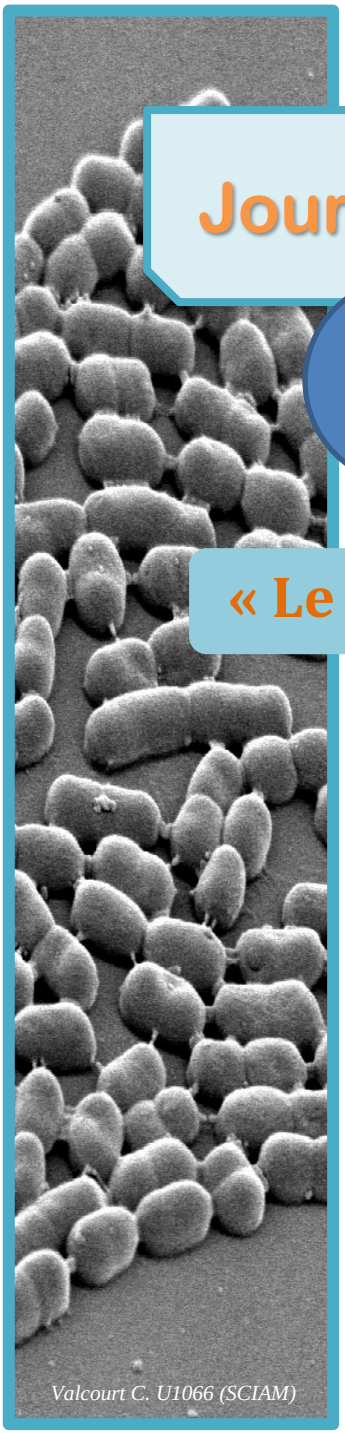

Journée de la SFR ICAT 4208

Mercredi 27 Mai 2015
De 8h15 à 17h30

« Le microbiote dans tous ses états »

Invités internationaux :
Dr A. Schroeder, *Technion, Israël*
Pr P. Sansonetti, *Institut Pasteur, Paris*
Dr M. Neunlist, *IMAD, Nantes*

Communications orales et posters

Table ronde
"Le Post-Doc : Si on en parlait ?"

Amphi 200
Faculté de médecine d'Angers

La journée thématique de la SFR est consacrée cette année au rôle du microbiote en santé. Le microbiote est devenu en quelques années un élément important à considérer dans la pathogénicité des maladies en particulier pour les maladies métaboliques et pourrait influencer considérablement sur notre santé.

Cette journée scientifique sera aussi l'occasion d'échanges entre les différents laboratoires du site santé mais aussi avec les autres composantes de notre université sur les axes thématiques développés au sein de notre site.

La direction de la SFR Santé remercie particulièrement Soazig Le Lay et Céline Fassot pour la gestion de l'organisation de cette journée scientifique de la SFR Santé et de manière générale leur investissement dans l'animation scientifique de notre pôle. Merci également à Céline Lépine et Patricia Le Grand du secrétariat SFR, à Jérôme Cayon et à la délégation régionale de l'INSERM pour leur aide à la logistique de cette journée. Enfin nous remercions les doyens de la faculté de médecine et de pharmacie et l'Université d'Angers pour leur soutien.

Direction de la SFR Santé ICAT,
Vincent Procaccio

Comité organisateur :

Vincent Procaccio
Yves Delneste
Céline Fassot
Soazig Le Lay
Céline Lépine
Patricia Le Grand
Jérôme Cayon

Programme de la journée scientifique de la SFR ICAT 4208

8h15-8h45 — **Accueil des participants**

8h45-9h00 — **Discours d'ouverture**

Jean-Paul Saint André, Président de l'Université d'Angers

Vincent Procaccio, Directeur de la SFR ICAT

Pierre Da Silva, Responsable communication INSERM Grand Ouest

Session Vectorisation, ciblage thérapeutique et biomatériaux

Modérateurs : Franck Boury et Daniel Chappard

9h00-9h50 — **Conférence plénière Avi Schroeder (Technion, Israël)**
Personalized Nanomedecines : From chemotherapy to robotic nanoparticles

9h50-10h35

- 9h50: Benoit Gobron (GEROM)
GIP, hormone influençant la qualité osseuse

- 10h05: Delphine Sehedic (MINT)
Développement d'un nouvel outil de radiothérapie interne dans le glioblastome

- 10h20 : Kristell Barreau (LNBT)
Le peptide NFL-TBS.40-63 cible les cellules souches neurales in vitro et in vivo et affecte les capacités d'auto-renouvellement de ces cellules

10h35-11h00 — **Pause-Café / Visite des posters**

Session Cancérologie, Immunologie et Infectiologie

Modérateurs : Olivier Coqueret et Yves Delneste

11h00-11h50 — **Conférence plénière Philippe Sansonetti (Institut Pasteur, Paris)**
The gut microbiota : from metagenomics to experimentomics

11h50-12h35

- 11h50: Cindy Staerck (GEIHP)
Etude de la réponse de Scedosporium apiospermum au stress oxydatif

- 12h05 : Camille Cano (III Avenir ATOMycA, Equipe 7b)
Etude du phénomène de cicatrisation spontanée dans l'infection à Mycobacterium ulcerans

- 12h20 : Senan d'Almeida (III Equipe 7)
L'ecto-ATPDase CD39 est impliquée dans l'acquisition du phénotype immunosuppresseur des macrophages M-CSF et des macrophages associés aux tumeurs du cancer de l'ovaire

12h35-14h00 **Déjeuner et visite commentée des posters**

Session Cardiovasculaire, Métabolisme et Nutrition

Modérateurs : Carmen Martinez et Fabrice Prunier

14h00-14h50 **Conférence plénière Michel Neunlist (Inserm U913, IMAD, Nantes)**
Le système nerveux entérique: une fenêtre ouverte sur les interactions entre le microbiote et le cerveau ?

14h50-16h05

- 14h50: Jérôme Boursier (HIFIH)
Relations entre le microbiote intestinal et la sévérité des lésions histologiques de NAFLD

- 15h05 : Edward Milbank (SOPAM)
Extracellular Microvesicles as a therapeutic strategy to prevent or revert obesity and its metabolic complications in field of nanomedecine

- 15h20 : Mathilde Munier (BNMI)
Le Perturbateur Endocrinien, pp'DDT se comporte comme un modulateur allostérique du récepteur humain de la FSH

- 15h35 : Juan Manuel Chao de la Barca (CRT)
Metabolic approach of the remote ischemic preconditioning mechanism

- 15h50: Guillaume Geffroy (PREMMI, Mitolab)
Metabolically-induced mitochondrial heteroplasmy shifting as a strategy to alleviate mitochondrial dysfunction in MELAS syndrome

16h05-16h15 **Présentation de l'association DNA « Doctorants Nantes Angers »**

16h15-17h15 **Table ronde « Le Post-Doc : si on en parlait ? », organisée par DNA**
Intervenants : Pierre Bigot (CHU, Angers), Michel Neunlist (Inserm U913, IMAD, Nantes), César Mattei (BNMI, Angers), Julie Tabiasco (U892, Angers), et Guillaume Mabilleau (SCIAM, Angers)

17h15 **Cocktail / Remise des prix**

Conférences plénières

Personalized Nanomedicines: From chemotherapy to robotic nanoparticles

Dr Avi Schroeder, PhD

Assistant Professor of Chemical Engineering, Technion – Israel Institute of Technology
avids@technion.ac.il

The field of medicine is taking its first steps towards patient-specific care. Our research is aimed at tailoring treatments to address each person’s individualized needs and unique disease presentation. Specifically, we are developing nanoparticles that target sites of cancer where they perform a programmed therapeutic task. These systems utilize molecular-machines to improve efficacy and reduce side effects.

Nanoparticles have many potential benefits for treating cancer, including the ability to transport complex molecular cargoes, as well as targeting to specific cell populations.
The talk will describe principles for developing lipid nanoparticles that can be remotely triggered to release their payload in disease sites. The evolution of these nanoparticles into programmed nano robots, unique particles that have an internal capability of synthesizing proteins, and their promise for treating cancer, will be addressed.

The gut microbiota : from metagenomics to experimentomics

Pr Philippe J. Sansonetti, MS MD

Unité de Pathogénie Microbienne Moléculaire & Unité INSERM 1202, Institut Pasteur, Paris
Chaire de Microbiologie & Maladies Infectieuses, Collège de France, Paris
philippe.sansonetti@pasteur.fr

Recent metagenomic analyses have revealed the extraordinary diversity of the gene catalogues that constitute the gut human microbiome (150 x the number of human genes). This « second genome » corresponds to the stable and resilient assemblage of hundreds of species that collectively contribute the metabolic and immunological (and other) functions representing the bacterial part of the mutualistic deal established by co-evolution. From descriptive, metagenomic studies have become correlative, thus providing preliminary evidence that microbiota with abnormal gene/species composition – also called dysbiosis – were associated with disease states such as inflammatory bowel diseases, obesity and diabetes. These dysbioses are essentially marked by a decrease in gene diversity. In addition, establishment of eubiosis in the newborn and infant seems essential for child’s health and early-acquired dysbioses may lead to late health consequences, such as allergy, atopy and obesity.

Stemming from this descriptive and correlative period, metagenomics needs to become experimental, thus the aim to develop « experimentomics », a « cellular microbiology » of symbiosis. This will largely capitalize on the lessons of cellular microbiology applied to pathogens: choice of model organisms (symbiont/pathobiont and host), development of dedicated methods of reverse genetics, genome editing of host cells and animal models, establishment of in vitro and in vivo screens between the gut microbiome and the host intestinal mucosa will be taken as an example of transition from cellular microbiology of pathogenesis to cellular microbiology of symbiosis.

Experimentomics is expected to produce novel biomarkers and bioreagents that may have a great impact in future translational medicine.

Le système nerveux entérique: une fenêtre ouverte sur les interactions entre le microbiote et le cerveau ?

Dr Michel Neunlist, PhD

Inserm U913 - University of Nantes - Neuropathies of the enteric nervous system and digestive diseases - Institut des Maladies de l'Appareil Digestif
michel.neunlist@univ-nantes.fr

Le tube digestif, et en particulier le microbiote intestinal, joue un rôle clef non seulement dans la survie des organismes mais aussi dans le développement d'un grand nombre de pathologies chroniques digestives mais aussi extra digestive, et en particulier du système nerveux central. Cette présentation visera à décrire 1) les interactions entre le microbiote intestinal et le système nerveux digestif (ou entérique) et son impact dans le contrôle des fonctions digestives au cours de la vie et 2) comment l'étude de ces interactions pourrait permettre de mieux appréhender les interactions entre le microbiote et le cerveau.

Communications orales

B. Gobron – *GEROM (UPRES EA 4658)*

D. Séhédic – *MINT (U1066)*

K. Barreau – *LBNT (UPRES EA 3143)*

C. Staerck – *GEIHP (UPRES EA 3142)*

C. Cano – *U892 (Equipe 7b)*

S. d'Almeida – *U892 (Equipe 7)*

E. Milbank – *SOPAM (U1063)*

J. Boursier – *HIFIH (UPRES EA 3859)*

M. Munier – *BNMI (U1083)*

J.M. Chao De La Barca – *CRT (UPRES EA 3860)*

G. Geffroy – *PREMMI (U1083)*

Session “Vectorisation, ciblage thérapeutique et biomatériaux”

Communication 1

GIP, hormone influençant la qualité osseuse

B. Gobron, G. Mabilleau
GEROM (Groupe d’étude du remodelage osseuxet matériaux)-LHEA, UPRES EA 4658

E-mail de l’orateur : benoit.gobron@gmail.com

Introduction : Après un repas, les incrétines sont sécrétées et exercent leurs actions sur leurs cellules cibles via un récepteur spécifique. Le rôle du récepteur au GIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide) dans le contrôle de la qualité osseuse a déjà été démontré. Les souris GIPr KO présentaient une augmentation de la masse osseuse trabéculaire et une réduction de l’épaisseur corticale. Cependant il existe un second modèle de souris GIPr KO qui présentait un phénotype opposé. Le but de l’étude était de déterminer le rôle du GIP dans la physiologie osseuse en utilisant un modèle de souris ne sécrétant pas de GIP (GIP-GFP-KI).
Matériels et méthodes : 8 souris mâles âgées de 16 semaines GIP-GFP-KI ont été appariées avec 8 souris WT. La microarchitecture trabéculaire et corticale était évaluée par microscanner haute résolution au tibia et au fémur. Les propriétés biomécaniques de l’os ont étaient étudiées par flexion 3 points sur la diaphyse fémorale.
Résultats : Comparé au groupe contrôle, les souris GIP-GFP-KI ont une réduction significative de la masse osseuse trabéculaire (tibia : $p<0.001$; fémur : $p<0.05$), du nombre de travées (tibia : $p<0.001$; fémur : $p<0.01$) et une augmentation significative de la séparation entre les travées (tibia : $p<0.01$; fémur : $p<0.05$). La flexion 3 points montre une réduction de la raideur presque significative ($p = 0.07$).
Conclusions : Ces résultats confirment le rôle de la voie GIP/GIPr dans le contrôle de la qualité et des propriétés biomécaniques osseuses chez la souris.

