad Baroud¹, Elise Lepeltier¹, Yolla El-Makhour², Sylvain Thepot^{3, 4, 5} and Olivier Duval^{1,3}

¹*Micro & Nanomedecines Translationnelles (MINT), University of Angers, France, 49933 Angers.*

²*Environmental Health Research Lab, Faculty of Science, Lebanese University, Lebanon, 1700 Nabatieh.*

³*Department of Hematology, University Hospital of Angers, France, 49933 Angers.*

⁴*Federation Hospital of Universitaire Grand Ouest Acute Leukemia (FHU GOAL), France, 49933 Angers.*

⁵*Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes Angers (CRCINA), University of Angers, France, 49933 Angers.*

milad.baroud@univ-angers.fr

5-Azacitidine, a cytidine analogue used as a hypomethylating agent, is one of the main drugs for the treatment of myelodysplastic syndromes (MDSs) and acute myeloid leukemia (AML) in the elderly¹. However, after administration, it exhibits several limitations, including restricted diffusion and cellular internalization due to its hydrophilicity, and a rapid enzymatic degradation by adenosine deaminase². The aim of this study was to improve the drug cell diffusion and protect it from metabolic degradation via the synthesis of amphiphilic prodrugs and their potential self-assembly³. Azacitidine was conjugated to two different omega-3 fatty acids, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). The carboxylic acid group of the omega-3 fatty acids was effectively conjugated to the amine group of the azacitidine base, yielding two amphiphilic prodrugs that are uniquely cathepsin-B cleavable⁴. Nanoprecipitation of the obtained prodrugs was performed and self-assemblies were successfully obtained for both prodrugs, with a mean diameter of 190 nm, a polydispersity index below 0.2 and a positive zeta potential. The formation of self-assemblies was confirmed using pyrene as a fluorescent dye, and the critical aggregation concentrations were determined: 400 μ M for AzaEPA and 688 μ M for AzaDHA. Additionally, the stability of the obtained self-assemblies was studied and after 5 days their final stable arrangement was reached. Additionally, cryo-TEM revealed that the self-assemblies attain a multilamellar vesicle supramolecular structure. Moreover, the obtained self-assemblies were tested in vitro on HL-60 cell line (acute myeloid leukemia) presenting a promising cytotoxicity with a low IC₅₀ value, comparable to that of free azacitidine.

Mots-clés : prodrug, self-assembly, cathepsin B.



Poster 12

Formulation of vancomycin nanocomplexes through a microfluidic process for the treatment of *Clostridium Difficile* infections.

Sébastien Wang¹, Guillaume Lefebvre¹, Camille Savary¹, Jean-Christophe Gimel¹, Marie Bonnin¹, Brice Calvignac^{1*}

¹MINT, Université d'Angers, INSERM UMR 1066, CNRS UMR 6021, Angers, France

*corresponding author

sebastien.wang@univ-angers.fr

Resistance to traditional antimicrobial therapies is a rapidly increasing problem that could make infections difficult to treat. Indeed, the worldwide extensive use of antimicrobials has led to the apparition of a growing multiresistance phenomenon. At the same time, medicine faces many technological shortcomings that the development of new therapeutic systems, such as Drug Delivery Systems (DDS), tries to overcome. The project challenge is to develop an effective formulation process of vancomycin DDS. Vancomycin is an antibiotic used to treat bacterial infections, such as *Clostridium Difficile* colitis. It is one of the most prescribed antibiotics for nosocomial infections but has a poor targeted efficiency. One of the solutions could be the nanocomplexation of vancomycin with an anionic polyelectrolyte such as polyacrylic acid (PAA). Polyelectrolyte complexes (PECs) have been investigated as DDS for their favorable characteristics: high biocompatibility and biodegradability, low toxicity, and green production. Their formulation through a microfluidic process is a mean of controlling and optimizing the formulation parameters. The results of this study introduce the nanocomplexation of Vancomycin and PAA, more particularly the link between the parameters that need to be controlled for an efficient nanocomplexation (pH of polyelectrolytes solution and +/- charge molar ratio) and the PECs physico-chemical properties: turbidity, size and polydispersity, zeta potential, drug loading and nanocomplexation efficiency. Promising preliminary results will be followed by an in vitro evaluation of the PECs to test their release kinetics, cellular toxicity, biological activity, and the particle / pathogen interaction.

