



6^{ème} Journée de la recherche biomédicale Angers – Tours

Vendredi 2 décembre 2022

Greniers St-Jean, Angers

PROGRAMME DE LA JOURNEE

09h00 – 09h30	Allocutions d’ouverture
09h30 – 10h45	Session orale 1
09h30	L. Roncali - Modalités d'applications et d'efficacité préclinique d'une radioimmunothérapie locorégionale alpha utilisant l'astate-211 et ciblant le syndécan-1 pour le traitement du glioblastome
09h45	O. Benouna - La sirtuine SIRT1 contrôle l'invasivité des cellules cancéreuses coliques à travers la régulation du phénotype mésenchymateux
10h00	M. Otekpo - Trophicité cérébrale focale mesurée par voxel-based morphometry selon la concentration de vitamine D chez les patients âgés en consultation mémoire
10h15	R.K. Khanna - Résultats fonctionnels à long terme et qualité de vie liée à la vision après vitrectomie pour membrane épirétinienne : une étude de cohorte prospective
10h30	S. Billy - Coopération entre les anticorps dirigés contre le FP4 dans la thrombopénie induite par l'héparine : un nouveau mécanisme physiopathologique ?
10h45 – 12h15	Café – Posters
12h15 – 13h45	Déjeuner
13h45 – 15h00	Session orale 2
13h45	J.P Lemoine - Colonisation de migrants mineurs non accompagnés par des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi lors de leur première consultation au chu d’Angers
14h00	A Pitiot - Mucosal administration of anti-bacterial antibody provides long-term protection against Pseudomonas aeruginosa respiratory infection
14h15	M. Fadel - Applications de données synthétiques en aveugle : cas de données de la cohorte CONSTANCES
14h30	A Bodin - TDP-43 is enriched at the centrosome in human cells
14h45	D. Lanznaster - “OMICS” profiling of plasma-derived exosomes from amyotrophic lateral sclerosis patients: the search for biomarkers and targeted therapy
15h00 – 15h50	Conférence invitée
	J. Mialet-Perez - From monoamine oxidases to novel mechanisms of senescence in the heart
15h50 – 16h00	Election des meilleures présentations orales
16h00 – 16h30	Remise des prix

COMMUNICATIONS ORALES

N°	Déposant	Titre de la communication poster	Page
O1	Roncali Loris	Modalités d'applications et efficacité pré-clinique d'une radio-immunothérapie locorégionale alpha utilisant l'astate-211 et ciblant le syndécan-1 pour le traitement du glioblastome	1
O2	Benouna Oumnia	La sirtuine SIRT1 contrôle l'invasivité des cellules cancéreuses coliques à travers la régulation du phénotype mésenchymateux	3
O3	Otekpou Marie	Trophicité cérébrale focale mesurée par voxel-based morphometry selon la concentration de vitamine D chez les patients âgés en consultation mémoire	5
O4	Khanna Raoul Kanav	Membrane épimaculaire, qualité de vie et vision binoculaire avant et après chirurgie vitréorétinienne	6
O5	Billy Sandra	Coopération entre les anticorps dirigés contre le FP4 dans la thrombopénie induite par l'héparine : un nouveau mécanisme physiopathologique ?	7
O6	Lemoine Jean-Philippe	Colonisation de migrants mineurs non accompagnés par des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi lors de leur première consultation au chu d'Angers	8
O7	Pitiot Aubin	Mucosal administration of anti-bacterial antibody provides long-term protection against Pseudomonas aeruginosa respiratory infection	9
O8	Fadel Marc	Applications de données synthétiques en aveugle : cas de données de la cohorte CONSTANCES	11
O9	Bodin Alexia	TDP-43 is enriched at the centrosome in human cells	12
O10	Lanznaster Débora	"OMICS" profiling of plasma-derived exosomes from amyotrophic lateral sclerosis patients: the search for biomarkers and targeted therapy	13

COMMUNICATIONS AFFICHEES

N°	Déposant	Titre de la communication poster	Page
P1	Briere Olivier	L'incapacité fonctionnelle initiale comme facteur pronostic vital à 1 an chez les patients gériatriques hospitalisés pour infection à SARS-CoV-2	15
P2	Khanna Raoul Kanav	Approches métabolomiques et lipidomiques dans les larmes humaines : une revue systématique	16
P3	Beaumont Elodie	IL-26 inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes	17
P4	Otekpo Marie	Corrélation entre l'auto-évaluation et l'hétéro-évaluation d'ICOPE step 1 en service de gériatrie aiguë	18
P5	Lepine Nadège	Dissémination d'un clone de Staphylococcus epidermidis résistant au linézolide au CHRU de Tours	19
P6	Bourgeois Alexis	CoCaD - Étude de l'association entre Calcium et vitamine D chez la personne âgée atteinte de la COVID-19 hospitalisée en court séjour gériatrique	20
P7	Guinoiseau Thibault	Genomic evolution of SARS-CoV-2 virus in immunocompromised patients at the University Hospital of Tours	21
P8	Yaakoub Hajar	The role of response regulator Skn7 in resistance to oxidative stress in the opportunistic filamentous fungus Scedosporium apiospermum	22
P9	Cezard Adeline	Host succinate inhibits influenza virus infection through succinylation and nuclear retention of the viral nucleoprotein	23
P10	Cezard Adeline	Identification of a host metabolite with both antiviral and anti-inflammatory properties that protects against influenza virus-driven morbidity and mortality	24
P11	Paolini Léa	Acetoacetate protects macrophages from lactic acidosis-induced mitochondrial dysfunction by metabolic reprogramming	25
P12	Pasdeloup Emeline	Exploration de l'emprise dans les violences conjugales faites aux femmes : de l'installation à la prise de conscience	26
P13	Bras Cachinho José	Evaluation de l'IR Biotyper® pour le typage bactérien	27
P14	Claudepierre Louhane	Production de la glycoprotéine du cytomégalovirus UL116, la première étape pour la production d'anticorps monoclonaux neutralisants	28
P15	Khanna Raoul Kanav	Réforme de la première année des études médicales et diversification des profils étudiants à la faculté de médecine de Tours : objectif atteint ?	29
P16	Doualle Cécile	Mise au point et caractérisation de modèles de cellules souches de glioblastome	31
P17	Gouju Julien	Adapt'obese: Un outil en ligne proposant des adaptations personnalisées de doses de médicaments aux adultes obèses	32
P18	Richard Alexis	Metabolomic Profiling of Angiotensin-II-Induced Abdominal Aortic Aneurysm in Ldlr-/- Mice Points to Alteration of Nitric Oxide, Lipid, and Energy Metabolisms	33
P19	Duret Thomas	Rôle des récepteurs P2X4 et P2X7 dans la libération d'exosomes cancéreux - Conséquence sur l'agressivité cancéreuse	34