Mots-clés : GIP, os, microarchitecture

Communication 2

Développement d'un nouvel outil de radiothérapie interne dans le glioblastome

D. Séhédic, I. Chourpa, Ellyn Renou, A. Griveau, L. Lemaire, N. Lepareur, D. Wion, J.P. Benoît, F. Hindré, F. Davodeau, E. Garcion
MINT (Micro et nanomédecine en thérapeutique), INSERM U1066

E-mail de l'orateur : delphine.sehedic@gmail.com

Le glioblastome est la forme la plus commune de tumeur cérébrale chez l'adulte. Sa prise en charge consiste en une exérèse de la tumeur suivie d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie par témozolomide. En dépit de ces traitements, la plupart des patients rechutent et leur survie n'excède généralement pas 15 mois. Plusieurs études ont été menées afin de comprendre les mécanismes qui conduisent à l'inefficacité de ces traitements et parmi eux, l'existence d'un contingent cellulaire appelé cellule cancéreuses de type souche (CSLC) a été mis en évidence.

L'objectif de ce travail a été de développer un nanovecteur capable de cibler ces CSLCs pour concentrer l'effet de la radiothérapie au niveau des cellules radiorésistantes et notamment des cellules CXCR4-positives. Pour cela, nous avons développé des nanocapsules lipidiques (LNC) contenant du rhénium-188 (^{188}Re), un émetteur bêta -, et fonctionnalisées au moyen d'un anticorps bloquant (12G5) dirigé contre le récepteur à chimiokine CXCR4. L'efficacité de cet objet a été testée dans un modèle orthotopique de glioblastome humain chez la souris et nous avons montré que les souris traitées avec ces LNC-^{188}Re couplées au 12G5 présentent les meilleures médianes de survie. La distribution tissulaire de ce nanovecteur a aussi été recherchée par imagerie spectrale ainsi que la réponse tissulaire de la tumeur à l'irradiation.

Ce travail a permis de développer un outil de radiothérapie interne dans le cadre d'une thérapie ciblée dans le glioblastome. Nous avons pour la première fois montré que des LNC-^{188}Re couplées à un anticorps présentent un intérêt dans le traitement de cette maladie.

Mots-clés : glioblastome, nanomédecine, radiothérapie interne

Communication 3

Le peptide NFL-TBS.40-63 cible les cellules souches neurales *in vitro* et *in vivo* et affecte les capacités d'auto-renouvellement de ces cellules

K. Barreau, C. Lépinoux-Chambaud, J. Eyer
LNBT (Laboratoire de neurobiologie et transgénèse), UPRES EA3143

E-mail de l'orateur : kristellbarreau@gmail.com

Les cellules souches neurales (CSN) sont multipotentes et capables d'auto-renouvellement pour former des neurosphères, proliférer et générer des neurones, astrocytes et oligodendrocytes. Le potentiel de ces cellules fournit une nouvelle approche thérapeutique pour le traitement des maladies neurodégénératives et des gliomes.
Nous avons montré qu'un peptide correspondant à la séquence liant la tubuline, localisée sur la sous-unité légère des neurofilaments, est capable de cibler les cellules de glioblastome *in vitro* et *in vivo*. L'entrée massive et sélective de ce peptide dans les cellules de glioblastome se fait par endocytose et est liée à leur haute activité proliférative, cependant, le peptide est faiblement internalisé dans les cellules à faible prolifération comme les cellules saines (astrocytes, neurones et oligodendrocytes).

Dans cette étude, nous montrons que ce peptide est capable d'entrer passivement dans les CSNs *in vitro*. Alors que le peptide n'altère pas la formation des neurosphères en culture, il perturbe les capacités d'auto-renouvellement et de prolifération des CSNs. Ces effets sont associés à une augmentation de l'adhérence et de la différenciation de ces cellules en présence de peptide. *In vivo*, lorsqu'il est injecté dans le ventricule latéral, le peptide cible les CSNs sans cytotoxicité apparente. Ces résultats indiquent que ce peptide représente un nouvel outil pour cibler les CSNs et développer de nouvelles stratégies pour la médecine régénérative et le traitement des gliomes. Ces travaux sont soutenus par l'ARC, NanoFar, l'AFM, CIMATH (Ciblage Moléculaire et Thérapeutique), MATWIN (Maturation & Accelerating Translation With Industry) et la "Région des Pays de la Loire".

Mots-clés : peptide, cellules souches neurales, glioblastome

Communication 4

Etude de la réponse de *Scedosporium apiospermum* au stress oxydatif

C. Staerck[1], S. Mina[1], S.M d’Almeida[2,3,4], A. Marot[1], Y. Delneste[2,3,4,5], J-P. Bouchara[1,6], J. Tabiasco[2,3,4] et M.J.J. Fleury[1]
GEIHP (Groupe d’étude des interactions hôte-pathogène), UPRES EA 3142
[1]L’UNAM Université, Université d’Angers, Groupe d’Etude des Interactions Hôte-Pathogène, GEIHP, UPRES EA 3142, Angers
[2]L’UNAM Université, Université d’Angers, Immunité Innée et Immunothérapie, Angers
[3] Inserm UMR 892, Angers
[4]CNRS UMR 6299 Equipe 7, Angers
[5]Laboratoire d’immunologie et allergologie, Centre Hospitalier Universitaire, Angers
[6]Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire, Angers

E-mail de l’orateur : staerck.cindy@gmail.com

Les espèces du complexe *Scedosporium apiospermum* colonisent les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose, en deuxième position après *Aspergillus fumigatus*. Pour s'établir, *S.apiospermum* doit échapper aux défenses immunitaires de l'hôte, notamment aux cellules phagocytaires produisant des espèces oxygénées réactives (ROS). Les champignons possèdent différentes enzymes capables de dégrader les ROS, telles que des catalases ou des superoxydes dismutases (SOD). Le but de cette étude été d’identifier et d’évaluer l’implication de ces facteurs dans la défense de *S. apiospermum* au stress oxydatif.
Les gènes orthologues à des gènes impliqués dans la dégradation des ROS ont été recherchés dans le génome de *S.apiospermum.* L’expression de ces gènes a ensuite été évaluée par RT-PCR quantitative sur des hyphes de 24h, soumis à des conditions mimant celles rencontrées dans le mucus des patients atteint de mucoviscidose (hypoxie, hypercapnie, pH acide, lactate) ou dans des conditions de stress oxydatif (H_2O_2, ménadione ou paraquat). Enfin, l’expression de ces gènes a été évaluée en présence de cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles).

L’analyse du génome de *S.apiospermum* a permis d’identifier 25 gènes potentiellement impliquées dans la dégradation des ROS, 7 SODs, 3 catalases, 4 peroxydases, 6 thioredoxines ou glutaredoxines, 3 nitrates réductases et 1 nitrite réductase. Les premiers résultats ont montré que le gène codant la Cu,Zn SOD n’était pas modulé et cela dans aucune des conditions, alors que celui codant la catalase A1 est surexprimé en condition de stress oxydatif chimique et en co-culture avec des cellules phagocytaires. L’étude de l’expression des autres gènes est en cours.

Mots-clés : *Scedosporium apiospermum*, stress oxydatif, mucoviscidose

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Communication 5

Etude du phénomène de cicatrisation spontanée dans l'infection à *Mycobacterium ulcerans*

C. Cano, E. Marion, L. Marsollier
III (Immunité innée et Immunothérapie), UMR INSERM 892-CNRS 6299, Equipe 7B

E-mail de l'orateur : canocamille76@yahoo.fr

L'infection à *Mycobacterium ulcerans* est une maladie tropicale émergente à tropisme cutanée. Elle est la troisième mycobactériose après la tuberculose et la lèpre. Plusieurs semaines après l'inoculation du bacille, les premiers signes cliniques apparaissent et évoluent vers une ulcération indolore. Les lésions sont causées par une toxine, la mycolactone, principal facteur de virulence de *M. ulcerans*. En absence de traitement et plusieurs mois après l'apparition des premiers signes cliniques, les lésions peuvent évoluer vers un processus de cicatrisation spontanée qui s'accompagne de séquelles fonctionnelles irréversibles. Ce processus témoigne d'une capacité de l'hôte à contrôler l'infection. La compréhension, aussi bien à l'échelle cellulaire que moléculaire, des mécanismes mis en jeux au cours de ce processus est primordiale puisqu'elle ouvre la voie au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.
Pour des raisons éthiques, le travail sur des prélèvements humains est impossible. Pour autant, les modèles murins utilisés pour étudier la physiopathologie de l'infection à *M. ulcerans* ne présentent pas le stade de cicatrisation, excluant ainsi la possibilité d'identifier les mécanismes mis en jeu. Dans ce contexte, nous avons développé le premier modèle animal mimant le stade de cicatrisation spontanée. Des études post-génomiques ont mis en évidence que les souris contrôlant l'infection étaient déficiente pour un récepteur membranaire exprimé principalement par les cellules immunitaires. Des tests fonctionnels ont démontré que la mycolactone interagissait avec ce récepteur. L'étude des interactions entre la toxine et le récepteur permettra de disséquer, à l'échelle moléculaire, les mécanismes permettant le contrôle de l'infection à *M. ulcerans*.

Mots-clés : *Mycobacterium ulcerans*, cicatrisation, mycolactone

Communication 6

L'ecto-ATPDase CD39 est impliquée dans l'acquisition du phénotype immunosuppresseur des macrophages M-CSF et des macrophages associés aux tumeurs du cancer de l'ovaire

S. d'Almeida, G. Kauffenstein, P. Jeannin, C. Roy, V. Catros, N. Ifrah, P. Descamps, M. Grégoire, Y. Delneste, J. Tabiasco
III (Immunité innée et Immunothérapie), UMR INSERM 892-CNRS 6299, Equipe 7

E-mail de l'orateur : senan.dalmeida@etud.univ-angers.fr

Les adénocarcinomes ovariens contiennent des cellules immunosuppressives qui s'accumulent massivement. Parmi cet infiltrat immunitaire, les macrophages associés aux tumeurs (TAM) sont majoritaires et leur présence est un facteur de mauvais pronostic. **OBJECTIF:** Notre étude a pour but d'identifier les facteurs contrôlant la différenciation et la polarisation des macrophages (Mφ) immunosuppresseurs.
METHODES: Nous avons utilisé des TAM isolés à partir d'adénocarcinomes ovariens humains et des macrophages issus de monocytes de donneurs sains différenciés en présence de M-CSF (M-CSF-Mφ). Ces deux types cellulaires sont comparables en termes de sécrétion (IL-10, IL-1□) et d'expression de protéines membranaires (CD14, CD163).
RESULTATS: Nous montrons que les TAM et les M-CSF-Mφ expriment fortement CD39 à leur surface comparativement aux macrophages pro-inflammatoires. De plus, l'expression de CD39 est contrôlée par l'IL-27 sécrétée pendant la différenciation. CD39 transforme une molécule immunostimulante (ATP) en un puissant immunosuppresseur (adénosine). Ainsi, CD39 favorise l'immunosuppression dans le microenvironnement tumoral. En effet, empêcher l'expression de CD39 pendant la différentiation ou inhiber son activité pendant l'activation, induit une diminution des fonctions immunosuppressives (sécrétion d'IL-10 et expression de PD-L1) des TAM et des M-CSF-Mφ.
CONCLUSION: Globalement, nos données suggèrent que CD39 maintient le phénotype immunosuppresseur des TAM dans l'adénocarcinome ovarien. Nous décrivons pour la première fois que l'IL-27 joue un rôle essentiel dans la polarisation des TAM ainsi que dans l'acquisition et le maintien de leurs propriétés immunosuppressives. Ces facteurs représentent donc une cible thérapeutique intéressante dans l'objectif de moduler l'immunité anti-tumorale.

Mots-clés : macrophages associés aux tumeurs, immunosuppression, immunité anti-tumorale

Communication 7

Relations entre le microbiote intestinal et la sévérité des lésions histologiques de NAFLD

J. Boursier (1), O. Muller (2), M. Barret (3), L. Fizanne (1), L. David (2), J. Rawls (2), P. Cales (1), A.M. Diehl (4)
HIFIH (Hémodynamique, interaction fibrose et invasivité tumorales hépatiques), UPRES EA3859
(1) HIFIH
(2) Department of Molecular Genetics and Microbiology, Duke University, Durham, USA
(3) Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS), INRA, Angers, France
(4) Department of Medicine, Liver Center, Duke University, Durham, USA

E-mail de l’orateur : JeBoursier@chu-angers.fr

Introduction: La Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) est la manifestation hépatique du syndrome métabolique. La NAFLD est associée à une augmentation du risque de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire. Des études animales ont récemment suggéré que le microbiote intestinal était impliqué dans la sévérité des lésions hépatiques de NAFLD, mais les données chez l'homme restent limitées. Notre objectif était d'évaluer les relations entre la composition taxonomique du microbiote intestinal et la sévérité des lésions hépatiques de NAFLD.
Patients et méthodes: 63 patients avec une NAFLD, une biopsie hépatique, et un prélèvement de selles ont été inclus. Après extraction de l'ADN fécal, la composition taxonomique du microbiote intestinal a été déterminée par pyroséquençage de l'ARN ribosomial 16S.
Résultats: 6 patients ont été exclus, 4 pour extraction insuffisante d'ADN fécal et 2 outliers (compte très élevé de *Succinivibrio*). Parmi les 57 patients analysés, 35 avaient une stéatohépatite et 27 une fibrose hépatique significative. Les *Bacteroides* était augmentés (56.9% vs 38.3%, p=0.013) chez les patients avec une stéatohépatite, et les *Ruminococcus* (1.7% vs 0.7%, p=0.037) chez les patients avec une fibrose significative. Ces liens restaient significatifs en analyse multivariée ajustée sur âge, sexe, BMI, syndrome métabolique, ASAT, ALAT, GGT, et CRPus. L’abondance des *Bacteroides* et des *Ruminococcus* définissait 3 sous-groupes de patients dans lesquels les taux de NASH et de fibrose significative étaient significativement différents.
Conclusion: Il existe une association entre sévérité des lésions hépatiques de NAFLD et dysbiose intestinale. La NASH est associée à une augmentation des *Bacteroides* et la fibrose significative à une augmentation des *Ruminococcus*.