Mots-clés : nanocomplexes, microfluidic, vancomycin.



Poster 13

Comparison of multiple dynamic predictive accuracies.

Clémence Moreau¹, Jérémie Riou^{2, 3}, Marine Roux¹

¹HIFIH, UPRES 3859, SFR 4208, Angers University, France (presenting author)

²MINT, UMR INSERM 1066, CNRS 6021, Angers University, France

³Methodology and Biostatistics Department, Delegation to Clinical Research and Innovation, Angers University Hospital, France

clemoreau@etud.univ-angers.fr

With the development of personalized medicine, the study of individual prognosis appears to be a major contemporary scientific issue. Dynamic models are particularly well adapted to such studies by allowing some potential changes in the follow-up to be taken into account. In particular, this leads to more accurate predictions by updating the available information throughout the patient monitoring. Some mathematical tools have been developed to quantify and compare the effectiveness of dynamic predictions using dynamic versions of the Area Under the ROC curve (AUC) and the Brier score in the competing risks setting. Nevertheless, only two predictions can be compared. This may be too restrictive in a clinical context where more and more information can be collected during patient follow-up thanks to recent technological advances. Here, a new procedure which allows multiple comparisons and based on dynamic AUC or Brier score is proposed. Performances of our testing procedure were assessed by simulations. Moreover, a motivating application in hepatology will be presented, which aimed at identifying the most appropriate biomarker to predict liver-related complications of patients with liver fibrosis. The new procedure will select it among a set of candidate biomarkers while controlling the probability to make at least one false discovery. Finally, this work allows to compare more than two dynamic predictive accuracies and is available through R functions on GitHub.

Mots-clés : dynamic AUC & brier score, dynamic prediction, prediction accuracy.



Poster 14

Complications métaboliques et obésité : rôle des lipides associés aux vésicules extracellulaires.

Valentine Ghesquière^{1,2}, Josy-Anne Froger^{1,2}, Mikaël Croyal^{1,3}, Lionel Fizanne⁴, Grégory Hilaiet², Jérôme Boursier^{4,5}, Samy Hadjhadj^{1,3}, Bertrand Cariou¹, Soazig Le Lay^{1,2}

¹L'institut du thorax, INSERMU1087, Equipe IV, Groupe EV-Link, Nantes, France

²SFR ICAT, Groupe dysmétabolique artériel, University of Angers, F-49000 Angers

³Mass Spectrometry Core Facility (CRNH-O), Nantes

⁴HIF1H Laboratory, EA 3859, University of Angers, Angers

⁵Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers

valentine.ghesquiere@etu.univ-nantes.fr

Les vésicules extracellulaires (VEs) sont des nanovésicules dérivées des membranes cellulaires capable de transférer, à des cellules cibles, du matériel biologique issu de la cellule d'origine. Sécrétées dans le milieu extracellulaire par tout type cellulaire, ces VEs sont des actrices de la communication intercellulaire. Les sujets obèses présentent une élévation significative des VEs plasmatiques circulantes corrélant avec leur indice de masse corporelle et le degré de résistance à l'insuline, suggérant la participation des VEs adipeuses dans le développement des complications cardiométaboliques à l'image du diabète de type II (DT2). Les nombreuses études dédiées à la caractérisation des VEs ont porté sur leur contenu génomique ou protéique, négligeant leur composante lipidique. Nos précédents travaux ont révélé une altération du phospholipidome membranaire de VE adipeuses murines se caractérisant par un enrichissement phospholipides mitochondriaux, en sphingolipides (associés au développement du DT2) et en espèces lipidiques pro-inflammatoires. Ces lipides vésiculaires pourraient donc constituer des médiateurs lipidiques de la dysfonction mitochondriale, l'insulino-résistance ou l'inflammation chronique de bas-grade associée à l'obésité. Notre objectif est de réaliser le profilage lipidique de VE plasmatiques humaines isolées de patients souffrant de troubles métaboliques (syndrome métabolique/Cohorte Metabol CHU Angers) et d'étudier l'impact de la chirurgie bariatrique sur le profil lipidique vésiculaire (Cohorte NBC, CHU Nantes). Nos analyses associant le lipidome des VE plasmatiques, les données cliniques des patients et l'origine cellulaire des VE plasmatiques (par cytométrie en flux) permettra de conclure quant à la valeur diagnostic/pronostic des lipides vésiculaires dans le développement des complications cardiométaboliques associées à l'obésité.