P20	Alarcan Hugo	Rôle de l'altération de la barrière hématoencéphalique dans la progression de la sclérose latérale amyotrophique	35
P21	Jeroundi Najia	Neoglycogenesis by human macrophage	36
P22	Thibault Théophile	Impact des contrôles-qualité de l'ADN mitochondrial sur son instabilité au cours du vieillissement cardiaque	37
P23	Lefeuvre Caroline	Développement d'un modèle in vitro d'étude de la fibrose hépatique liée au virus de l'hépatite B	38
P24	Roux Marine	Practical diagnosis of cirrhosis by liver specialists in non-alcoholic fatty liver disease using currently available non-invasive fibrosis tests	39
P25	Turnaturi Carlotta	L'altération de la fusion mitochondriale dans la cellule endothéliale induit un stress oxydatif dans le rein âgé et une augmentation de l'inflammation dans l'artère mésentérique	40
P26	Richard Jérémie	Le régime cétogène renforce les effets anticancéreux via la voie PDL1 par une augmentation du métabolisme et de la biogénèse mitochondriale dans le carcinome rénal	41
P27	Bounaix Nolwenn	Repositionnement thérapeutique dans les maladies mitochondriales associées à un déficit du Complexe I : de Podospora anserina à l'homme	42
P28	Bonnet Samuel	Spectroscopie de diffusion par résonance magnétique : focus sur un nouvel outil d'IRM pour le suivi de thérapies in vivo	44
P29	Bedja--Iacona Léa	Analyse fonctionnelle de variants génétiques dans la Sclérose Latérale Amyotrophique par l'étude de marqueurs précoces de la neurodégénérescence	45
P30	Douez Emmanuel	Evaluation d'immunoconjugués innovants dans le cancer du sein HER2+	46
P31	Chen Jaspe	Encapsulation de l'amiodarone dans le traitement de la fibrillation atriale	47
P32	Mosnier Carole	Valeur et intérêt du dosage de PTX3 au cours des neutropénies fébriles chez les patients atteints d'hémopathie maligne recevant un traitement intensif	48
P33	Duval Guillaume	Développement d'une téléconsultation innovante et pluriprofessionnelle d'évaluation du risque de chute au domicile de la personne âgée, au CHU d'Angers	49
P34	Duval Guillaume	Relation entre hypotension orthostatique et praxies mélokinétiques chez les personnes âgées : étude de cohorte GAIT	50
P35	Duval Guillaume	Prévalence de la iatrogénie chez la personne âgée chuteuse : étude «Pharma'Chute». Axes de prévention de la chute et de ses complications à l'officine	51
P36	Duval Guillaume	Évaluation de l'utilisabilité des chaussures e-vone® (Parade Connect®) comme dispositif de détection des chutes chez les patients âgés hospitalisés dans le living lab hospitalier gériatrique du CHU d'Angers, étude EDORA	52
P37	Duval Guillaume	Le confinement lié au Covid-19 comme outil de dépistage des troubles cognitifs ?	53
P38	Pereira Macedo Jules	Estimation of a risk difference in a cluster randomized trial	54
P39	Clara Bourreau	Impact de l'hétérogénéité tumorale et de la transition endothélio-mésenchymateuse sur la réponse aux traitements dans le cancer du poumon non à petites cellules	55

P40	Chaumillon Manon	OREMO : Outil de revalidation de la Reconnaissance des EMOTions	56
P41	Delépine Chloé	Characterizing the role of IL-34 in type 2 diabetes: towards a novel therapeutic strategy	57
P42	Alojaimi Yara	Characterization of a therapeutic approach to target TDP-43 pathology using intrabodies in Amyotrophic Lateral Sclerosis	58
P43	Corre Maxime	Impact de l'acétoacétate sur les dysfonctions mitochondriales induites par le choc septique	59
P44	Vinhais Da Silva Ana Valéria	Remodelage ventriculaire pathologique et signalisation purinergique : rôle émergent du récepteur-canal P2X4	60
P45	Schwarz Marianne	Quelle nutrition au cours d'une chimiothérapie d'induction pour une LAM : entérale ou parentérale ? – Etude rétrospective bi centrique	61
P46	Schwarz Marianne	Prophylaxie pré-exposition contre le SARS-CoV-2 : étude d'une cohorte régionale de patients allogreffés	63
P47	Duval Guillaume	Hypotension Orthostatique et fonctions exécutives : Étude de la cohorte française MERE	65
P48	Monteiro Jérémy	Apport de la dérivation chimique pour l'exploration ciblée d'un métabolome	66
P49	Vourc'h Patrick	Développement d'une approche RNAe (enhancement) permettant d'augmenter la traduction de protéines d'intérêt dans la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA)	67
P50	Guglieri Mickaël	Caractéristiques et survie des patients avec insuffisance cardiaque terminale traités par assistance mécanique monoventriculaire gauche en bridge to transplantation ou en destination therapy à travers une cohorte nationale française rétrospective	68
P51	Lecaille Fabien	Binding of heparan sulfate to human cystatin C modulates inhibition of cathepsin L: Putative consequences in mucopolysaccharidosis	70
P52	Couchot Malory	Development of dual GIP/GLP-2 analogues for the treatment of bone fragility	71
P53	Vasseur Virginie	Nouveaux modèles cellulaires d'étude et de ciblage thérapeutique de la muqueuse respiratoire	72
P54	Ravenel Kevin	Adaptation de la technique CRISPR-Cas9 chez Scenedosporium	73
P55	Le Roux Gaël	Quels sont les facteurs de risque de morsure par les vipères en France ? Une analyse spatiale à l'échelle communale	74
P56	David Camille	The deadly dance of alveolar macrophages with influenza A virus	75
P57	Cezard Adeline	Development of succinate-based analogues and formulations against influenza virus infection	76
P58	Conduto Dias Maia Ana Raquel	Preventive nasal administration of flagellin protects against a multidrug resistant strain of P. aeruginosa, by restoring antimicrobial effect of gentamicin	77
P59	Dangoumau Audrey	Mise en place des cultures d'IPSC, un nouvel outil pour la modélisation des maladies neurologiques	79
P60	Abline Juliette	Impact of covid-19 on the influenza vaccine coverage in 2020-2021 in France	80