Mots-clés : NAFLD, microbiote, dysbiose intestinale

Communication 8

Extracellular Microvesicles as a therapeutic strategy to prevent or revert obesity and its metabolic complications in the field of nanomedicine

E. Milbank, R. Andriantsitohaina
SOPAM (Stess oxydant et pathologie métabolique), INSERM U1063

E-mail de l'orateur : edward.milbank@etud.univ-angers.fr

Previous studies showed a significant effect on decreasing food intake and ameliorating energy balance on obese animal models through stereotaxic microinjections of dominant negative isoform of AMPK (AMPK DN). But in order to translate this strategy to the bedside, this method needs to be improved and to have less harmful side effects.
The use of modified DNA sequence to induce protein inactivation has opened a new avenue in drug discovery. However, their therapeutic potential is hampered by inadequate tissue-specific delivery following a systemic injection.

Thus, using isolated AMPK loaded hypothalamic targeted extracellular microvesicles would allow the specific targeting of hypothalamic neurons improving by the way the obesity treatment.

Based on this hypothesis, we firstly engineered a specific plasmid composed of (i) Lamp2b, an exosomal protein and (ii) the Rabies Virus Glycoprotein, believed to assess the blood brain crossing and the specific targeting of hypothalamic neurons.
Immature dendritic cells - immunologically inert - were then transfected with this neuron specific targeting plasmid. Resultant non-inflammatory exosomes were collected through ultracentrifugation processes, and characterized.
Their sizes contained between 40 and 100 nm and the presence of specific markers assessed of their exosomal origins.
The capabilities of these exosomes to reach the desired tissue were evaluated using fluorescence signals techniques (DID-labelling) and their distribution was assessed in small model using the Maestro.

The goal of this nanomedicine reflected approach is to translate the knowledge on targets of exosomes to the bedside in order to improve the management and the treatment of obese patients.

Mots-clés : obesity, exosomes

Communication 9

Le Perturbateur Endocrinien, pp'DDT se comporte comme un modulateur allostérique du récepteur humain de la FSH

M. Munier, J. Grouleff, L. Gourdin, M. Fauchard, V. Chantreau, D. Henrion, R. Coutant, B. Schiott, M. Chabbert, P. Rodien
BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : mathilde.munier@univ-angers.fr

Le p,p'DDT est un perturbateur endocrinien persistant dans l'environnement. Plusieurs études ont montré une association entre l'exposition au p,p'DDT et des anomalies de la fonction de reproduction.

Le but de ce travail est d'étudier les effets du p,p'DDT sur la fonction du récepteur de la FSH (FSHR). Nous avons analysé l'impact du p,p'DDT sur l'activité du FSHR et son interaction avec le récepteur, grâce à l'utilisation de cellules CHO exprimant de façon stable le récepteur humain FSHR.

Le p,p'DDT augmente de 32% la réponse maximale du FSHR pour la FSH. L'effet potentialisateur du p,p'DDT est dépendant et specifique du FSHR. De plus, le p,p'DDT augmente la sensibilité du récepteur à l'hCG et à un agoniste de faible poids moléculaire (16a) du FSHR. L'utilisation de différents mutants du récepteur nous a permis de montrer que le p,p'DDT se lie au niveau du domaine transmembranaire du récepteur. Ceci est validé par la technique de docking moléculaire illustrant la fixation simultanée du p,p'DDT et du 16a dans le FSHR.

Le p,p'DDT agit donc comme un modulateur allostérique du FSHR. Les récepteurs couplés aux protéines G sont de nouvelles cibles des perturbateurs endocriniens.

Mots-clés : modulateur allostérique, perturbateur endocrinien, récepteurs couplés aux protéines G

Communication 10

Metabolomic approach of the remote ischemic preconditioning mechanism

J M Chao de la Barca, D Mirebeau-Prunier, O Bakta, G Simard, S Tamareille, G Tcherkez, C Mauve, V Catros, D Henrion, P Reynier, F Prunier
CRT (Cardioprotection, remodelage et thrombose), UPRES EA3860
UPRES EA3860, Cardioprotection Remodelage et Thrombose, (O.B., H.K., S.T., F.P.)
BNMI, UMR CNRS 6214 - INSERM 1083, (J.M.C., D.M.P., D.H., P.R.)
SOPAM, INSERL U1063 (G.S.)
Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes (VC)
Université Paris sud (G.T., C.M.)

E-mail de l'orateur : JMChaoDeLaBarca@chu-angers.fr

Background: Cardiac remote ischemic preconditioning (RIPC) is an adaptive response in which brief ischemia of one organ distant from the heart confers protection against subsequent cardiac prolonged ischemia insults and reperfusion injury. However, the specific nature of circulating factors involved in RIPC mechanism remains unknown.
Aim: We aimed at identifying RIPC-induced metabolites that play a role in signaling.
Methods: RIPC was achieved in rats by 3 cycles of 5 minutes of limb ischemia followed by 5 minutes of reperfusion prior to blood sampling. Rat plasma samples were analyzed using targeted LC-MS/MS (AbsoluteIDQ kit, Biocrates®). We have also examined changes in amino-acid plasma concentration induced by RIPC in 50 patients subjected to similar RIPC protocol, which consisted of 3 cycles of 5 minutes upper-limb ischemia/5 minutes reperfusion using a blood pressure cuff.
Results: 124 molecules have been quantified using targeted LC-MS/MS metabolomics. Six metabolites (four biogenic amines and two amino acid) appeared to be the most important variables in the differentiation between control and RIPC groups. LC-MS analysis of human plasma confirmed that amino-acid and biogenic amines were significantly associated with RIPC.
Conclusions: RIPC was associated with a significant variation on the plasmatic concentration of some amino-acids and biogenic amines. Among these, 2 metabolites have been identified in both rat and human plasma and therefore, represent serious candidates associated with RIPC.

Mots-clés : infarctus du myocarde, cardioprotection, métabolomique

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Communication 11

Metabolically-induced mitochondrial heteroplasmy shifting as a strategy to alleviate mitochondrial dysfunction in MELAS syndrome

G. Geffroy, V. Dumas-Desquiret, S. Frey, S. Belal, N. Gueguen, C. Bris, P. Bonneau, A. Chevrollier, M. Barth, C. Verny, D. Henrion, D. Bonneau, P. Reynier, V. Procaccio
PREMMI, Mitolab UMR CNRS 6214 – INSERM 1083

E-mail de l'orateur : ge.geffroy@gmail.com

Mitochondrial dysfunction has been implicated as a cause of age-related disorders. Each mitochondrion contains multiple copies of DNA (or mtDNA). MtDNA mutations are responsible for respiratory chain defects. Individuals may suffer from a condition known as heteroplasmy with the coexistence of normal and mutant mitochondria in the same cell. The ratio of mutant to normal mtDNA may determine the disease severity.
Several pathogenic mtDNA mutations have been already associated with a variety of clinical manifestations such as increase risk of stroke and degenerative diseases. The main clinical characteristic of one of the common mitochondrial syndromes called MELAS due to mtDNA mutations is recurrent cerebral insults resembling strokes causing neurological deficits.

The development of mitochondrial medicine is greatly impaired by the lack of efficient therapies targeting mitochondria. Further investigation using cellular models carrying a mtDNA mutation at different mutant loads may help to focus development on new and more selective treatments for the MELAS syndrome.
We have developed a series of cybrid neuronal cell lines carrying the MELAS mutation with different mutant loads. The mtDNA mutation induced a metabolic switch towards glycolysis with severe defects in respiratory chain assembly and activity. Different strategies were used to compensate for the biochemical defects in the mutant cells such as lowering the glucose content in the culture medium. The reduction of glucose significantly shifted the mutant cells towards the wild-type, restoring respiratory chain complex activity and assembly. Thus, metabolic strategies illustrating the concept of heteroplasmy shifting may constitute promising therapeutic strategies against mitochondrial disorders.

Mots-clés : mitochondria, melas syndrome, heteroplasmy shifting

Posters

1. **L. Terranova – GEROM**
2. **N. Matougui – MINT**
3. **S. Anthiya Ramamoorthi Gopalram – MINT**
4. **C.R. Mouzouvi – MINT**
5. **A. Dénarnaud – MINT**
6. **C. Legendre – MINT**
7. **C. Dario – LNBT**
8. **E.D. Foucher – U892**
9. **O. Dayoub – SOPAM**
10. **E. Alabed – SOPAM**
11. **S. Legeay – SOPAM**
12. **A. Fleury – SOPAM**
13. **Z. Safiedeen – SOPAM**
14. **S. Recoquillon SOPAM**
15. **C. Vitellius – HIFIH**
16. **A. Ducancelle – HIFIH**
17. **A. Pivert – HIFIH**
18. **V. Behaghel – BNMI**
19. **A. Dib – BNMI**
20. **C. Grenier – BNMI**
21. **E. Guivarc'h – BNMI**
22. **L. Omarjee – BNMI**
23. **J. Favre – BNMI**
24. **C. Roy – BNMI**
25. **V. Chantreau – BNMI**
26. **P.M.C Nguyen – BNMI**
27. **L. Crespin – BNMI**
28. **L. Cellier – CRT**
29. **S. Guillou – CRT**
30. **S. Frey – PREMMI**
31. **A. Paris – PREMMI**
32. **J. Wakim – PREMMI**
33. **J. Macher – UMR 1280 PHAN**

Poster 1

Development and characterization of polymer scaffolds based on nanofibers

L Terranova[1], R Mallet[1,2], R Perrot[1,2], F Pascaretti-Grizon[1], D Chappard[1,2]
GEROM (Groupe d’étude du remodelage osseux et matériaux)-LHEA, SCIAM

E-mail de l’orateur : lisa.terranova@neuf.fr

Introduction: The occurrence of large bone defects after hip revision or cancer surgery requires massive bone grafts to compensate the massive bone loss. Currently, there are many synthetic bone substitutes but they are limited in the case of large bone defects due to insufficient biomechanical properties in weight bearing sites. The aim of this study was to create non-resorbable porous scaffolds of a synthetic polymer that provide large surface areas suitable for the development of vascularization, osteoprogenitor cell migration and ingrowth.
Materials and methods: Polymer solutions were prepared by dissolving polymer beads (polystyrene) in dimethylformamide at a concentration of 20% and 30% (w/v). The scaffolds were prepared by electrospinning. Scaffolds with random fibers (~1.5 and 3µm thickness) or aligned fibers (~1.5 and 4.5µm thickness) were synthesized. Fractal dimensions of the two types of scaffolds were determined to compare the spatial arrangement of the fibers. *In vitro* osteoblast-like cells (SAOS-2) were seeded onto the scaffolds at a density of $1x10^4$ cells/cm² and incubated at 37°C with 5% CO_2 for 14 days. Confocal microscopy and SEM were used to characterize cell arrangement on the scaffolds.
Results: Fractal dimensions of random fibers were higher than those of aligned fibers indicating that random fibers significantly occupy more space. In cell culture, a dense layer of cells, aligned alongside the long axis of the fibers, was observed in each scaffold.
Conclusion: Electrospinning produced different types of polymer scaffolds with random or aligned fibers of different diameters. The next steps of the study will comprise alkaline phosphatase assay and total protein dosage to evaluate cell density on the scaffolds. This will clarify the influence of fiber distribution and fiber diameter in cell adhesion and proliferation.

Mots-clés : polymer scaffold, electrospinning, osteoblast

Poster 2

Lipid-based Nanoformulations of Antimicrobial Peptides to Treat Bacterial Infectious Diseases (European Integrated Project : FORMAMP, 7th PCRD)

N. Matougui
MINT (Micro et nanomédecine en thérapeutique), INSERM U1066

E-mail de l'orateur : matougui.nada@gmail.com

The rapid increase in drug-resistant infections presents an acute problem that continues to challenge the healthcare sector, generating interest in novel antimicrobial strategies. Antimicrobial peptides (AMPs) have a high potential as new therapeutics against infectious diseases as they are less prone to induce resistance due to their fast and non-specific mechanism of action. The new peptides included in the study are well-defined AMPs, established to have an antimicrobial effect and an acceptable safety profile. The aim of this work is to explore the potential of lipid nanocapsules (LNCs) for AMP delivery, and especially its ability to protect the peptide against degradation while at the same time maintain proper drug activity.