Mots-clés : obésité, vésicules extracellulaires, lipides.



Poster 15 (absent)

Les vésicules extracellulaires bactériennes : nouveaux biomarqueurs de l'atteinte hépatique des maladies dysmétaboliques.

Bordron Louison¹, Lionel Fizanne¹, Grégory Hilairret³, Josy-Anne Froger^{3, 4}, Valentine Ghesquière^{3, 4}, Soazig Le Lay^{3, 4} et Jérôme Boursier^{1, 2}

¹HIFIH Laboratory, EA 3859, University of Angers, Angers

²Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers

³SFR ICAT, Groupe dysmétabolique angevin, University of Angers, F-49000 Angers

⁴L'institut du thorax, INSERMU1087, Equipe IV, Groupe EV-Link, Nantes, France

louison.bordron@etud.univ-angers.fr & lionel.fizanne@univ-angers.fr

La stéatohépatite non-alcoolique (NASH), considérée comme la manifestation hépatique du syndrome métabolique, se caractérise des lésions hépatiques conduisant au développement d'une fibrose hépatique, une cirrhose et au cancer du foie. Chez l'homme, la NASH est associée à une dysbiose du microbiote intestinal et plasmatique mais les mécanismes sous-jacents l'interaction microbiote-foie sont méconnus. Les vésicules extracellulaires (VE), nanovésicules sécrétées par les cellules procaryotes et eucaryotes, sont des acteurs de la communication intercellulaire via le transfert de matériel biologique. Nos précédents travaux ont ainsi révélé la capacité des VE dérivées du microbiote intestinal de patients NASH à altérer la barrière intestinale de souris saines. Nous faisons l'hypothèse que les VE dérivées du microbiote sont des vecteurs métaboliques participant au développement de la maladie hépatique dysmétabolique. Les VE du microbiote seront isolées à partir de fèces et de plasma de patients à tous les stades de la maladie hépatique (stéatose simple et NASH; cohorte SNIFF, Service Hépatogastro-Entérologie ; CHU d'Angers). Des analyses quantitatives, qualitatives et métagénomiques comparatives entre le pool de VE bactériennes intestinal et plasmatique seront réalisées. La valeur diagnostique/pronostique des VE dans la sévérité de la pathogenèse hépatique sera évaluée. Enfin, les effets métaboliques des VEs dérivées du microbiote de patients sains et/ou souffrant de stéatose/NASH seront étudiés *in vitro* et *in vivo* sur des modèles cellulaires et/ou précliniques prône à développer une dysfonction hépatique. L'ensemble des résultats permettra de conclure quant à la participation des VE du microbiote dans la sévérité de la maladie hépatique dysmétabolique.

Mots-clés : microbiote, vésicules extracellulaires, NASH.



Poster 16

Caractérisation de l'influence de TRPV1mito sur la respiration mitochondriale.