Modalités d'applications et efficacité pré-clinique d'une radio-immunothérapie locorégionale alpha utilisant l'astate-211 et ciblant le syndécan-1 pour le traitement du glioblastome

L Roncali (1,2), C Roy (1,3), S Marionneau-Lambot (2,4,5), R Eychenne (2,6), F Guérard (2), S Gouard (2,6), S Avril (1), , F Hindré (1,3), M Chérel (2,4,5,6,7), E Garcion (1,3,8,)

- (1) Université d'Angers, Inserm U1307, CNRS U6075, Nantes Université, CRCI²NA, Angers – France
- (2) Nantes Université, Inserm U1307, CNRS U6075, Université d'Angers, CRCI²NA, Nantes - France
- (3) PRIMEX (Plateforme de Radiobiologie et d'Imageries Expérimentales), SFR 4208, Université d'Angers, Angers – France
- (4) Département de Médecine, CHU Nantes, Nantes – France
- (5) CIMA (Centre d'Imagerie Multi-modalités et Applications), Inserm U1307, CNRS U6075, Nantes Université, CRCI²NA, Angers – France
- (6) Groupement d'Intérêt Public ARRONAX, Saint-Herblain - France
- (7) ICO (Institut de cancérologie de l'Ouest) – Centre René Gauducheau, Saint-Herblain - France
- (8) PACEM (Plateforme d'Analyse Cellulaire et Moléculaire), SFR 4208, Université d'Angers, Angers – France

Introduction : Le glioblastome (GB) est la tumeur cérébrale la plus agressive du système nerveux central. Le traitement standard post-chirurgie associe radiothérapie et chimiothérapie, mais limite la survie médiane des patients à 15 mois. Face à cette situation clinique, nos précédents travaux ont démontré le bénéfice de la radiothérapie locorégionale *via* des nanocapsules lipidiques chargées en rhénium-188 dans un modèle de rat porteur de GB. Notre objectif actuel est de développer une radiothérapie alpha locorégionale basée sur l'astate-211 (²¹¹At) couplée à l'anticorps monoclonal 9E7.4 dirigé contre syndécan-1, un marqueur du GB lié à la prolifération, la migration, l'invasion et à l'échappement immunitaire.

Méthode : Une greffe tumorale intra-striatale de cellules murines de GB GL261 a été réalisée par stéréotaxie chez la souris C57BL/6j. 11 jours après la greffe, les animaux ont reçu une injection de 9E7.4 radiomarké à l'iode-125 (¹²⁵I-9E7.4) ou à l'astate-211 (²¹¹At-9E7.4). Le premier a été utilisé pour évaluer la biodistribution et la diffusion cérébrale, à différents temps post-injection (1h, 2h, 7h, 21h, 72h). Le second a permis d'évaluer la survie après une injection unique de 100kBq (n=11), 200kBq (n=16) ou 500kBq (n=5), avec un suivi IRM hebdomadaire. Les animaux « longs survivants » ont ensuite reçu une nouvelle greffe tumorale controlatérale.

Résultats : La biodistribution révèle une rétention majoritaire de la radioactivité dans le cerveau après 21h (n=3), avec une diffusion locale de la radioactivité autour du site d'injection (n=3). L'étude de survie révèle une prolongation significative de la survie des animaux traités pour chaque groupe avec la génération d'animaux dits « longs survivants » dont la tumeur a été éradiquée (80% dans le groupe traité à 100kBq après 160 jours). De plus, on observe l'échec de la prise tumorale d'une nouvelle greffe, 144 jours après l'injection du traitement.

Conclusion : Le ciblage du syndécan-1 dans le cerveau permet une rétention prolongée de la radioactivité au site d'injection et optimise ainsi l'effet de la radiothérapie alpha, qui induit

l'éradication des tumeurs chez les animaux traités et la production d'une réponse immunitaire mémoire sur le long terme qu'il sera nécessaire de caractériser.

La sirtuine SIRT1 contrôle l'invasivité des cellules cancéreuses coliques à travers la régulation du phénotype mésenchymateux

O. Benouna¹, A.Zadoroznyj¹, R. Lemoine¹, A. Petereau², S.Guyétant², P. Besson¹, D. Moussata^{1,3}, M. Ouaiissi^{1,4}, O. Lopez-Charcas¹, S. Roger¹

(1) Université de Tours, EA4245 Transplantation, Immunologie et Inflammation, Tours, France

(2) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37032 Tours, France

(3) Service d'hépatogastroentérologie et de cancérologie digestive, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37032, Tours, France

(4) Service de chirurgie viscérale et oncologique, hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37032, Tours, France

Introduction : Le cancer colorectal est un cancer fréquent à taux de mortalité très élevé lié au développement de métastases. Les modifications épigénétiques, en partie contrôlées par les histones désacétylases, jouent un rôle important dans la régulation de ces mécanismes impliqués dans l'agressivité des cellules cancéreuses. Notre étude récente, réalisée sur 174 adénocarcinomes du colon a montré une augmentation de l'expression en ARNm de l'histone désacétylase SIRT1 dans les tissus d'adénocarcinome colique comparativement au tissu colique sain ($p=0.0001$), confirmée à l'échelle protéique par immunohistochimie. Cependant, la forte expression de SIRT1 dans les cancers coliques de stade I-III est associée à une meilleure survie sans métastase ($p=0.0083$) des patients.