Mots-clés : nanoparticle, peptide, bacterial diseases

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 3

Developing microRNA Delivery Systems

S. Anthiya Ramamoorthi Gopalram [1, 3], B. Coyle [2], E. Garcion [1], M.C. Garnett [3,2]
MINT (Micro et nanomédecine en thérapeutique), INSERM U1066
[1] MINT, INSERM U1066
[2] Children's Brain Tumour Research Centre, School of Medicine, University of Nottingham, Nottingham, UK
[3] School of Pharmacy, University of Nottingham, Nottingham, UK

E-mail de l'orateur : shubaash.anthiyaramamoorthigopalram@etud.univ-angers.fr

Introduction : Micro-RNAs (miRNA) are small ~23 nucleotide double stranded molecules. They are natural siRNAs and able to control the expression of multiple genes including the undruggable cancer targets and has shown promising results in literature with significant tumour regression upon reintroduction of tumour suppressor miRNAs. Although the potential of miRNA/RNAi therapeutics is huge, lack of a safe and efficient delivery system has hindered the progress of this field from the clinical perspective. Our aim is therefore to develop an efficient miRNA delivery system using linear chain cationic polyamidoamine (PAA) polymers.
Materials and Methods : Cross-linkable non-PEGylated mono-block and PEG-ylated triblock PAA polymers were used to make miRNA polyplexes. The toxicity of the free polymers and polplexes were accessed by MTT and rezasurin assay respectively. Nanoparticle formation and encapsulation efficiency were studied by agarose gel electrophoresis and Dynamic Light Scattering (DLS). Cellular uptake studies were conducted on 2D and 3D cell cultures with fluorescently labelled microRNA. Gene knockdown studies were performed with miRNA-128 on U87MG luciferase reporter cell lines expressing firefly luciferase with modified 3´-UTR of BMI-1, a validated target of miRNA-128.
Results and Discussion: microRNA nanoparticles measuring 100-300 nm were successfully prepared and characterized. Efficient miRNA polyplex uptake was obtained in 3D culture conditions compared to 2D with relatively low gene knockdown efficiencies which can be attributed to entrapment of polplexes in the endosomes or unpacking of miRNA from polyplexes, which would be revealed and tackled in further experimentations.

Mots-clés : RNAi nanoparticles, formulation, brain tumour

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 4

Fonctionnalisation de la surface de microbulles utilisées comme vecteurs de médicaments : utilisation de NanoCapsules Lipidiques

C.R. Mouzouvi
MINT (Micro et nanomédecine en thérapeutique), INSERM U1066

E-mail de l'orateur : rosedescience@yahoo.fr

Des bulles de petite taille (micromètre) dispersées dans des solutions aqueuses peuvent être avantageusement stabilisées en surface par des NanoCapsules Lipidiques (NCL) d'une taille de 50 nm chargées par un principe actif. Ce système autorise un transport et une libération du médicament dans un champ ultrasonique optimisé. Ce poster présente les premiers jalons de la méthodologie mise en place et plus particulièrement de l'adéquation des NCL à stabiliser une interface air/eau.

Mots-clés : microbulles, nanocapsules, médicament

Poster 5

Étude de la diffusion de nanomédicaments dans le mucus gastro-intestinal

A. Dénarnaud, J. Riou, R. Perrot, E. Roger, F. Lagarce, J.C. Gimel
MINT (Micro et nanomédecine en thérapeutique), INSERM U1066

E-mail de l'orateur : alisondenarnaud@gmail.com

Lors de l'administration par voie orale, les nanomédicaments transitent par le tube digestif pour être absorbés par l'épithélium intestinal. Le mucus gastro-intestinal, hydrogel complexe de glycoprotéines, protège l'épithélium mais constitue la première barrière à franchir pour qu'il y ait absorption par les entérocytes. Le transport au sein du mucus résulte uniquement de la diffusion brownienne des nanovecteurs pouvant être plus ou moins mucoadhérents. La connaissance de leur coefficient de diffusion permet de calculer la cinétique de délivrance au niveau de l'épithélium et contribue à déterminer la dose administrable.

Des nanocapsules lipidiques (LNCs) ont été formulées pour encapsuler un fluorochrome. En microscopie confocale, la technique de recouvrance de fluorescence après photo-blanchiment (FRAP) permet d'appréhender in-situ et à l'équilibre thermodynamique la mobilité des LNCs en modélisant la cinétique de recouvrance dans la zone blanchie. Dans un premier temps, les mesures sont faites dans l'eau. Les résultats obtenus sont analysés par différents modèles [1, 2]. Ces mesures sont comparées avec celles obtenues par diffusion dynamique de la lumière (DLS) pour valider la technique. Enfin, des expériences de FRAP sont réalisées dans le mucus, milieu dans lequel la DLS est inopérante.

À plus long terme, en comparant ces résultats avec ceux de simulations numériques, nous essayerons de mieux comprendre les mécanismes de la diffusion brownienne des nanovecteurs dans les milieux biologiques complexes en quantifiant les effets liés à l'obstruction et/ou l'adsorption. Ainsi nous serons en mesure de pouvoir optimiser la taille et la chimie de surface des nanovecteurs en fonction de l'application visée.

1. Jonasson, J.K., Lorén, N., Olofsson, P., Nydén, M., and Rudemo, M., *A pixel-based likelihood framework for analysis of fluorescence recovery after photobleaching data.* Journal of Microscopy, 2008. **232**(2): p. 260.
2. Braga, J., Desterro, J.M.P., and Carmo-Fonseca, M., *Intracellular Macromolecular Mobility Measured by Fluorescence Recovery after Photobleaching with Confocal Laser Scanning Microscopes.* Molecular Biology of the Cell, 2004. **15**(10): p. 4749.

Mots-clés : diffusion ; nanoparticule ; mucus gastro-intestinal

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 6

Le métabolisme de fer: une épée à double tranchant dans la résistance du glioblastome aux thérapies

C. Legendre, S. Avril, E. Garcion
MINT (Micro et nanomédecine en thérapeutique), INSERM U1066

E-mail de l'orateur : claire.legendre@univ-angers.fr

La résistance à la radiothérapie représente un problème majeur dans le traitement du cancer. Le glioblastome (GBM), tumeur primitive du système nerveux central est une illustration patente de cette réalité. Dans ce contexte, la signalisation de fer reste un mystère. Le fer est en effet l'un des éléments les plus abondants et anciens sur la terre et, comme pour l'oxygène, les organismes vivants, y compris les cellules cancéreuses ont dû s'y adapter. En participant à de nombreux processus biologiques tels que le transport d'électrons ou la synthèse d'ADN, le fer soutient la vie et peut contrôler le développement du cancer. Le fer est nécessaire pour la croissance rapide de cellules cancéreuses à des niveaux élevés et conduit à la production de radicaux libres extrêmement nocifs (réactions de Fenton et d'Haber-Weiss), qui peuvent alors déclencher l'oncogenèse ou inversement promouvoir la mort des cellules cancéreuses. Nos travaux démontrent que les chélateurs de fer sont de piètres modulateurs des réponses des cellules de GBM (U87MG, U251MG) aux radiations ionisantes notamment en condition de normoxie physiologique. En revanche, parmi de nombreux partenaire protéique du fer analysés (transporteurs, protéines de stockage, régulateurs traductionnels), la céruloplasmine, ferroxidase permettant la réaction : $4\ Fe^{2+} + 4\ H^{+} + O_2 \Leftrightarrow 4\ Fe^{3+} + 2\ H_2O$, s'est avérée très nettement impactée, d'un point de vue transcriptomique et protéomique, par l'application d'une radiothérapie. La suite de notre travail aura donc été de déterminer par la production de clones U87MG et U251MG shRNA knockdown de l'enzyme si ces variations sont liés à la souffrance des cellules cancéreuses en réponse à un traitement par irradiation ou à l'initiation de leur radiorésistance. La céruloplasmine peut-elle alors constituer un biomarqueur pronostic et/ou une cible thérapeutique pour la mise en place d'un protocole adjuvant au traitement conventionnel actuel du GBM sachant que son expression est déjà reliée au grade tumoral ?

Mots-clés : glioblastome, fer, céruloplasmine

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 7

Carbocyanine dye DiD allows labelling primary neurospheres from stem cells of the subventricular zone in vitro and defining myelinated structures ex vivo after intra-lateral ventricle injection in vivo

C. Dario, K. Barreau, J. Eyer.
LNBT (Laboratoire de neurologie et transgénèse), UPRES EA3143

E-mail de l'orateur : dario.carradori86@gmail.com

Carbocyanines are fluorescent lipophilic cationic dyes used from the early 1980s in neurobiology as neuronal tracers1. Since this date several applications of these compounds have been developed thanks to their low cell toxicity, lateral diffusion within the cellular membranes and good photostability. 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindodicarbocyanine 4-chlorobenzenesulfonate (DiD) is an interesting exponent of this family because, in addition to the classic carbocyanine properties, it has a longer wavelength compared to its analogues2. That makes DiD the better carbocyanine for labelling cells and tissues which have significant intrinsic fluorescence. Drug encapsulation, drug delivery and cellular transplantation are fields where it found a large employment as tracer for DiD-based systems and where the necessity to have a detailed knowledge about its behaviour as a single entity is emerging3,4. Stem cells of the subventricular zone (SCs SVZ) are the object of a growing number of studies which could soon concern the utilisation of DiD-based systems. It was in this optic that we performed experiment to get basilar information regarding DiD and SCs SVZ in vitro and in vivo. We incubated DiD at different conditions with primary cell cultures of SCs SVZ getting its pharmacokinetic, concentrations, protocols and microscope imaging. We then injected DiD it in the lateral ventricle of rat brain (natural niche of SCs SVZ) discovering its affinity for the myelinated structures of the striatum . We provide here a data base to consult planning or making experiments which will concern DiD and SCs SVZ.

[1]*Schwartz M and Agranoff BW, "Outgrowth and maintenance of neurites from cultured goldfish retinal ganglion cells", Brain Research, 206, 331-343, 1981*
[2]*The Molecular Probes ® Handbook, A guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies, Life Technology, Eleventh Edition, 575-577, 2010*
[3]*Yang H, Mao H, Wan Z, Zhu A, Guo M, Li Y, and Chen H, "Micelles assembled with carbocyanine dyes for theranostic near-infrared fluorescent cancer imaging and photothermal therapy", Biomaterials, 34, 9124-9133, 2013*
[4]*Groo AC, Saulnier P, Gimel JC, Gravier J, Ailhas C, Benoit JP, and Lagarce F, "Fate of paclitaxel lipid nanocapsules in intestinal mucus in view of their oral delivery", International journal of nanomedicine, 8, 4291, 2013*

Mots-clés : DiD carbocyanine, stem cells, myelinated structures

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 8

L’IL-34 et le M-CSF induisent des macrophages qui favorisent la génération de lymphocytes Th17 via l’IL-1 alpha membranaire

E.D. Foucher, S. Blanchard, L. Preisser, P. Jeannin
III (Immunité innée et Immunothérapie), UMR INSERM 892-CNRS 6299, Equipe 7

E-mail de l’orateur : etienne_foucher@hotmail.com

Selon leur environnement, et notamment la nature des cytokines, les monocytes peuvent se différencier en macrophages (Mφ) ou en cellules dendritiques. Nous avons démontré que les ligands de CD115, M-CSF et IL-34, induisent la différenciation des monocytes humains en macrophages (M-CSF-Mφ/IL-34-Mφ) immunomorégulateurs (IL-10^+ IL-12^-) qui diminuent la prolifération des lymphocytes T $CD4^+$ activés.

Les Mφ organisent la réponse immunitaire et en particulier contrôlent la polarisation des lymphocytes T. Nous avons donc évalué la capacité de ces macrophages à polariser les lymphocytes T $CD4^+$ humains. Etonnamment, les résultats montrent que les M-CSF-Mφ et IL-34-Mφ favorisent la génération de lymphocytes Th17 conventionnels. Ce processus est médié via l’expression constitutive d’IL-1alpha membranaire. Au contraire, les macrophages générés en présence de GM-CSF, considérés comme pro-inflammatoires (IL-12^+ IL-10^-) favorisent la génération des lymphocytes Th1.

Dans le but d’identifier des stratégies pour prévenir l’accumulation des macrophages immunomodulateurs dans certaines situations pathologiques, nous avons montré que (i) l’IFNγ et le GM-CSF inhibent la différenciation des M-CSF-Mφ et des IL-34-Mφ et que (ii) l’IFNγ permet la réversion des M-CSF-Mφ et IL-34-Mφ en macrophages immunostimulants.

En conclusion, nos travaux montrent que les M-CSF-Mφ et IL-34-Mφ, considérés initialement comme anti-inflammatoires, induisent la génération de lymphocytes Th17 via une expression constitutive de l’IL-1alpha. Ce processus pourrait contribuer à maintenir, localement, une inflammation modérée nécessaire pour les phénomènes d’angiogenèse et de métastases dans les tumeurs.

Mots-clés : Macrophage, Lymphocyte Th17, Inflammation

Session “Cardiovasculaire, Métabolisme et Nutrition”

Poster 9

Delphinidin and calcium signaling in human T lymphocytes: a basis to elucidate pathways leading to proliferation and apoptosis

O. Dayoub, N. Clere, R. Andriantsitohaina
SOPAM (Stess oxydant et pathologie métabolique), INSERM U1063

E-mail de l’orateur: ousama.dayoub@etud.univ-angers.fr

Delphinidin, an anthocyanin present in red wine, has been reported to exert vasculoprotective properties due to its vasodilatory and antioxidant effects at the level of the endothelium. However, the effect of delphinidin on cells involves in inflammation in cardiovascular diseases remains unknown. We have investigated the effect of delphinidin on the proliferation and apoptosis of T lymphocytes with respect to calcium signaling. Human T cells were isolated from blood of healthy patients. Proliferation was assessed using CyQUANT® NF Cell Proliferation Assay Kit and apoptosis by flow cytometry. Calcium signaling was analyzed using Fluo-4 probe and the mechanisms were depicted using appropriate drugs. Delphinidin did not modify basal proliferation but it was able to decrease the phytohemagglutinin (PHA)-induced proliferation. Inhibitors of capacitative entry and estrogen receptor antagonist, fulvestrant, but not the NO-synthase inhibitor prevented the effect of delphinidin. In addition, delphinidin reduced actinomycin D-induced apoptosis via a mechanism sensitive to capacitative entry inhibitors. Interestingly, delphinidin decreased the ability of thapsigargin to increase both calcium release and entry. The effect of delphinidin was sensitive to capacitative entry inhibitors and partially prevented by fulvestrant but not by the NO synthase inhibitor. Together, these data suggest that delphinidin attenuates T lymphocyte activation via multiple cellular targets on the regulation of calcium signaling via estrogen antagonist sensitive and insensitive pathways. The consequence of which results in inhibition of both proliferation and apoptosis. These effects concur to the protective effect of delphinidin on processes leading to inflammation associated with T lymphocyte activation.