L. Tuifua¹, F. Beignon¹, C. Mattei¹, N. Gueguen¹ & G. Lenaers¹

¹UMR CNRS 6015 - INSERM U1083 Unité MITOVASC, Equipe MITOLAB

leatuifua@hotmail.fr

La mitochondrie est l'organite producteur de l'énergie cellulaire à la fois sous forme d'ATP et en grande majorité sous forme de chaleur. Cependant, les régulations de la thermogénèse cellulaire par la mitochondrie demeurent très peu étudiées, alors que des données récentes indiquent que la température mitochondriale est comprise entre 45-50°C, température pour laquelle l'activité de la chaîne respiratoire est maximale. Dans l'optique de mieux comprendre les mécanismes physiologiques de la thermogénèse cellulaire et patho-physiologiques de l'hyperthermie maligne et du coup de chaleur d'exercice, nous avons caractérisé un isoforme du canal TRPV1, un acteur moléculaire potentiellement impliqué dans la régulation de la thermogénèse mitochondriale. En effet, TRPV1 est sensible à des températures élevées (>43°C) et son activité permet de générer des flux de Ca²⁺, connu pour être un régulateur important de la fonction mitochondriale. Après avoir identifié TRPV1mito, un variant du canal TRPV1 présentant une séquence d'adressage mitochondriale, nous nous sommes intéressés à son implication dans la régulation de la respiration mitochondriale. Des cellules HEK293 sur-exprimant le variant TRPV1mito ont été perméabilisées afin de mesurer la respiration mitochondriale sous différentes conditions. Grâce à cette approche, nous espérons observer des modifications de la respiration mitochondriale en fonction de la présence de calcium et/ou de l'activation pharmacologique de TRPV1mito et de la température mitochondriale. Ceci permettrait de démontrer que mitoTRPV1 agit comme un thermostat de la mitochondrie.

Mots-clés : mitochondrie, TRPV1, calcium.



Poster 17

Identification d'une nouvelle localisation intracellulaire de la protéine TDP-43.

Alexia Bodin¹, Logan Grebill², Guy Lenaers¹, Arnaud Chevrollier¹, Anne-Marie Tassin², Philippe Codron^{1, 3, 4}

¹Univ Angers, Inserm, CNRS, MITOVASC, SFR ICAT, Angers, France

²Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Univ. Paris Sud, Université Paris-Saclay, Gif sur Yvette, France

³Laboratoire de neurobiologie et neuropathologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France

⁴Centre de ressources et de compétences sur la SLA, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France

alexbo@etud.univ-angers.fr

TDP-43 est une protéine nucléaire ubiquitaire appartenant à la famille des RNA Binding Protein (RBP), qui jouent un rôle clé dans la régulation post-transcriptionnelle des ARN. TDP-43 est un acteur central dans la physiopathologie de la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et de la Dégénérescence Lobaire Fronto-Temporale (DLFT). Les mécanismes à l'origine de la neurodégénérescence dans ces deux maladies restent toutefois encore mal compris. Récemment, plusieurs travaux ont mis en avant la localisation préférentielle des RBP au sein du centrosome des cellules. Compte tenu des caractéristiques structurales et fonctionnelles de TDP-43, nous avons émis l'hypothèse que cette protéine pourrait être enrichie au centrosome. Nous avons étudié la présence de TDP-43 au sein du centrosome de cellules en culture à l'aide de techniques spécifiques et résolutive telles que la purification de centrosome et la microscopie STORM. L'approche en microscopie optique nous a permis d'observer une localisation de TDP-43 au sein du centrosome des cellules, et ce tout au long du cycle cellulaire. Sur centrosomes isolés nous avons également détecté la présence de TDP-43 au centrosome par Western Blot et immunofluorescence. Enfin, la microscopie super résolutive nous a permis de préciser l'utralocalisation de TDP-43 qui semble être associée à la matrice péricentriolaire plutôt qu'aux centrioles ou aux appendices distaux. Cette étude nous a permis d'identifier une nouvelle localisation de la protéine TDP-43, suggérant des fonctions jusqu'alors inconnues de cette protéine qui pourraient être impliquées dans la physiopathologie de la SLA et de la DLFT.

Mots-clés : amyotrophic lateral sclerosis (ALS), TDP-43, centrosome.



Poster 18

Le long ARN non codant SAMMSON est un régulateur de la chimiosensibilité et de l'orientation métabolique des cellules de cancer du sein résistant à la doxorubicine.