Méthodes : Dans cette étude, réalisée sur des lignées cancéreuses coliques humaines HCT116 (tumeur primaire) et SW620 (lignée métastatique), nous avons évalué le rôle de SIRT1 dans l'invasivité (test d'invasion 2D sur inserts), la régulation de l'expression des marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse au niveau transcriptionnel (RT-qPCR) et protéique (IF, Western blot) ainsi que dans la régulation de l'expression et l'activité (patch clamp) du canal sodique dépendant du voltage, pro-invasif, $Na_v1.5$.

Résultats : Nous avons montré que SIRT1 est moins exprimée dans la lignée SW620 que dans la lignée HCT116. Par ailleurs, la sous-expression (siARN) ou l'inhibition pharmacologique (Ex527) de SIRT1 dans les cellules métastatiques SW620 entraîne une augmentation de l'expression protéique de la vimentine, de l'E-cadhérine, du canal sodique dépendant du voltage $Na_v1.5$, et une diminution d'expression de ZO-1. Ces effets sont associés à un allongement cellulaire et à une augmentation de l'invasivité cellulaire de l'ordre de 50%, suggérant une induction de la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). La surexpression plasmidique de SIRT1 dans ces cellules entraîne des effets opposés. De façon intéressante, la sous-expression (siARN) ou l'inhibition pharmacologique (Ex527) de SIRT1 dans les cellules cancéreuses HCT116, issues de tumeur primaire, induit une transition mésenchymo-épithéliale et réduit l'invasivité cellulaire. Le stade tumoral et le statut d'instabilité microsatellitaire différents des lignées cellulaires utilisées pourraient être à l'origine des effets différentiels de SIRT1 dans l'agressivité du cancer colorectal.

Mots clés : *SIRT1, cancer colorectal, transition épithélio-mésenchymateuse, invasion, canaux sodiques-dépendants du voltage*

Trophicité cérébrale focale mesurée par voxel-based morphometry selon la concentration de vitamine D chez les patients âgés en consultation mémoire

Auteurs : M. OTEKPO (1,2), P. ALI (2,3), S. CELLE (4), J. GAUTIER (1), C. ANNWEILER (1,2)

(1) Service de Gériatrie, CHU Angers

(2) Faculté de santé, Université Angers

(3) Laboratoire Angevin de Recherche en Ingénierie des Systèmes, Université d'Angers

(4) Service de Physiologie Clinique et de l'Exercice, CHU Saint Etienne

Introduction : Au-delà de son rôle central dans le métabolisme phospho-calcique, la vitamine D est également étudiée pour ses rôles multiples et notamment dans le système nerveux. A l'échelle de la morphologie cérébrale, une étude de Voxel Based Morphometry (VBM) retrouvait une association positive entre concentration de 25-hydroxyvitamine D - 25(OH)D et le volume de substance grise au niveau du sulcus calcarin gauche. Notre objectif était de déterminer, à travers une analyse longitudinale en VBM, s'il existait des modifications focales de la trophicité cérébrale au cours du temps en fonction de la concentration de 25(OH)D initiale chez les personnes âgées.

Méthode : Nous avons mené une étude observationnelle rétrospective chez les personnes âgées de 65 ans et plus, admises en consultation mémoire au CHU d'Angers entre novembre 2010 et novembre 2020. Les participants avaient un score de MMSE > 10, avaient bénéficié d'au moins deux IRM cérébrales à quatre ans d'intervalle, ainsi que d'un dosage de la 25(OH)D lors de chaque visite. Les analyses par VBM étaient conduites grâce aux logiciels SPM12 et CAT12.

Résultats : Quatre-vingt-sept patients ont été inclus, ils étaient âgés de $72,4 \pm 4,74$ ans, 36 (41,4%) étaient des femmes. Lors de la première visite, ils avaient une concentration de vitamine D de $59,93 \pm 25,60$ nmol/L. L'analyse VBM longitudinale retrouvait un effet du temps plus important sur les volumes de substance grise dans le groupe des patients insuffisants en vitamine D en comparaison aux patients normodosés. Les aires concernées étaient les pôles temporaux, les aires motrices supplémentaires, les gyri frontaux, le noyau caudé droit, l'aire entorhinale gauche et l'aire subcallose, qui sont impliquées dans des fonctions déjà décrites comme liées avec la vitamine D (mémoire, fonctions exécutives, contrôle moteur et marche).

Conclusion : L'insuffisance en vitamine D précède la survenue d'une atrophie cérébrale focale dans des aires cérébrales d'intérêt, dont les fonctions étaient déjà identifiées comme liées à la vitamine D.

Résultats fonctionnels à long terme et qualité de vie liée à la vision après vitrectomie pour membrane épirétinienne : une étude de cohorte prospective

Auteurs : Raoul K Khanna^{1,2}, Marta Dorvault¹, Jeremy Pasco³, Ann-Rose Cook¹, Tiphonie Pichard¹, Marie-Thérèse Marotte¹, Pierre-Jean Pisella¹, Sophie Arsene¹

Affiliations :

¹ Service d'ophtalmologie, Hôpital Universitaire Bretonneau, France

² INSERM UMR 1253, iBrain, Tours, Centre-Val de Loire, France

³ SIMEES, Hôpital Universitaire de Tours, France

Résumé

Introduction : Étudier l'impact à long terme de l'exérèse chirurgicale de membrane épimaculaire idiopathique unilatérale (uiERM) sur la fonction visuelle monoculaire et binoculaire et sur la qualité de vie liée à la vision (VR-QoL).