Mots-clés : delphinidin, lymphocytes, inflammation.

Poster 10

Chlordecone promotes angiogenesis through a sequential regulation of cytoplasmic and mitochondrial reactive oxygen species via estrogen receptor activation

E. Alabed Alibrahim, R. Andriantsitohaina, S. Faure, G. Simard
SOPAM (Stess oxydant et pathologie métabolique), INSERM U1063

E-mail de l'orateur : Eid.alabedalibrahim@etud.univ-angers.fr

Organochlorine pesticides have been reported to act as metabolic disruptors in cardiovascular and metabolic diseases, and in tumorigenesis. Recently, we have reported chlordecone promotes pro-angiogenic effects, involving NO release and VEGF production by an estrogen receptor alpha (ERα)-dependent mechanism. It is known that ERα and NO are key regulators of mitochondrial capacity and NO induces production of mtROS. In addition, angiogenesis can be associated either with mitochondrial biogenesis or mtROS production. The present study was aimed to evaluate whether the mitochondria is associated with the pro-angiogenic effects of chlordecone.

The effects of 24h chlordecone was tested on human umbilical vein endothelial cells at the concentration found in drinking water (2.10^{-11}M). Mitochondrial respiration, mitochondrial DNA contents, expression of mitochondrial biogenesis factors, cytoplasmic O_2^-, mitochondrial O_2^- and VEGF expression were assessed. *In vitro* capillary formation was also performed.

Chlordecone did modify neither maximum mitochondrial respiratory capacity nor mtDNA contents. The SOD mimetic MnTMPyP prevented the increase in length of capillaries. Chlordecone increased cytoplasmic ROS at 1h and 4h and mtROS at 4h. The NADPH oxidase inhibitor, apocynin at 1 and 4h, prevented the increase in cytoplasmic ROS production. The NO-synthase inhibitor, L-NAME, prevented the production of cytoplasmic ROS and mtROS only at 4h. All of the effects of chlordecone were sensitive to the estrogen receptor antagonist, fulvestrant.

Altogether, these data underscore that chlordecone induces angiogenesis through a temporal and sequential increase in ROS production from NADPH-oxidase and mitochondrial sources. The late but not the early phase requires of ROS production occurs via a pathway sensitive to the NO-synthase inhibitor. It is interesting to note that the ability of chordecone to promote angiogenesis occurs through estrogen receptor without modifying mitochondrial biogenesis. Thus, we highlight a subtle spatio-temporal regulation of ROS and NO by chlordecone in promoting angiogenesis via estrogen receptor activation.

Mots-clés : chlordecone, angiogenesis, mitochondria.

Poster 11

M3 receptor as a key target of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) to promote angiogenesis

S Legeay [1], N Clere [1], V Apaire-Marchais [2], B Lapied [2], R Andriantsitohaina [1], S Faure [1]
SOPAM (Stess oxydant et pathologie métabolique), INSERM U1063
[1] SOPAM, INSERM U1063
[2] UPRES EA 2647

E-mail de l'orateur : samuel.legeay@etud.univ-angers.fr

Introduction : The insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) recently proposed as an inhibitor of human acetylcholinesterase has been reported to potentiate tumor development. It has been demonstrated that donepezil, another inhibitor of human acetylcholinesterase, is able to promote angiogenesis. The present study was designed to test the potential effect of DEET on different processes leading to neovascularization.
Material and methods : HUVECs were incubated for 24h with DEET at concentrations similar to that found in plasma of exposed individuals (10^{-5}M) or in the environment (10^{-8}M). Calcium signaling was investigated HEK 293 cells expressing recombinant Galpha(q/11)-coupled muscarinic M3 receptors (HEK/M3). *In vivo* vascularization was assessed by using Matrigel® plug model and U87MG tumor cells xenagraft in *Nude* mice daily treated with DEET for 28 days. Involvement of muscarinic pathway was evaluated with selective muscarinic M3 antagonist pFHHSiD or with M3 siRNA.
Results : Both concentrations of DEET increased *in vitro* capillary length of HUVECS in culture on matrigel and *in vivo* vascularization of Matrigel® Plug. Blockade or silencing M3 muscarinic receptor subtype abolished the pro-angiogenic properties of DEET in both *in vitro* and *in vivo* conditions. DEET also potentiates carbachol-induced calcium signaling in HEK/M3. Moreover, tumorigenesis following U87MG cells injection in Nude mice was increased by administration of DEET due to enhanced tumor microvascular density.
Discussion / Conclusion : These data underscore a pro-angiogenic property of DEET *via* the involvement of M3 muscarinic receptor subtype that could explain its potentiating effect on tumor development.

Bibliography

Kakinuma Y. et coll. (2010) *J. Mol. Cell. Cardiol.*

Fradin M.S. et coll. (2002) *New Eng. J. Med.*

Corbel V. et coll. (2009) *BMC Biology*

Mots-clés : DEET, angiogenesis, muscarinic M3 receptor

Poster 12

Les microvésicules porteuses du morphogène Shh inhibent la différenciation adipocytaire via une voie de signalisation non-canonique

A. Fleury, M.C. Martinez, C. Jacques, R. Andriantsitohaina, S. Le Lay
SOPAM (Stess oxydant et pathologie métabolique), INSERM U1063

E-mail de l'orateur : afleur@etud.univ-angers.fr

Le morphogène Sonic Hedgehog (Shh) diffuse dans l'organisme sous forme libre ou associée à des microvésicules extracellulaires (MVs). Nos travaux montrent que certains types de MVs véhiculant spécifiquement Shh peuvent corriger la dysfonction endothéliale souvent associée aux pathologies cardiovasculaires. Shh a aussi été identifié comme un facteur anti-adipogénique dans des études utilisant la protéine recombinante non-lipidée (RecShh). L'objectif de cette étude est de caractériser l'effet de Shh associé aux MVs sur la différenciation adipocytaire. Le traitement de préadipocytes 3T3-L1 par RecShh ou par des MVs porteuses de Shh (Mvs^{Shh+}) inhibe la différenciation adipocytaire et induit une diminution des facteurs clés de l'adipogenèse. RecShh ou les MVs^{Shh+} ne sont plus capables d'inhiber la différentiation adipocytaire sur des 3T3-L1 déficientes pour le récepteur Smoothened. Cependant, les acteurs en aval de Smoothened conduisant à l'inhibition de l'adipogenèse diffèrent pour RecShh ou les MVs^{Shh+}. RecShh induit une translocation de Smoothened dans le cil primaire et l'expression des facteurs Gli, et son effet inhibiteur est prévenu par la cyclopamine. L'effet des MVs^{Shh+} est quant à lui indépendant de la translocation de Smoothened, de l'induction des Gli et insensible à la cyclopamine. En revanche, les MVs^{Shh+} induisent une activation de l'AMPK qui pourrait sous-tendre à l'effet inhibiteur observé.

En conclusion, Shh inhibe la différentiation adipocytaire par des mécanismes différents sous sa forme recombinante ou portée par les MVs. De manière originale, les MVs^{Shh+} mettent en jeu l'activation d'une voie hedgehog non-canonique qui participerait à la régulation de la masse adipeuse en modulant le pool de préadipocytes.

Mots-clés : adipogénèse, sonic hedgehog, microvésicules

Poster 13

Microparticles from apoptotic T lymphocytes induce endothelial dysfunction through induction of endoplasmic reticulum stress

Z. Safiedeen[1,2], I. Rodriguez-Gomez[1], R.Soleti[1], D. Vaithilingam[1], A. Agouni[3], R.Andriantsitohaina[1], K. Zibara[2], M.C. Martínez[1]
SOPAM (Stess oxydant et pathologie métabolique), INSERM U1063
[1]INSERM U1063, Stress Oxydant et Pathologies Métaboliques, Angers, France
[2]Plateforme de Recherche et d'Analyses en Sciences et Environment, Beirut, Liban
[3]University of Surrey, Surrey, Royaume-Uni

E-mail de l'orateur : zainab-sd@hotmail.com

Microparticles (MPs) are small vesicles released from the plasma membrane of activated and/or apoptotic cells. We have previously shown that MPs generated from apoptotic T cells induce endothelial dysfunction through a decrease of nitric oxide production (NO). In this study we hypothesize that the mechanism by which MPs induce endothelial dysfunction implicates endoplasmic reticulum (ER) stress activation. For this, human aortic endothelial cells (HAoECs) are treated with 10 µg/ml MPs in the absence or in the presence of the ER stress inhibitor TUDCA for 24 hours. Expressions of molecular components of ER stress such as XBP-1, p-eIF2alpha and CHOP are increased by MP treatment and are prevented in the presence of TUDCA. In addition, in the presence of inhibitors of reactive oxygen species (ROS) sources (allopurinol, apocynin or rotenone), MPs are not able to induce ER stress indicating the implication of ROS in the effects of MPs. Since during ER stress, it has been shown that ER and mitochondria interactions are increased, we analyzed the expression of mitofusin-2 and VDAC-1 channel, two components of mitochondria-associated membranes. MPs are able to increase expression of mitofusin-2 and to decrease VDAC-1 channel suggesting that mitochondria-associated membranes are implicated in the effects of MPs. Finally, the decrease on NO production induced by MPs is prevented in the presence of TUDCA. Altogether, these results show the involvement of ER stress and the mitochondria in endothelial dysfunction induced by MPs via the increase of ROS production.

Mots-clés : microparticles, endoplasmic reticulum stress, endothelial dysfunction

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 14

Non-muscular myosin light chain kinase and NF-κB pathway interaction in endothelium is critical for lipopolysaccharide induced vascular hyporeactivity

S. Recoquillon, N. Caruzio, A.H. Lagrue-Lakhal, S. Tual-Chalot, A. Filippelli, R. Andriantsitohaina, M.C. Martinez
SOPAM (Stess oxydant et pathologie métabolique), INSERM U1063

E-mail de l'orateur : sylvain.recoquillon@etud.univ-angers.fr

The lipopolysaccharide (LPS), a major component of the Gram-negative bacteria, affects cells of the vasculature causing hypotension by initiation of smooth muscle cell hyporeactivity and endothelial dysfunction. LPS through Toll-like receptor 4 activates NF-κB pathway initiating transcription of inflammatory genes as cytokines or the inducible nitric oxide synthase (iNOS) and finally overproduction of nitric oxide (NO). We and other have demonstrated that deletion of non muscular myosin light chain kinase (nmMLCK), a kinase implicated in regulation of endothelial permeability, enhances survival after intraperitoneal injection of LPS and prevents LPS-induced hyporeactivity and inflammatory activation. This study was aimed to better understand the molecular mechanism of protection of deletion nmMLCK against LPS-induced vascular alterations. Aortic rings were harvested from untreated wild-type or nmMLCK deficient mice after injection of LPS (100µg/kg) for 20 hours. Then vascular reactivity, NO production and iNOS expression in aorta were assessed. Human aortic endothelial cells (HAoECs) were incubated with LPS (10µg/ml) for 3 hours in absence or presence of ML-7 (5µM), an nmMLCK inhibitor, and NF-κB activation and interaction of nmMLCK and NF-κB were analyzed. We provide evidence that nmMLCK deficiency prevents LPS-induced vascular hyporeactivity but not endothelial dysfunction in aorta. Deletion of nmMLCK inhibits the increase of NO release via induction of iNOS within the vascular wall. In HAoECs, LPS-induced NF-κB activation occurs via increase of nmMLCK activity sensitive to the MLCK inhibitor, ML-7. Moreover, nmMLCK co-immunoprecipitates with NF-κB, suggesting physical interactions between both proteins. We report NF-κB as a novel partner of nmMLCK within endothelial cells.

Mots-clés : lipopolysaccharide, NF-κB, endothelial MLCK

Poster 15

Prévention du carcinome hépatocellulaire par la metformine

C. Vitellius, F. Schmitt, L. Fizanne, P. Cales
HIFIH (Hémodynamique, interaction fibrose et invasivité tumorales hépatiques), UPRES EA3859

E-mail de l'orateur : carole.vitellius@wanadoo.fr

Le carcinome hépato-cellulaire (CHC) est la 6ème cause de cancer dans le monde et la deuxième cause de décès par cancer dont 30-40% des cas surviennent dans un contexte de syndrome métabolique ou de stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD). La metformine, anti diabétique oral, pourrait diminuer l'incidence du CHC dans différentes études.
Cette étude veut démontrer l'intérêt de la metformine en traitement préventif du CHC dans différents modèles animaux : un modèle court de CHC induit par un carcinogène , le DENA en comparant la metformine versus placebo et un modèle long avec un suivi jusqu'à 18 mois de rats Long-Evans Cinnamon qui présentent une délétion du gène ATP7B, homologue de celui responsable de la maladie de Wilson, et dont le rat partage l'atteinte hépatique avec apparition d'une fibrose et de CHC, versus des rats avec syndrome métabolique.
Le critère de jugement principal sera le taux actuariel de CHC, diagnostiqué par IRM, puis confirmé en anatomopathologie lors du sacrifice et nous évaluerons la fibrose hépatique par méthode non invasive (élastographie ARFI - acoustic radiation force impulsion- et scores sanguins de fibrose).
Les critères de jugement secondaire comprendront la survie globale et la survie globale sans CHC et différentes analyses méchanistiques afin de comprendre le mécanisme d'action de la metformine.