Charlotte Orre¹, Seyedeh Tayebah Ahmadpour², Jean-Francois Dumas², Salim Khiati¹, Arnaud Chevrollier¹, Delphine Prunier^{1,3}, Valérie Desquirit-Dumas^{1,3}

¹Mitolab, Inserm U1083, CNRS 6015, Institut MitoVasc, Université d'Angers, Angers, France

²Nutrition, Croissance et Cancer, Inserm UMR1069, Université de Tours, Tours, France

³Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers, Angers, France

charlotte.orre@etud.univ-angers.fr

Les cellules cancéreuses chimiorésistantes adaptent leur métabolisme énergétique en contrôlant différemment leur activité mitochondriale. L'ensemble des mécanismes d'actions impliqués dans ce phénomène sont encore largement méconnus. Les longs ARN non codants (lncRNA) ont émergé comme des molécules importantes notamment dans la régulation du métabolisme. Nous avons donc étudié le profil d'expression des lncRNA des cellules de cancer du sein sensibles (MCF-7) et résistantes (MCF-7dox) à la doxorubicine afin d'identifier ceux impliqués dans l'adaptation métabolique des cellules résistantes. En effet, nous avons récemment mis en évidence en collaboration avec l'équipe U1069, que ces cellules présentent une profonde altération du fonctionnement mitochondrial avec un déficit fonctionnel et structurel du complexe I et une stimulation de la glycolyse. Parmi les lncRNA différemment exprimés, le lncRNA SAMMSON, surexprimé dans les cellules résistantes, a particulièrement retenu notre attention. Nous avons étudié son rôle sur l'orientation métabolique et la chimiorésistance des cellules MCF-7dox. L'inhibition de l'expression de SAMMSON dans les cellules MCF-7dox a révélé une réorientation métabolique avec une diminution du métabolisme glycolytique et une augmentation du métabolisme oxydatif avec une augmentation de la respiration cellulaire. Nos résultats suggèrent également que l'inhibition de SAMMSON a un impact sur la réplication, la transcription et la traduction mitochondriales et cible le complexe I mitochondrial en augmentant son activité et en diminuant la production de ROS. L'inhibition de SAMMSON dans les cellules MCF-7dox a également induit une diminution de la chimiorésistance. Cibler SAMMSON pourrait représenter une stratégie thérapeutique intéressante pour diminuer la plasticité métabolique retrouvée dans les cellules chimiorésistantes.

Mots-clés : métabolisme mitochondrial, lncRNA SAMMSON, cancer du sein.



Poster 19

Repositionnement thérapeutique dans les maladies mitochondriales associées à un déficit du Complexe I : de *Podospora anserina* à l'homme.

N. Bounaix¹, J. Richard¹, O. Baris¹, N. Gueguen^{1, 2}, V. Desquirit-Dumas^{1, 3}, A. Chevrollier¹, C. Bris^{1, 3}, A. Renaud¹, Y. Baussan¹, Y. Hovhannisyan⁴, M.A. Delia⁵, A. Di Giorgio⁵, O. Agbulut⁴, G. Lenaers¹, S. Azoulay⁵, V. Paquis-Flucklinger⁶, D. Tribouillard-Tanvier⁷, A. Delahodde⁸, C. Sellem⁸, V. Procaccio^{1, 3}

¹MITOVASC Institute, CNRS UMR 6015 INSERM U1083, Angers University - Angers (France)

²Département Biochimie, CHU Angers - Angers (France)

³Département Génétique, CHU Angers - Angers (France)

⁴UMR CNRS 8256 INSERM ERL U1164 - Paris (France)

⁵Université Côte d'Azur, CNRS, Institut de Chimie de Nice - Nice (France)

⁶IRCAN, UMR 7284 INSERM U1081/UCA - Nice (France)

⁷IBGC Institute, CNRS UMR 5095 - Bordeaux (France)