Méthode : Etude prospective monocentrique. Les données suivantes ont été recueillies avant et après la chirurgie : acuité visuelle corrigée (MAVC) monoculaire et binoculaire de loin, métamorphopsies horizontales et verticales, aniséiconie horizontale et verticale, vision stéréoscopique et questionnaire de qualité de vie (NEI VFQ-25).

Résultats : Quarante-deux patients (âge moyen : $72,7 \pm 7,4$ ans ; 24 hommes) ont été inclus. À 6 mois postopératoire, la MAVC monoculaire de loin ($p < 0,001$), les métamorphopsies horizontales ($p = 0,001$) et le score composite du NEI VFQ-25 ($p < 0,001$) se sont significativement améliorés comparativement au préopératoire. A 2 ans postopératoire, la MAVC monoculaire ($p < 0,001$) et binoculaire ($p = 0,01$), les métamorphopsies horizontales ($p < 0,001$) et verticales ($p = 0,02$), l'aniséiconie verticale ($p = 0,01$), la vision stéréoscopique ($p < 0,001$) et les scores de 3 sous-catégories du NEI VFQ-25 ($p < 0,05$) (« vision générale », « santé mentale », « conduite ») se sont significativement améliorés comparativement au préopératoire.

Conclusion : L'exérèse chirurgicale d'une membrane épimaculaire idiopathique unilatérale améliore la qualité de vie liée à la vision et permet d'améliorer à long terme les paramètres visuels monoculaires et binoculaires. Les symptômes visuels induits par la contraction maculaire ont des cinétiques d'amélioration différentes après la chirurgie. La vision stéréoscopique, le plus haut niveau de vision binoculaire, peut être améliorée dans certains cas.

DOI: 10.1038/s41598-022-06482-3

Coopération entre les anticorps dirigés contre le FP4 dans la thrombopénie induite par l'héparine : un nouveau mécanisme physiopathologique ?

S. Billy (1), C. Vayne (1,2), N. Charuel (1), L. Coënon (1), M. Atsouawe (1) C. Pouplard (1,2), Y. Gruel (1,2), J. Rollin (1,2).

(1) Université de Tours, EA4245 T2I, Tours, France.

(2) Centre Hospitalier Régional de Tours, Service d'Hématologie-Hémostase, Tours, France.

Introduction : La thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est une complication rare mais grave des traitements hépariniques, fréquemment associée à des thromboses. Les anticorps d'isotype IgG dirigés contre le facteur plaquettaire 4 modifié par l'héparine (anti-FP4/H) jouent un rôle central dans la TIH, en activant les plaquettes et les leucocytes via le récepteur FcγRIIA. En parallèle, certains patients développent aussi de faibles concentrations d'IgG dirigés contre le FP4 natif (anti-FP4) mais le rôle de ces anticorps dans la physiopathologie des TIH reste peu connu. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a été d'évaluer l'impact de la présence conjointe des 2 types d'anticorps, anti-FP4 et anti-FP4/H, sur l'activation cellulaire et la formation de thromboses.

Méthode : Pour cette étude, deux anticorps monoclonaux chimériques, un anti-FP4/H (5B9) et un anti-FP4 (1E12), mimant ceux développés chez les patients atteints de TIH ont été utilisés. L'activation et l'agrégation des plaquettes induites par ces anticorps utilisés seuls ou co-incubés ont été étudiées. De plus, la formation de thromboses *in vitro* a été évaluée en condition de flux.

Résultats : Alors que 5B9 (20 µg/mL) induit une activation des plaquettes isolées de sujets sains uniquement en présence de faibles concentrations d'héparine, sa co-incubation avec une concentration très faible de 1E12 (0,5 µg/mL) provoque aussi une activation plaquettaire significative, même en l'absence d'héparine. Cet effet de coopération des deux anticorps sur l'activation des plaquettes a été confirmé en sang total, et nous avons montré que cette activation était FcγRIIA-dépendante puisque totalement inhibée par un anticorps (IV.3) qui bloque ce récepteur. Dans un modèle de thrombose en conditions de flux, lorsque du sang total de sujet sain est incubé avec 5B9 (100 µg/mL) et une faible concentration de 1E12 (2 µg/mL), nous observons de nombreux agrégats leuco-plaquettaires riches en fibrine, similaires à ceux obtenus lorsque 5B9 est incubé en présence d'héparine (1 IU/mL). En revanche, aucune thrombose n'est observée lorsque 5B9 est incubé seul sans héparine, ou si des fragments Fab'2 de 1E12 et 5B9 sont utilisés.

Conclusion : Pour la première fois, nous avons démontré l'existence d'une coopération fonctionnelle entre les différents anticorps de TIH. Bien que les mécanismes moléculaires qui expliquent cette synergie soient encore inconnus, nos résultats soulignent le rôle majeur des fragments Fc des anticorps. Ces résultats suggèrent que les IgG anti-FP4 peuvent contribuer au risque de thrombose des patients atteints de TIH, même après arrêt de l'héparine.

COLONISATION DE MIGRANTS MINEURS NON ACCOMPAGNES PAR DES ENTEROBACTERIES PRODUCTRICES DE β -LACTAMASES A SPECTRE ELARGI LORS DE LEUR PREMIERE CONSULTATION AU CHU D'ANGERS

Auteurs : J-P. Lemoine 1, M. Eveillard 1,2

(1) Département de biologie des agents infectieux, CHU Angers

(2) Université Angers, Nantes Université, CHU Angers, Inserm, CNRS, INCIT, F-49000 Angers, France

Introduction :

Il a été montré que la prévalence du portage d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) était forte parmi les réfugiés et demandeurs d'asile arrivant en Europe. Notre objectif était d'étudier la colonisation des migrants mineurs non accompagnés (MNA) par des EBLSE et des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques et émergentes (BHRe) lors de leur arrivée à Angers et d'identifier de possibles clusters parmi ces bactéries.