Mots-clés : hepatocarcinome, metformine, prevention

Poster 16

Le test HPV urinaire : une alternative de dépistage proposée aux femmes réfractaires au FCU

A. Ducancelle, A. Pivert, J. Reiser, F. Lunel-Fabiani, A.S. Le Duc Banasuk
HIFIH (Hémodynamique, interaction fibrose et invasivité tumorales hépatiques), UPRES EA3859 – Virologie CHU

E-mail de l'orateur : alducancelle@chu-angers.fr

En France, le dépistage du cancer du col de l'utérus repose sur l'examen cytologique d'un frottis cervico-utérin (FCU) chez les femmes âgées de 25 à 65 ans. Le taux de couverture reste insuffisant (<58%). Des études récentes montrent une meilleure adhésion des femmes aux autoprélèvements vaginaux proposés pour rechercher les Papillomavirus humains (HPV).

Entre novembre 2012 et janvier 2013, 5000 courriers ont été envoyés à des femmes âgées de 40 à 65 ans n'ayant pas réalisé de FCU depuis plus de 3 ans. Le prélèvement urinaire demandé dans cette étude nous a permis de rechercher les HPV par PCR en temps réel. Cette technique commerciale permet la détection des HPV de génotypes 16, 18 et d'un complexe de 12 autres HPV oncogènes (HPVHR). En cas de résultat positif, la patiente était contactée par son médecin afin de réaliser rapidement un FCU.

771 prélèvements ont été reçus au laboratoire et 687 échantillons ont été analysés. Parmi eux, 29 étaient positifs pour HPV (prévalence : 4,2%) : 2 HPV16, 4 co-infections HPV16 / HPVHR, 1 co-infection HPV18 / HPVHR et 22 HPVHR. Les FCU, réalisés chez les femmes dont le test HPV était positif, ont révélé la présence de 9 FCU anormaux. La colposcopie (± biopsies) a confirmé 3 lésions stade CIN3.

Notre étude montre que la recherche des HPV dans les urines pourrait être une alternative au FCU chez les femmes réfractaires à ce type de prélèvement, ce qui permettrait d'étendre la couverture du dépistage du cancer du col en France.

Mots-clés : papillomavirus humains, urine, PCR en temps réel

Poster 17

Impact des mutations dans les domaines PBC/PC du VHB sur la fibrose hépatique : résultats d'une étude multicentrique française

A Pivert, S Bertrais, Groupe Vhb Ac33 Anrs, F Lunel-Fabiani, P Cales, A Ducancelle
HIFIH (Hémodynamique, interaction fibrose et invasivité tumorales hépatiques), UPRES EA3859 – Virologie CHU

E-mail de l'orateur : adpivert@chu-angers.fr

Le rôle des mutants précore (PC) et du promoteur basal du core (PBC) du virus de l'hépatite B (VHB) dans la sévérité des lésions hépatiques reste controversé. Nous avons mené une étude nationale multicentrique chez des sujets atteints d'une infection chronique par le VHB non traités (289 patients inclus).

La recherche des mutants PC/PBC a été réalisée par séquençage direct, et les données de fibrose hépatique et de transaminases ont été colligées pour 232 patients. Trois mutations ont été plus particulièrement étudiées : G1896A et G1899A dans la région PC et A1762T/G1764A dans le PBC. La prévalence de ces 3 mutations a été retrouvée respectivement chez 56%, 29% et 54% des patients.

La double mutation dans le PBC est majoritairement retrouvée chez les patients aux scores de fibrose ≥F2 ($p<0,001$), alors que la prévalence des mutations PC est identique quelque soit le stade de fibrose. En analyse multivariée, (i) nous confirmons que l'âge, le sexe et les transaminases élevées sont des facteurs indépendants pour la prédiction de la fibrose ; (ii) nous montrons que la présence de la double mutation PBC est significativement liée à une fibrose cliniquement sévère ($p=0,011$) et (iii) nous proposons un rôle hypofibrosant de la mutation G1899A qui permettrait surtout de contrer l'effet profibrosant de la double mutation du PBC ($p=0,012$).

Notre étude démontre l'impact des mutants PC/PBC sur l'évolution de la fibrose hépatique et pour la première fois, un rôle protecteur de la mutation G1899A vis-à-vis de la fibrose cliniquement sévère.

Mots-clés : virus de l'hépatite B, fibrose, mutants précore

Poster 18

Mesure de la contrainte radiale carotidienne comme marqueur de la rigidité artérielle : étude pilote

V. Behaghel, A. Barriet, O. Briere, L. Omarjee, G. Leftheriotis
BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : vi.behaghel@gmail.com

Introduction : La rigidité vasculaire est un marqueur infra clinique indépendant de la maladie athéromateuse et bien corrélé à la morbi-mortalité cardiovasculaire. L'évaluation de ce biomarqueur en pratique courante apporterait des éléments importants dans le phénotypage individuel du risque vasculaire des patients. Notre objectif était de valider une nouvelle approche échographique par la technologie du Vector Velocity Imaging (VVI) par rapport à la technique de référence par echotracking (ET).

Méthodes et Résultats : Une mesure de la rigidité artérielle carotidienne par ET (Esaote QAS), de la fonction cardiaque et de la contrainte radiale par VVI (Siemens Syngo) ont été réalisées sur 10 sujets sains (8 hommes, âge moyen 31 ± 12 ans) et à faible risque cardiovasculaire (score Framingham à 2 ± 3 %).

Les résultats montrent une relation linéaire entre les variables de contrainte radiale (vitesse de déplacement des parois, déplacement des parois) et les variables de la rigidité artérielle mesurées par ET: compliance ($r=0,90$; $r=0,90$; $r=0,91$, $p<0,001$) (figure 1) et indice de distensibilité β carotidienne ($r=0,85$; $r=0,84$; $r=0,87$, $p<0,005$). Les corrélations entre ces variables étaient indépendantes de la fonction ventriculaire gauche.

Conclusion : L'évaluation de la contrainte radiale carotidienne par VVI est fortement corrélée aux mesures de rigidité vasculaire de référence d'echotracking dans une population à faible risque cardiovasculaire. Cette technique, simple de réalisation, pourrait contribuer à la caractérisation individuelle de l'impact vasculaire des facteurs de risque cardiovasculaires.

Annexe :

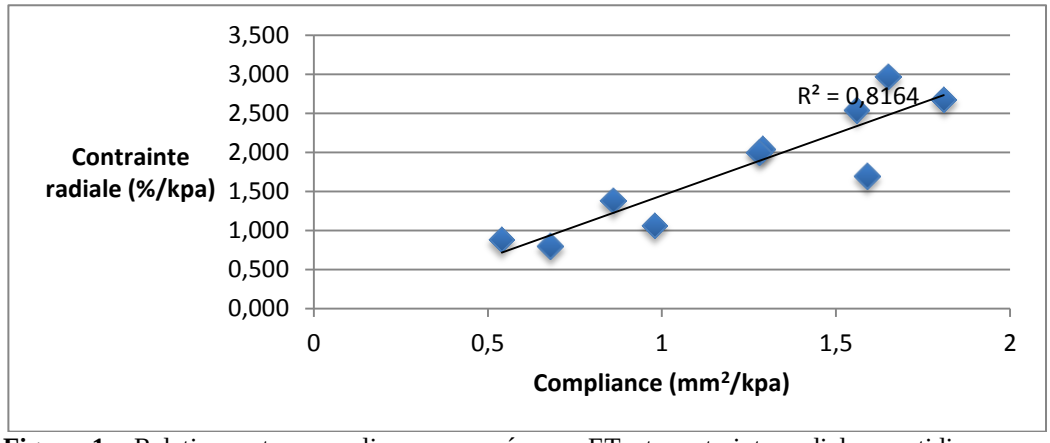

Figure 1 : Relation entre compliance mesurée par ET et contrainte radiale carotidienne normalisée par la variation de pression mesurée par VVI ($r=0,90$; $p<0,001$).

Mots-clés : strain carotidien, facteur de risque

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 19

Effet du diabète maternel sur la programmation fœtale des mécanismes de remodelage vasculaire chez le rat adulte

A. Dib, J. Bourreau, L. Loufrani, D. Henrion, Z. Fajloun, C. Fassot
BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : boudidib@live.com

Cardiovascular risk is not only determined by conventional risk factors in adulthood, but also by early life events resulting in re-settings of physiological functions.
Constrictive vascular remodeling is currently associated with the occurrence of cardiovascular diseases. Thus, our objective was to study vascular remodeling in case of *in utero* exposure to maternal diabetes in order to investigate the effect of intra-uterine environment perturbations on vascular fetal programming. We developed an animal model of rats exposed *in utero* to moderated maternal hyperglycemia (DMO), which developed an hypertension around 6 months of age.

We analyzed structure of elastic and resistance arteries in absence or presence of established hypertension in male DMO compared to controls (CMO) (at 3 and 18 months of age). Moreover, by in vivo sequential ligation of mesenteric arteries, we studied vascular remodeling of resistance arteries in response to low (LF), normal (NF), or high flow (HF).

In old DMO, we did not observe any vascular remodeling induced by hypertension neither in aorta nor in mesenteric arteries. This could be related to the increase of smooth muscle cell attachments that we observed. Moreover, after 1 or 3 weeks of mesenteric arteries ligation, DMO did not exhibit any constrictive remodeling in LF although expansive remodeling in HF is maintained. Interestingly, in LF arteries of theses animals, we measured an increase of eNOS activity and GP91 although transglutaminase-2 protein expression is not modified.

Our results demonstrate that in utero exposure to maternal diabetes induce modification of vascular remodeling mechanisms in adulthood.

Mots-clés : diabète maternel, programmation fœtale, remodelage vasculaire

Poster 20

Role of Thrombospondin -1 in the Remodeling Induced by a Chronic Increase in Flow in Resistance Arteries

C. Grenier, A. Caillon, L. Grimaud, A. Ayer, B. Toutain, V. Sauzeau, G. Loirand, O. Blanc-Brude, D. Henrion, L. Loufrani

BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : celine.grenier86@gmail.com

Chronic increases in blood flow in resistance arteries induce outward vascular remodeling due to increases NO-dependant dilation and MMP activation. Although thrombospondin-1 (TSP-1) interacts with matrix proteins and cell-surface receptors, controversy remains about its vascular functions. We investigate the role of TSP-1 in high flow (HF)-mediated remodeling of resistance arteries.

Mesenteric arteries were ligated in vivo to generate HF arteries compared with normal flow (NF) vessels on wild type (WT) and TSP-1 deleted (KO) mice. Arteries were isolated from 4 to 7 days after ligature. Arteries diameter and reactivity were studied in vitro in an arteriograph. Genes and proteins implicated in inflammation, remodeling, and immune cells recruitment were determined in HF and NF arteries.

Increases in diameter found between WT NF and WT HF arteries were not significant in KO arteries. Contrary to KO arteries the diameter increase in WT arteries were correlated to an increase in wall thickness. Furthermore KO arteries were less responsive to Ach induced dilation than WT arteries.

After 4 days of ligature, we observed an increase in pro-inflammatory (CD68, Cox2, Gp91 phox, p47 phox, p22phox) gene expression and immune cells recruitment between NF and HF WT arteries which was not observed in KO arteries.

The absence of TSP-1 leaded to a decrease in flow-induced dilation remodeling with a reduction of the inflammatory response and of the endothelium-mediated dilation involved in HF remodeling. The deficiency in remodeling was also associated with a decrease in the immune cells recruitment involved in the initiation of the remodeling.

Mots-clés : thrombospondin-1, arteriogenesis, inflammation

Poster 21

Mécanismes moléculaires impliqués dans la protection vasculaire induite par le récepteur aux estrogènes alpha dans un contexte d'hypertension chez la souris

E. Guivarc'h, A.L. Guihot, J. Favre, E. Vessières, J. Wakim, J.F. Arnal, F. Lenfant, L. Loufrani, D. Henrion

BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : emmanuel.guivarch@etud.univ-angers.fr

Les femmes, avant la ménopause, sont moins affectées que les hommes par l'hypertension artérielle et l'athérosclérose, principaux facteurs de risque de maladies cardiovasculaires. Les oestrogènes jouent un rôle clé dans la protection des vaisseaux, principalement via le récepteur Alpha aux oestrogènes (ERα). Ce récepteur agit via deux voies: la voie génomique où le récepteur régule la transcription et la voie membranaire où ERα active des cascades de signalisation rapides depuis la membrane. Les rôles respectifs de ces deux voies dans le mécanisme de protection vasculaire restent mal connus. L'objectif de ce travail est de mieux cerner leur implication dans un contexte d'hypertension chez la souris.

Nous avons utilisé des souris totalement déficientes en ERα (ERα-/-), des souris avec une perte de fonction à la membrane (C451A-ERα), des souris n'exprimant pas le domaine de transcription ligand-dépendant d'ERα (AF2°), des souris ovariéctomisées (WT-OVX) et des souris contrôle (WT). L'hypertension a été induite par l'implantation d'une pompe Alzet diffusant de l'angiotensine II et la pression artérielle a été mesurée par brassard caudal. Après 28 jours, la structure et la fonction des artères a été mesurée in vitro/ex vivo.