⁸Institute for Integrative Biology of the Cell I2BC, UMR9198, University of Paris-Saclay - Paris (France)

nolwenn.bounaix@etud.univ-angers.fr

Les déficits du Complexe I représentent 30% des maladies mitochondriales affectant particulièrement les tissus fortement consommateurs d'énergie comme muscles et coeur. Il n'existe actuellement pas de traitement curatif. Lors d'une 1ere phase, nous avons entrepris un projet de criblage de molécules avec AMM pour compenser les dysfonctions mitochondriales utilisant des mutants introduits dans des organismes simples : champignon *Podospora anserina*. Les hits positifs ont été testés à partir de cellules humaines présentant des mutations pour différentes sous-unités du Complexe I, notamment NDUFV1. L'analyse mitochondriale a permis de sélectionner une drogue candidate après validation chez un organisme plus complexe, le nématode *C. elegans*. La caractérisation mitochondriale des lignées humaines mutantes NDUFV1 a montré une réduction sévère de l'activité et de l'assemblage du complexe I. L'efficacité de la molécule sélectionnée a ensuite été testée sur ces lignées mutantes afin de déterminer la concentration optimale. Nous avons mis en évidence une augmentation significative de l'activité enzymatique du complexe I pour une dose optimale de 300nM. Cette stratégie nous a donc permis d'identifier des molécules candidates qui pourraient devenir des thérapeutiques avec un focus particulier sur les atteintes cardiaques des maladies mitochondriales. Cette étude vise ensuite à obtenir le mécanisme d'action et la preuve de concept *in vivo* de ces molécules à l'aide de différents modèles cellulaires (lignées cellulaires et cellules souches induites) mais aussi de modèles murins. A moyen terme cette étude pourrait se poursuivre par des essais cliniques avec le repositionnement de ces molécules pour le traitement de ces maladies mitochondriales.

Mots-clés : mitochondrie, complexe I, NDUFV1.



Poster 20

TRPV1, un thermostat régulant la thermogénèse mitochondriale ?

F. Beignon¹, N. Gueguen¹, C. Mattéi¹ & G. Lenaers¹

¹MitoVasc équipe Mitolab (UMR CNRS 6015, INSERM 1083)

florian.beignon@etud.univ-angers.fr

Au cours de l'évolution, le métabolisme énergétique mitochondrial s'est associé la production de chaleur chez les espèces endothermes. Cette production de chaleur est causée par le découplage des différentes réactions biochimiques de transformation, de stockage et de l'utilisation de l'énergie. Par la suite, les homéothermes ont acquis la capacité de réguler cette production de chaleur afin de maintenir une température corporelle constante. Les mécanismes physiologiques systémiques impliqués dans la thermorégulation ont été abondamment étudiés. Cependant, à l'échelle cellulaire et moléculaire, il reste encore de nombreuses incertitudes concernant la thermorégulation. La mitochondrie est notamment connue pour être le centre du métabolisme énergétique et de la thermogénèse cellulaires. L'estimation de la température des mitochondries en activité suggèrent qu'elle est plus proche de 45°C à 50°C, que de 37°C. Cette nouvelle donnée, qui bouleverse nos connaissances actuelles, impose de repenser la régulation de la thermogénèse au niveau cellulaire. Dans ce contexte, nous avons identifié un variant mitochondrial du canal TRPV1, présentant une séquence d'adressage mitochondriale. Le canal TRPV1 est un canal cationique sensible à des températures élevée (>43°C) parfois localisé dans la mitochondrie de différents types cellulaires. Ainsi, son implication potentielle dans l'homéostasie calcique mitochondriale associée à sa thermosensibilité permettrait la régulation de la thermogénèse mitochondriale. De plus, 4 variants de TRPV1 ont récemment été associés à l'hyperthermie maligne per anesthésique et au coup de chaleur d'exercice, des syndromes liés à une dérégulation de la thermoregulation corporelle. L'identification et la caractérisation de cette isoforme mitochondriale de TRPV1 ouvre de nouvelles perspectives sur la dynamique métabolique des mitochondries et ses dysfonctions en lien avec l'hyperthermie qui lui sont associées.



Poster 21

The role of response regulator Skn7 in oxidative stress resistance of the opportunistic filamentous fungi *Scedosporium apiospermum*.