Méthode :

Une étude observationnelle a été conduite pendant 18 mois et a concerné tous les MNA arrivant à Angers. Des échantillons de selles ont étéensemencés sur des milieux de culture gélosés sélectifs directement et après enrichissement par des bouillons supplémentés en antibiotiques. Les mécanismes de résistance ont été identifiés par différentes méthodes : disques combinés, immuno-chromatographie et PCR. Les isolats ont été comparés par électrophorèse en champ pulsé. Des données cliniques et administratives concernant les MNA ont été recueillies.

Résultats :

Au total, 139 MNA ont été inclus dans l'étude. La plupart d'entre eux (74,1%) provenaient d'Afrique. Les principaux points d'arrivée en Europe étaient les Balkans (20,1%), l'Italie (28,1%) et la Péninsule Ibérique (38,1%). La prévalence des EBLSE était de 25,7% (IC95% : 18,4% - 33,0%). Aucune BHRe n'a été isolée. L'analyse des isolats d'*E. coli* par électrophorèse en champ pulsé a permis d'identifier 4 clusters. Dans ces clusters, la prise en compte de données concernant le trajet de chaque MNA a permis de suggérer l'hypothèse d'une transmission d'EBLSE après leur arrivée à Angers.

Conclusion :

La possibilité d'une contamination des MNA dans les premières semaines suivant leur arrivée pourrait conduire à revoir les conditions d'hébergement qui leur sont proposées en début de séjour.

Mucosal administration of anti-bacterial antibody provides long-term protection against *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection

Aubin Pitiot^{1,2}, Marion Ferreira^{1,2}, Christelle Parent^{1,2}, Chloé Boisseau^{1,2}, Mélanie Cortes^{1,2}, Laura Bouvart^{1,2,3}, Christophe Paget^{1,2}, Nathalie Heuzé-Vourc'h^{1,2,\$} and Thomas Sécher^{1,2,\$,*}

1. INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, U1100, F-37032 Tours, France

2. Université de Tours, F-37032 Tours, France

3. CHRU de Tours, Service de Pédiatrie, F-37032 Tours, France

\$ equally contributed to project supervision

* Thomas.secher@inserm.fr

Respiratory tract infections (RTI) are the 4th cause of death worldwide. The increase in antimicrobial chemoresistance and the emergence of novel virus have complicated the management of RTI, requiring the development of alternative treatments. Therapeutic antibodies, targeting specific pathogen antigens, have already demonstrated remarkable preclinical and clinical achievements against both viral and bacterial respiratory infections. Recent studies also suggest a novel immunomodulatory role for systemically-administered antibodies, with the development of a long-term immune protection.

The aim of the project was to make a proof-of-concept of the development of a long-term immune protection, associated with an inhaled antibody against a bacterial infection, and to decipher the different mechanisms involved in this effect.

Using a mouse model of acute pneumonia induced by *Pseudomonas aeruginosa*, a versatile bacterium frequently associated with nosocomial infection and multidrug resistance, we demonstrated immunomodulatory properties associated with an inhaled anti-bacterial Ab. A single pulmonary administration of Ab efficiently contained the primary infection associated with the control of the bacterial load, while being also able to trigger adaptive immunity providing a protecting long-term response against a secondary infection.

This long-term protection was shown to be dependent on the dose of the Ab, as well as the size of the inoculum and the presence of the cognate antigen. Our data also revealed that long-term protection against *P. aeruginosa* was attributable to a rapid, robust, and sustained humoral immunity, in particular with the production of specific anti-*P.aeruginosa* IgG3 as shown in serum transfer experiments. Interestingly, this long-lasting response protected against secondary infections due to heterologous *P. aeruginosa* strains. Further studies of the cellular response and molecular partners will be required to provide a complete picture of the immune mechanisms involved in this long-term protection.

Overall, our findings suggested that mucosal delivery of Ab through the airways afforded a rapid pathogen containment, while promoting long-term protection against secondary infections. This novel modality associated with anti-infective antibody opens new perspectives for the treatment of respiratory infections.

Key words: Therapeutic-antibodies - *P. aeruginosa* - Long-term protection – Mucosal immunity

Application de données synthétiques en aveugle : cas de données de la cohorte CONSTANCES

Auteurs : M. FADEL (1), J. PETOT (2), PA. GOURRAUD (3,4), A. DESCATHA (1)

- (1) UNIV Angers, CHU Angers, Univ Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMR_S1085, F-49000 Angers, France
- (2) Octopize, Nantes, France
- (3) Nantes Université, INSERM, CR2TI - Center for Research in Transplantation and Translational Immunology, F-44000 Nantes, France
- (4) Nantes Université, CHU Nantes, Pôle Hospitalo-Universitaire 11 : Santé Publique, Clinique des données, INSERM, CIC 1413, F-44000 Nantes, France

Introduction : Les bases de données massives sont de plus en plus nombreuses. Cependant, la question de la sécurité des données et des risques de réidentification de données pseudonymisées limite légitimement la libre circulation et le partage des données. Les données synthétiques sont un outil puissant pour régler la question de la confidentialité à la racine, mais leur construction nécessite souvent des hypothèses de relation entre les variables d'intérêts. L'objectif de cette étude était de valider des données synthétiques au regard des associations statistiques d'une grande base de données synthétisées en aveugle.

Méthode : A partir de données extraites de la cohorte en population générale CONSTANCES, un seul jeu global de données synthétiques « avatar » a été créé de manière aveugle sur en utilisant le logiciel de données synthétiques par Octopize. Trois analyses d'intérêts ont été choisies pour comparer les associations retrouvées dans les jeux de données « brut » et « avatar » : risque d'accident vasculaire (AVC), selon le type et tout AVC compris, facteurs associés aux douleurs de genoux et types de handicap liés aux douleurs de genoux. Des modèles logistiques ont été calculé et une comparaison qualitative et quantitative des associations a été réalisée.