L'hypertension induite par l'angiotensine II a été plus importante chez les souris ERα -/- et les souris AF2° par rapport aux WT, WT-OVX et C451A- ERα. Ces données suggèrent que l'effet protecteur d'ERα contre l'élévation de pression implique la fonction de transcription nucléaire AF2 plutôt que la voie membranaire. Cet effet s'associe à des changements de dilatation endothélium dépendante et d'épaisseur de paroi artérielle.

Mots-clés : hypertension, récepteur aux oestrogènes, vaisseau

Poster 22

Anomalies cérébrovasculaires au cours du Pseudoxanthome élastique. Une étude rétrospective physiopathologique

L. Omarjee, G. Kauffenstein, S. Henni, O. Le Saux, G. Leftheriotis, L. Martin
BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083 - Explorations Fonctionnelles Vasculaires, CHU Angers

E-mail de l'orateur : loukman.omarjee@chu-angers.fr

Introduction : Le Pseudoxanthome élastique (PXE) est une maladie génétique rare,autosomique récessive, caractérisée par un processus de fragmentation des fibres élastiqueset de calcification tissulaire ectopique touchant la peau, la rétine et le système vasculaire.Les manifestations cardiovasculaires comme l'artériopathie des membres inférieurs sont fréquentes dans le PXE et les manifestations cardiaques sont plus sporadiques. Les données dela littérature concernant les manifestations cérébrovasculaires sont éparses et sont l'objet de"case report". Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer la prévalence d'accidentvasculaire cérébral (AVC) symptomatique, la prévalence des anomalies artérielles extracrâniennes et de déterminer les facteurs prédictifs pouvant expliquer ces manifestations.
Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique de 2000 à 2014, au centre de référence du PXE au CHU d'Angers. Les patients avaient un âge moyen de (45 ± 17ans) et lediagnostic de PXE était basé sur les critères validés à savoir les signes cutanés typiques, unebiopsie cutanée positive et la présence de stries angioïdes. Tous les patients ont reçu uncartographie vasculaire complète plus particulièrement une étude morphologique et hémodynamique des troncs supra-aortique et des artères des membres inférieurs. Aussi, les antécédents vasculaires personnels et familiaux ont été recherchés, de même que les facteursde risque cardiovasculaire (FDRCV) et la CRP ultrasensible.
Résultats : 9.65% des patientsPXE ont eu un AVC durant la période de suivi. L'âge moyen de survenu était de (54±15ans),45% d'hommes. L'hypertension artérielle (HTA) (p=0.006), l'index de pression systolique àla cheville (IPSc) (p=0.0035) et le score calcique coronaire (p=0.045) sont les facteurs prédictifs d'AVC chez les patients PXE et cela ne diffère pas de ce qui est retrouvé dans lapopulation générale. D'autre part, 12 patients de la cohorte présentent une hypoplasie de lacarotide interne définit par un diamètre <3mm. 3 d'entre eux ont présenté un AVC. Lerisque de présenter un AVC chez ces patients avec hypoplasie carotidienne n'est passignificatif (p=0.669). Par contre, cette anomalie est associée à un IPSc bas (p=0.005) et àun diamètre carotidien commun plus petit (p=0.0001) et cela semble être spécifique du PXE.
Conclusion : Le PXE, une maladie métabolique systémique est une cause d'AVC du sujetjeune. Les FDRCV comme l'HTA, un syndrome métabolique peuvent précipiter et aggraverle risque de présenter un AVC. L'hypoplasie de la carotide interne est une lésion découvertepour la première fois durant le suivi de cette cohorte et elle semble être pathognomoniquedu PXE. Cette malformation artérielle extra-crânienne doit faire rechercher un PXE etimpose la réalisation d'une imagerie cérébrale à la recherche d'anomalies intra-crâniennes.

Mots-clés : pseudoxanthome élastique, hypoplasie carotidienne, AVC

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 23

Rôle du récepteur aux oestrogènes alpha dans la mécano-transduction endothéliale des forces de cisaillement chez la souris

J. Favre, E. Vessières, A.L. Guihot, L. Grimaud, L. Loufrani, J.F. Arnal, F. Lenfant, D. Henrion

BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : julie.favre22@gmail.com

Une perfusion adéquate des tissus périphériques est liée à la capacité des petites artères de résistance à répondre aux variations de pression artérielle et de flux sanguin. Une altération de la vasodilatation endothélium-dépendante (**dilatation flux-dépendante, DFD**) rapide en réponse à une élévation des forces de cisaillement liées au débit intra-artériel est retrouvée précocement dans divers contextes pathologiques tel que le vieillissement. Le laboratoire a montré récemment que le remodelage artériel dépendant du flux, phénomène adaptateur perdu avec l'âge, était contrôlé par le **récepteur aux œstrogènes alpha (ERα)** exprimé dans l'endothélium. Notre but a été d'évaluer un rôle de ERα dans les mécanismes mécano-sensibles endothéliaux de réponse aigue au flux par l'utilisation de différents modèles murins d'invalidation de ERα. L'étude de la fonction vasculaire d'artères mésentériques isolées et pressurisées sur arteriographe nous a permis de montrer une altération sélective de la DFD en réponse à des paliers de flux intraluminal croissants (6-100ul/min) sans modification majeure de la réponse aux agonistes vasodilatateurs (acétylcholine), chez les souris déficientes en ERα total, aussi bien chez les femelles que chez les mâles. Alors que l'activation de la fonction de transactivation AF2, importante dans l'action nucléaire du récepteur, ne semble que partiellement impliquée, une altération majeure de la DFD est observée chez les souris mâles C451A et R264A ayant respectivement un défaut d'adressage ou de signalisation de ERα à la membrane. Nous montrons pour la première fois que ERα membranaire contribue à la mécano-transduction artérielle et représente une nouvelle cible thérapeutique dans les maladies vasculaires périphériques.

Mots-clés : récepteur aux oestrogènes, dilatation flux-dépendante, mécano-transduction

Poster 24

Protective role of nucleotidases against the development of hypertension

C. Roy, B. Toutain, A.L. Guihot, J. Sévigny, D. Henrion, G. Kauffenstein
BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : charlotte.roy9@gmail.com

Background: Hypertension is associated with a hypertrophic remodeling of big arteries, increased tone in smallest, oxidative stress and inflammation. Extracellular nucleotides, released under stress condition, play a role in various physiopathological conditions through P2 receptors activation. Hydrolysis of nucleotides is achieved by nucleoside triphosphate diphosphohydrolases, especially NTPDase1 (CD39), highly expressed in the arterial wall. Together with ecto-5'nucleotidase (CD73), these ectoenzymes generate vasoprotective adenosine. The contribution of the purinergic signaling in cardiovascular diseases, hypertension in particular, remains to be established.
Aim: investigate the role of extracellular nucleotidase activity in experimental hypertension.
We used two models: Apyrase (APY) treatment (soluble enzyme with CD39-like activity) and in CD39 null mice (*Entpd1-/-*). After 12 days of Angiotensine II (AngII, 1mg/kg/day) with or without APY (45U sc, 15U ip every 3 days), blood pressure increase and hypertrophic arterial remodeling were significantly reduced in AngII/APY-treated mice compared to AngII alone. Reversely, blood pressure increase and hypertrophic arterial remodeling were exacerbated in *Entpd1-/-* mice treated with intermediate dose of AngII (0.5mg/kg/day), compared to *Entpd1+/+* mice. Moreover, RT-qPCR and immunofluorescence experiments evidenced decreased perivascular immune cells infiltration and oxidative stress in AngII/APY-treated mice compared to AngII-treated mice. Interestingly, we found a decrease in both CD39 arterial expression (RT-qPCR) and serum ADP hydrolysis depend on CD39 (HPLC), in AngII-treated mice, suggesting a link of CD39 to hypertension.
Conclusion: nucleotidase activity protects against vascular alterations associated to hypertension while the expression of CD39 decreases with the pathology. Nucleotidase may represent new therapeutic treatment for vascular diseases.

Mots-clés : hypertension, ectonucleotidase CD39, apyrase

Poster 25

Molecular insights into the structure of the transmembrane domain of the thyrotropin receptor

V. Chantreau, B. Taddese, M. Munier, L. Gourdin, P. Rodien, M. Chabbert
BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : marie.chabbert@univ-angers.fr

The thyrotropin receptor (TSHR) is a member of the leucine-rich repeat subfamily (LGR) of the G-protein-coupled receptor (GPCR) superfamily. In the absence of crystal structure, the success of rational design of ligands targeting the TSHR internal cavity depends on the quality of the models built. In the LGR family, transmembrane helices (TM) 2 and 5 are characterized by the absence of proline compared to most receptors, raising the question of the GPCR templates suitable for molecular modeling of TSHR. To gain insights into the structural properties of these helices, we carried out both bioinformatics and experimental studies. Evolutionary analysis of the LGR family corroborated the indel in TM5 proposed by par Kleinau et al. (2011) but provided no information on TM2. Proline residues were substituted at positions 2.58, 2.59 or 2.60 in TM2 and/or position 5.50 in TM5. Different effects were observed on membrane expression, glycosylation, constitutive cAMP activity and TSH-induced cAMP and Ca2+ responses, depending on the proline position. Only the proline substitution at position 2.59 maintained complex glycosylation and Ca2+ response, supporting a bulged TM2. The TSHR TM5 was modeled with a deletion of one residue compared to bulged templates and its stability tested by molecular dynamics. TM5 straightened during the equilibration step and remained stable during the next 60 ns simulations. Our data support a structural model of the TSHR TM domain with a bulged TM2 and a straight TM5 which has no equivalent in the GPCR crystal structures resolved to date.

Mots-clés : TSHR, GPCR, molecular modeling

Poster 26

Fusion Mitochondriale et effets vasculaires : rôle de OPA1 dans l'hypertension artérielle

P.M.C. Nguyen, C. Grenier, L. Grimaud, E. Sarzi, T.D. Nguyen, G. Lenaers, D. Bonneau, P. Reynier, D. Henrion, L. Loufrani

BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : chance_nnn@yahoo.com

La morphologie mitochondriale résulte d'un équilibre dynamique entre les processus de fusion et de fission, impactant la physiologie cellulaire. OPA1 est une protéine qui contrôle la fusion de la membrane interne de la mitochondrie. Elle est également impliquée dans d'autres processus très importants de la cellule. Dans cette étude, nous aimerons étudier l'effet de la protéine OPA1 sur la fonction vasculaire et l'adaptation vasculaire dans un modèle d'hypertension artérielle.

Méthodes et **résultats**: La fonction vasculaire des souris *Opa1*$^{+/+}$ (WT) et des souris *Opa1*$^{+/-}$ de 6 mois est examinée à l'état basal et dans le modèle d'hypertension induit par L-NAME. Les souris *Opa1*$^{+/-}$ présentent la pression artérielle et la réactivité vasculaire similaires aux souris WT à l'état basal. Suite à un traitement sous L-NAME, les souris *Opa1*$^{+/-}$ développent une hypertension plus sévère que les souris WT. Les aortes des souris *Opa1*$^{+/-}$ hypertendues présentent une dysfonction endothéliale plus sévère et un retardement de remodelage hypertrophique par rapport à des souris WT hypertendues. Ceci est associé à une réduction de prolifération et une augmentation d'apoptose des cellules musculaires lisses dans l'aorte des souris *Opa1*$^{+/-}$ hypertendues. L'étude réalisée sur les cellules knockdown *Opa1* montre que l'ablation d'*Opa1* a des impacts différents sur des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales.

Conclusion : Ces résultats suggèrent que l'OPA1 joue un rôle important dans l'adaptation des vaisseaux à l'hypertension. Cela suggère pour la première fois que la dynamique mitochondriale peut jouer un rôle important dans la fonction et l'adaptation des vaisseaux dans les conditions pathologiques.

Mots-clés : OPA1, mitochondrie, fonction vasculaire

Poster 27

Le brévénal, possible antidote de la ciguatera

L. Crespin, C. Legros, C. Mattei
BNMI (Biologie neurovasculaire et mitochondriale intégrée), UMR CNRS 6214-INSERM 1083

E-mail de l'orateur : lucille.crespin@gmail.com

Les ciguatoxines (CTX) sont des polyéthers cycliques responsables de la ciguatera, une intoxication alimentaire à l'origine de symptômes gastro-intestinaux, cardiovasculaires et neurologiques. La cible principale de ces toxines est le canal sodium dépendant du potentiel membranaire, impliqué dans de nombreuses fonctions physiologiques, d'où la diversité des symptômes observés lors des intoxications.

Il n'existe à ce jour aucun traitement spécifique de la ciguatera, la prise en charge étant purement symptomatique. Des études ont montré que les effets neurotoxiques des brévétoxines, une famille de molécules structurellement apparentées aux CTX, pouvaient être inhibés par le brévénal. De plus, certains effets neuro-excitateurs des CTX peuvent être inhibés *in vitro* par cette molécule. Par conséquent, le brévénal constitue une piste prometteuse.

Mon projet de thèse, qui a démarré en octobre 2014, vise à évaluer le potentiel thérapeutique du brévénal. Dans un premier temps, j'ai commencé une caractérisation électrophysiologique des effets éventuels du brévénal (10 µM) sur les propriétés biophysiques du canal Na^+. Par les mêmes approches, je testerai les effets de la co-application du brévénal et d'une CTX naturelle appelée P-CTX-3C. Les premiers résultats montrent que le brévénal se fixe de manière silencieuse au canal Na^+, c'est à dire qu'il n'induit aucune modification de ses propriétés biophysiques.