Hajar Yaakoub¹, Alphonse Calenda¹, Nicolas Papon¹, Jean-Philippe Bouchara¹

¹Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, F-49000, Angers, France

hajar-yaakoub@hotmail.com

Surviving and militating host-induced oxidative burst has always received attention as one of the virulence factors featuring pathogens. Airways of cystic fibrosis (CF) patients are characterized by a persistent oxidative environment, which raises the question of how fungal agents that chronically colonize CF airways abate such oxidative conditions. The answer has been answered for other fungal species, though the case for the second most frequent fungal colonizer, *Scedosporium apiospermum*, is only partially understood. Transcriptomic studies depicted that thioredoxin reductase and peroxiredoxin are the main effectors of oxidative stress response in this fungus. Since during any cellular response to a given stress, cells must be able to sense, transduce, and activate the proper response, we wanted to identify regulators underlying the response to oxidative threats in *S. apiospermum*. We aimed to generate and characterize the knockout mutant of *S. apiospermum* lacking *SKN7*, the gene encoding one of the main regulators of response to oxidative stress in fungi. The *skn7Δ* mutant was characterized through transcriptomic profiling, nephelometric monitoring, stress susceptibility spot test, antifungal susceptibility test, and transmission electron microscopy (TEM) examination. Accumulation of intracellular reactive oxygen species (ROS) and percentage of macrophage-killed conidia were assessed using flow cytometry-based techniques. Findings support pertinent roles of *S. apiospermum* Skn7 in protection against different types of oxidative stress, mainly cumene hydroperoxide and diamide. The Skn7 protein is also protective against stress-induced ROS accumulation, as well as macrophages-mediated killing. This protection is probably conferred by the induction of genes encoding components of the thioredoxin, peroxiredoxin, and glutathione systems that showed dependency on Skn7. We also demonstrated a potential role of Skn7 in the synthesis of the hyphal cell wall, which presumably affected the susceptibility of the mutant to antifungals. In conclusion, the response regulator Skn7 is essential for the protection of *S. apiospermum* against oxidative stress, whether generated by chemical or immune cells. Therefore, Skn7 could be a promising target for drug development.



Poster 22

Adaptation de la technique CRISPR-Cas9 chez *Scedosporium*.

Kévin Ravenel¹, Wilfried Poirier¹, Amandine Gastebois¹, Sandrine Giraud¹

¹Infections Respiratoires Fongiques (IRF), Université d'Angers

kevin.ravenel@univ-angers.fr

Les espèces du genre *Scedosporium* se situent au 2nd rang des champignons filamenteux associées à la mucoviscidose (après *Aspegillus fumigatus*), et présentent une faible sensibilité aux antifongiques actuellement disponibles. L'unité de recherche Infections Respiratoires Fongiques s'intéresse aux mécanismes pathogéniques mis en oeuvre par ces champignons afin notamment d'identifier des facteurs de virulence et de potentielles nouvelles cibles thérapeutiques. Le développement d'outils de génie génétique est par conséquent essentiel pour la réalisation d'études fonctionnelles. Le système naturel CRISPR-Cas9 découvert chez les bactéries offre de nouvelles opportunités pour l'édition des génomes fongiques, activité jusqu'alors laborieuse, peu efficace et très consommatrice de temps. Le travail réalisé consiste en l'adaptation et l'optimisation de la technologie sur notre modèle d'étude fongique. Les résultats montrent que l'utilisation de complexes ribonucléoprotéiques CRISPRCas9 assemblés *in vitro* couplée à des modèles de réparation de l'ADN par micro-homologie constitue un système fonctionnel pour la manipulation des gènes chez *Scedosporium*. Les paramètres relatifs au design des complexes, ainsi qu'à la quantité de cassette de délétion ont ainsi pu être optimisés au sein d'une souche de *Scedosporium apiospermum* déficiente pour le système de réparation Non-homologous end joining (NHEJ).

Mots-clés : infections fongiques, édition de génome, CRISPR-Cas9.