Résultats : Au total 162 434 observations dans chaque jeu ont été incluses. Sur les 19 variables utilisées, 3 avaient une répartition non statistiquement significative entre les données brutes et avatars, mais seule une catégorie de variable avait une différence d'OR cliniquement importante (≥ 2 ou ≤ 0.5). Sur l'ensemble 172 couples d'OR calculé dans les trois analyses principales, plus de 77% avait une différence OR brut et OR avatar ≤ 0.5 . Moins de 7% des couples d'OR avaient une discordance sur la significativité des associations ($\kappa = 0.82$) et parmi ces couples d'OR seul 1 avaient une différence d'OR supérieur à 0.5.

Conclusion : En ayant réalisé un jeu de donnée synthétique avatar d'une grande base de données en aveugle, les associations retrouvées sont fiables malgré l'utilisation de variables reconstruites. Non soumises aux contraintes du RGPD, les données synthétiques semblent être un atout majeur dans l'utilisation des données massives même sans hypothèse de travail et permettraient le partage de données malgré certaines limites.

TDP-43 is enriched at the centrosome in human cells.

A. Bodin (1), L. Greibill (2), A. Chevrollier (1), G. Lenaers (1), J. Cassereau (3), AM. Tassin (2), P. Codron (1,3,4)

- (1) Univ Angers, Inserm, CNRS, MITOVASC, SFR ICAT, Angers, France.
- (2) Institute for integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Paris-Saclay University, Gif sur Yvette, France.
- (3) ALS Resource and Competence Center, University Hospital Center of Angers, Angers, France.
- (4) Neurobiology and neuropathology laboratory, University Hospital Center of Angers, Angers, France.

Introduction : TDP-43 is a ubiquitous protein belonging to the RNA Binding Protein (RBP) family. The protein is mainly localized in the nucleus of the cells where it modulates mRNA metabolism through its N-terminal RNA recognition motifs. TDP-43 plays a key role in the pathophysiology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) [1,2], but the precise mechanisms by which the protein contributes to neurodegeneration remain unclear. In recent years, interest has been growing in the presence of RBPs at the centrosome of cells since nucleic acids and ribosomes have been identified within this organelle [3]. Given the structural and functional characteristics of TDP-43, we hypothesized that the centrosome might be a prime location for the protein in cells. **Method :** We thus investigated the presence of TDP-43 at the centrosome of cultured cells using specific and resolutive techniques such as centrosome purification and super resolution imaging. **Results :** Immunofluorescence microscopy first allowed us to observe a centrosomal enrichment of TDP-43 in cultured cells, using different primary antibodies and cell lines. This result was further confirmed by Western blot and fluorescence imaging analysis performed on purified centrosomes. Super-resolution microscopy allowed us to specify that TDP-43 was localized at the pericentriolar matrix of the centrosome. The protein was still associated to the centrosome in pathological conditions (cultured skin fibroblasts derived from ALS patients, TDP-43 pathology induced by MG-132 treatment). Finally, we identified more than 20 centrosomal proteins in the literature that have been reported to be TDP-43 interactors and ALS-related proteins, strengthening the link between TDP-43 and the centrosome. **Conclusion :** In this study we identified a novel localization of TDP-43 in human cells, opening new perspectives in the understanding of physiological and pathological functions of the protein.

References :

1. Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ikeda K, Nonaka T, Mori H et al TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 351:602–611
2. Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT et al Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2006; 314: 130–133
3. Zein-Sabatto H, Lerit DA. The Identification and Functional Analysis of mRNA Localizing to Centrosomes. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9:782802.

“OMICS” profiling of plasma-derived exosomes from amyotrophic lateral sclerosis patients: the search for biomarkers and targeted therapy

Auteurs : D. Lanznaster (1), A. Dangoumau (1), C. Bruno (1), P. Vourc'h (1), P. Corcia (1), C.R. Andres (1), S. Duguez (2), W. Duddy (2), H. Blasco H(1)

(1) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, INSERM, Tours, France

(2) University's Northern Ireland Centre for Stratified Medicine, Londonderry, Northern Ireland

Introduction: Two urgent and unmet needs in ALS are the identification of reliable diagnosis biomarkers and the development of efficient therapy. Interestingly, brain-derived extracellular vesicles (EVs) can be found in plasma and used as a direct read-out of the status of the central nervous system. Studies suggest that EVs have a role in disease progression, since they carry pathological proteins as cargoes. Here, we aimed to identify EVs cargoes from ALS patients to identify putative biomarkers.

Méthode: Plasma EVs were obtained from subjects included in the protocol METABOMU (NCT02670226). For proteomics analysis, EVs (10 controls and 10 ALS patients) were purified through Size Exclusion Chromatography and characterized by Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). Proteomics (LC-MS/MS followed by TimsTOF Pro Mass Spectrometer) and bioinformatics analysis were carried out. Results were validated in a second cohort of ALS patients and controls (n=7 and 10, respectively), and exosomes were extracted using a commercial kit (Total Exosome Isolation kit, ThermoFisher) followed by western blot analyses.

Résultats: NTA revealed no differences regarding average size of EVs (Controls: 141.4 ± 9.75 nm; ALS: 16.5 ± 13.2 nm; mean \pm SD) nor concentration of particles (Controls: 4.61×10^{10} particles/mL; ALS: 4.25×10^{10} particles/mL). Interestingly, ALS- and controls-derived EVs presented different Zeta potential (Controls: -22.53 ± 4.3 mV; ALS: -8.01 ± 7.9 mV; mean \pm SD; $p=0.001$ Unpaired t test). Proteomics analysis revealed 203 proteins significantly different between groups ($p_{adj} < 0.05$). Further analysis with PLGEM algorithm revealed 45 different proteins ($p < 0.05$), 35 being increased in ALS patients in comparison to controls' EVs while other 10 proteins presented higher levels in Controls-EVs. Validation of proteomics studies by WB revealed, so far, decreased levels of synaptotagmin-like protein 4 in ALS-exosomes ($p=0.0127$, Unpaired t test). Other proteins are under analysis.