Mots-clés : ciguatoxines, canal Na^+, brévénal

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 28

Le préconditionnement ischémique à distance influence la dynamique mitochondriale

L. Cellier, S. Tamareille, H. Kalakech, S. Guillou, F. Prunier, D. Mirebeau-Prunier
CRT (Cardioprotection, remodelage et thrombose), UPRES EA3860

E-mail de l'orateur : laura.cellier@hotmail.fr

Le préconditionnement ischémique à distance (RIPC) est une stratégie cardioprotectrice prometteuse dans l'infarctus du myocarde (IDM) pour réduire les lésions d'ischémie-reperfusion (I/R). Et la mitochondrie est une des cibles pour diminuer ces lésions. Les mitochondries sont des organelles dynamiques régies par des processus de fusion médiée par les mitofusines (MFN1 et MFN2) et la protéine OPA1 ; et de fission, médiée par les protéines DRP1 et FIS1. La fission mitochondriale a été décrite augmentée après un IDM et son inhibition semble protéger le cœur. Le but de notre étude est de déterminer le rôle de cette dynamique mitochondriale dans la cardioprotection par le RIPC. Deux groupes de rats mâles sont exposés à une I/R *in vivo*: 40 min d'ischémie myocardique (MI) ou 4 cycles de 5 min d'ischémie, 5 min de reperfusion de la patte précédant une ischémie myocardique (MI+RIPC). Après 2h de reperfusion, la taille d'infarctus a été évaluée et les tissus myocardiques ont été collectés pour une analyse par Western Blot. *In vivo*, le RIPC diminue la taille d'infarctus de 26%, induit une augmentation significative de l'expression de la protéine OPA1 ainsi qu'une diminution significative de la protéine DRP1. Par ailleurs, la morphologie mitochondriale a été étudiée par microscopie électronique, et les cœurs soumis au RIPC présente une morphologie mitochondriale préservée. Ces résultats mettent en avant le rôle de la dynamique mitochondriale dans la cardioprotection par le RIPC et la protéine de fusion OPA1 apparait être une cible potentielle pour traiter les lésions de reperfusion après un IDM.

Mots-clés : préconditionnement ischémique à distance, dynamique mitochondriale, OPA1

Poster 29

Etude de l'effet cardioprotecteur du fondaparinux dans l'ischémie-reperfusion myocardique chez le rat

S. Guillou, S. Tamareille, O. Blanchet, D. Mirebeau-Prunier, F. Prunier, L. Macchi
CRT (Cardioprotection, remodelage et thrombose), UPRES EA3860

E-mail de l'orateur : guillou.sophie@hotmail.fr

Le fondaparinux (FDX) est un anticoagulant agissant par inhibition indirecte du facteur Xa. Cette molécule possède un effet cardioprotecteur précoce *in vivo* dans un modèle d'ischémie/reperfusion (IR) myocardique chez le rat. Notre objectif est d'étudier si la cardioprotection précoce du FDX est en lien avec un effet anti-inflammatoire et protecteur de l'endothélium à la phase aigue de la reperfusion. Un modèle d'IR myocardique chez des rats Wistar mâles a été utilisé. A l'issue de la reperfusion, nous avons étudié au niveau myocardique l'expression de l'ARNm de marqueurs endothéliaux (thrombomoduline, Récepteur endothélial à la protéine C (EPCR), facteur tissulaire) ainsi que l'expression protéique d'ICAM-1, du facteur tissulaire (FT) et des voies de signalisation cellulaire pro-inflammatoire (NFκB et JNK). L'infiltration leucocytaire a été évaluée par histochimie (coloration à l'hématoxyline-éosine). A 30 min de reperfusion, on observe une augmentation significative de l'expression de l'ARNm de la thrombomoduline et de l'EPCR chez les animaux ayant reçus du FDX, sans augmentation de l'expression de l'ARNm du facteur tissulaire. Aucune différence n'a été mise en évidence concernant l'expression des voies de signalisation pro-inflammatoire, d'ICAM-1 et du FT à 2h de reperfusion. Il n'y a pas d'effet du FDX sur l'infiltration leucocytaire à 2h de reperfusion. En conclusion, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet anti-inflammatoire du FDX pouvant expliquer son effet cardioprotecteur à 2h de reperfusion. Nos résultats suggèrent que le FDX possèderait un effet protecteur de l'endothélium à 30 minutes de reperfusion, par l'augmentation transitoire de l'expression de l'ARNm de la thrombomoduline et l'EPCR.

Mots-clés : ischémie-reperfusion, fondaparinux, endothélium

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Poster 30

Effets bénéfiques du régime cétogène dans le syndrome neurovasculaire mitochondrial MELAS

S. Frey, V. Dumas-Desquiret, G. Geffroy, N. Gueguen, C. Bris, P. Bonneau, A. Chevrollier, M. Barth, C. Verny, D. Henrion, D. Bonneau, P. Reynier et V. Procaccio
PREMMI, Mitolab UMR CNRS 6214 – INSERM 1083

E-mail de l'orateur : samuel.frey@etud.univ-angers.fr

La mitochondrie, organite central dans le fonctionnement des cellules eucaryotes participe majoritairement au métabolisme énergétique. La production énergétique est assurée par un ensemble de cinq complexes enchâssés dans la membrane interne mitochondriale appelé chaîne respiratoire.
Les mutations affectant les fonctions des complexes de la chaîne respiratoire sont à l'origine de maladies mitochondriales hétérogènes, avec une grande variabilité sur le plan clinique. Parmi ces pathologies, le syndrome MELAS associant myopathie, encéphalopathie, acidose lactique et pseudo-accidents vasculaires cérébraux, est une maladie mitochondriale qui ne possède pas de traitement curatif à l'heure actuelle. Cependant, un régime cétogène, qui associe un apport réduit en glucose et une augmentation des acides gras, a récemment été mis en place chez un patient au CHU d'Angers et semble une thérapeutique prometteuse aux vues des améliorations cliniques observées.

Afin de valider et de comprendre les effets de cette thérapeutique, nous avons étudié les effets du traitement cétogène sur un modèle cellulaire cybride neuronal porteur de la mutation 3243A>G de l'ADN mitochondrial responsable du syndrome MELAS. Ce traitement a en particulier démontré une amélioration significative de la fonction énergétique mitochondriale in vitro après 4 semaines.

Mots-clés : maladies mitochondriales, complexe I, régime cétogène

Poster 31

Implication de l'autophagie dans la physiopathologie de l'atrophie optique autosomique dominante

A. Paris, S. Kane, V. Desquiret-Dumas, N. Gueguen, G. Lenaers, P. Bonneau, V. Procaccio, D. Bonneau, P. Reynier, A. Chevrollier
PREMMI, Mitolab UMR CNRS 6214 – INSERM 1083

E-mail de l'orateur : aurelien.paris@univ-angers.fr

L'instauration d'un traitement antituberculeux nécessite un suivi ophtalmologique lié à une possible atteinte visuelle réversible. Une cécité définitive liée à la dégénérescence des cellules ganglionnaires de la rétine a été rapportée chez un patient traité. Cet évènement semble avoir déclenché l'atrophie optique autosomique dominante (ADOA), une maladie génétique à pénétrance incomplète, liée à la mutation p.I382M du gène *OPA1* dont ce patient était porteur. Un déficit d'OPA1, protéine mitochondriale, est décrit pour induire une modification de la dynamique des tubules mitochondriaux et l'altération de la maintenance de l'ADN mitochondrial.

Au niveau cellulaire, ce traitement antibiotique induit la formation de grandes vacuoles acides et l'altération du réseau mitochondrial couplée à une diminution du potentiel de membrane mitochondrial sans qu'un lien ait été établi entre ces deux évènements. Nous avons étudié l'hypothèse selon laquelle ce traitement induit la mise en place d'une réponse autophagique et évalué les conséquences mitochondriales.

Nos résultats montrent une réponse autophagique très proche de la voie d'activation induite par la chloroquine. Dans les cellules fibroblastiques humaines, la protéine LC3 qui passe de sa forme LC3-I à sa forme LC3-II. De plus la Bafilomycine A1, inhibiteur des pompes ATPase lysosomiales et des autophagolysosomes, conduit à la disparition des vacuoles induites et à l'accumulation de la forme active de LC3, indiquant une inhibition du flux autophagique. La formation de grandes vacuoles acides à proximité des mitochondries devenues isolées, augmente les évènements de colocalisation suggérant une augmentation de la mitophagie. Ces marqueurs autophagiques sont encore plus augmentés dans les fibroblastes p.I382M OPA1.

Ces résultats semblent indiquer que l'autophagie participe à la physiopathologie de cette maladie mitochondriale ADOA ce qui ouvre de nouvelles potentialités en terme de prévention et de thérapeutique

Mots-clés : mitochondrie, OPA1

Poster 32

Clueless about CLU: A novel protein involved in mitochondrial distribution

J. Wakim, S. Khiati, A. Chevrollier, D. Logan, G. Lenaers
PREMMI, Mitolab UMR CNRS 6214 – INSERM 1083

E-mail de l'orateur : jamal.wakim@univ-angers.fr

CLUH is a well conserved protein involved in mitochondrial distribution. CLUH is a cytosolic protein that was shown to have diffuse and granular patterns in the cytoplasm. CLU mutations or knock out led to clustering of mitochondria in all studied models so far (Dictyostelium discoideum, Saccharomyces cerevisiae, Drosophila melanogaster, Arabidopsis thaliana and homo sapiens) (Cox and Spradling, 2009; El Zawily et al., 2014; Fields et al., 2002; Gao et al., 2014; Sen et al., 2013; Zhu et al., 1997). On the other hand, its overexpression was shown to cause mitochondrial clustering in Arabidopsis (El Zawily et al., 2014). Using CellMiner, we confirmed that CLUH is tightly linked to genes involved in mitochondrial biogenesis and metabolism. Indeed, 13 subunits of the mitochondrial respiratory chain and 6 enzymes of the krebs cycle are positively and highly correlated with CLUH expression level.

Our preliminary results show that CLUH-GFP over expression leads to mitochondrial clustering around the nucleus in HCT116 and HeLa cells. It is well known that CLUH is a cytosolic protein. Therefore, we sought to show CLUH localization by imaging. No apparent co-localization was observed between mitochondria or any other organelle. Moreover, HCT116 cell fractionation followed by CLUH detection in the different fractions by western blot, shows that CLUH is localized in the cytosol but not in the nucleus nor in mitochondria. Because CLUH granules have been shown to decorate the outside of the mitochondria in other models (El Zawily et al., 2014; Gao et al., 2014) and because we suspected that CLUH might contain a mitochondrial targeting sequence, we designed a plasmid coding for a fusion protein between the first 140 aminoacids of CLUH and GFP, and we plan to transfect the cells with this plasmid and determine the localization of the resulting protein.

Mots-clés : CLUH, mitochondrial distribution, mitochondrial biogenesis

Poster 33

Le transfert néonatal de microbiote intestinal peut-il corriger les défauts de barrière intestinale observés à l'âge adulte chez les rats ayant subi un retard de croissance intra-utérin ?

J. Macher, G. Poupeau, C. Bonnet, A. David, A. Désir-Vigne, C. Michel, J.P. Segain.
UMR 1280 PHAN, INRA-Université de Nantes, IMAD, CRNH, Nantes

E-mail de l'orateur : Jean-Pierre.Segain@univ-nantes.fr

Les études antérieures suggèrent que le retard de croissance intra-utérin (RCIU) prédisposerait aux pathologies coliques. Cette prédisposition pourrait résulter d'un défaut de composition du microbiote intestinal. Nous avons évalué l'impact d'un transfert précoce de microbiote intestinal sur la fonction barrière intestinale chez des rats ayant subi ou non un RCIU.

Le RCIU était obtenu par restriction protéique des mères gestantes. Un transfert de microbiote, provenant du contenu caecal de rats contrôle ou RCIU, était réalisé par gavage oral aux 12^{e} et 16^{e} jours de vie, respectivement à des rats RCIU et contrôle. Les impacts de ces transferts sur le microbiote et sur la muqueuse colique étaient déterminés à J22 et J60, ainsi que sur la susceptibilité à une colite induite par du Dextran Sulfate Sodium (DSS) d'animaux à J60.

Les animaux RCIU transplantés avec du microbiote contrôle présentaient un rattrapage de croissance tout au long du suivi.

A J22, ces transferts augmentaient la densité caecale en *Faecalibacterium prausnitzii* mais diminuaient la concentration caecale en butyrate, et induisaient, dans la paroi colique, des modulations d'expression génique caractéristiques d'un état inflammatoire modéré.

A J60, ces transferts n'affectaient pas la variation de poids induite par le DSS ni le score macroscopique inflammatoire.

En conclusion, le transfert précoce de microbiotes Contrôles à des rats RCIU induit une inflammation colique transitoire mais semble dénué d'impacts sur la muqueuse colique adulte (en cours de confirmation par analyse bactériologique et transcriptomique). Toutefois, un tel transfert apparaît capable de moduler la croissance des animaux, ce qui mériterait investigation.

Mots-clés : barrière intestinale, microbiote intestinal, inflammation

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques
université angers

Notes

Notes

Partenaires :

SFR 4208
Interactions cellulaires & Applications thérapeutiques

CHU ANGERS
CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE

université angers

Sponsor :

Inserm
Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Contact :
pierre.da-silva@inserm.fr

Organisée par la SFR – ICAT 4208

Contact :
anim-scientifique-sfr@contact.univ-angers.fr