Conclusion: Metabolomics and lipidomics analysis will be performed to identify the different composition between Controls- and ALS-derived plasma EVs and confirm the potential of EVs as diagnosis biomarkers. Identification of such differences represent an opportunity for development of targeted therapy based on biomedicaments against EVs carrying pathological proteins. Such targeted therapy has the potential of halting disease progression.

Acknowledgements: This study was supported by funds obtained for H. Blasco from the Foundation Patrick Brou de Lauriere and the French Association of ALS (ARSLA).

L'incapacité fonctionnelle initiale comme facteur pronostic vital à 1 an chez les patients gériatriques hospitalisés pour infection à SARS-CoV-2

Auteurs : O.Brière^a, M. Oteko^a, M. Asfar^a, J. Gautier^a, G. Sacco^{c,d}, C. Annweiler^{a,b,e,f}

^a: Département de médecine gériatrique et centre de la mémoire, Centre de recherche sur l'autonomie et la longévité, CHU d'Angers ^b: UNIV ANGERS, UPRES EA 4638, Université d'Angers ^c: Université Côte d'Azur, Nice, France; ^d: Département de médecine gériatrique au CHU de Nice ^e: Gérontopôle Autonomie Longévité des Pays de la Loire, France; ^f: Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, ON, Canada

Introduction: L'objectif de cette étude observationnelle longitudinale est de déterminer si l'incapacité fonctionnelle initiale est associée à une augmentation de la mortalité à 1 an chez les patients hospitalisés pour COVID-19.

Method: Tous les patients admis pour une infection à SARS-CoV-2 dans le service de gériatrie aigue du centre hospitalier universitaire d'Angers entre mars et juin 2020 ont bénéficié d'une évaluation de leur groupe-iso-ressource (GIR) à l'admission. L'incapacité fonctionnelle est définie par un score $GIR \leq 3$. La mortalité toute cause confondue a été recueillie à 1 an de l'hospitalisation. Les potentielles covariables sont l'âge, le sexe, la présence de cancer actif ou en rémission, l'hypertension, les cardiomyopathies, le nombre de pathologies aiguës à l'admission, l'utilisation d'antibiotique et de traitements respiratoires pendant l'hospitalisation.

Résultats : Au total, 97 patients (moyenne 88.0+5.4 années; 49.5% femmes, 46.4% $GIR \leq 3$) ont été inclus. 21 des 36 patients qui n'ont pas survécu à 1 an présentait un $GIR \leq 3$ (66.7%; $P=0,003$). $GIR \leq 3$ est directement associé à la mortalité à 1 an (modèle ajustée $HR=1.2.27$ 95% CI: 1.07-4.89).

Conclusion : L'incapacité fonctionnelle initiale est associée à une mortalité plus élevée à 1 an d'une infection à SARS-CoV-2 chez les patients gériatriques hospitalisés.

Mots clés : COVID-19 ; SARS-CoV-2 ; pronostic; incapacité fonctionnelle; GIR; seniors; mortalité; gériatrique

Approches métabolomiques et lipidomiques dans les larmes humaines : une revue systématique

Auteurs : [Raoul K Khanna](#)^{1,2}, Sophie Catanese^{1,2}, Patrick Emond^{2,3}, Philippe Corcia^{2,4}, Hélène Blasco^{2,5}, Pierre-Jean Pisella¹, MD, PhD

Affiliations :

¹ Service d'ophtalmologie, Hôpital Universitaire Bretonneau, France

² INSERM UMR 1253, iBrain, Tours, Centre-Val de Loire, France

³ Service de médecine nucléaire in vitro, Hôpital Universitaire de Tours, France

⁴ Centre de compétence sur la sclérose latérale amyotrophique, service de neurologie, Hôpital Universitaire de Tours, France

⁵ Service de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital Universitaire de Tours, France

Résumé

Le film lacrymal humain se situe à l'interface entre la surface oculaire et le milieu extérieur. Bien que le faible volume de larmes représente une limite à son analyse, les améliorations des méthodes préanalytiques et analytiques ont permis à l'approche omique de représenter une stratégie innovante de recherche de biomarqueurs dans les larmes humaines. Il existe néanmoins un manque important de standardisation, obstacle important à la réalisation de comparaisons entre les études et au transfert de résultats expérimentaux du laboratoire vers une application clinique. Nous résumons les procédures préanalytiques et analytiques, décrivons les biomarqueurs qui peuvent être trouvés à l'aide de l'approche métabo-lipidomique et fournissons notre avis d'expert pour les investigations en métabo-lipidomique dans les larmes humaines. Dans cette revue systématique incluant 38 études, nous avons effectué une recherche dans PubMed en combinant des opérateurs booléens avec les mots-clés suivants : larmes, métabolomique, lipidomique, -omique. Le métabo-lipidome des larmes humaines a bien été caractérisé chez les sujets sains en utilisant la chromatographie liquide à haute résolution couplée à la spectrométrie de masse. Les profils d'expression des lipides et des métabolites sont influencés par des affections oculaires (par exemple, sécheresse oculaire ; dysfonctionnement des glandes de Meibomius ; port de lentilles de contact ; glaucome ; kératocône ; ptérygion) et systémiques (par exemple, sclérose en plaques). L'étude du métabo-lipidome lacrymal représente une approche innovante qui permettra d'améliorer notre compréhension de la pathogenèse des maladies oculaires et systémiques, mais également d'identifier des biomarqueurs diagnostiques et pronostiques.

DOI: 10.1016/j.survophthal.2022.01.010

IL-26 inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes

E. Beaumont (1,†), V. Larochette (2,†), L. Preisser (2), C. Miot (2,3), P. Pignon (2), S. Blanchard (2,3), B.-T. Hansen (4), J. Dauvé (5), C. Poli (2,3), M. M. Poranen (6), P. Lamourette (7), M. Plaisance (7), A. Morel (2,5), H. Fickenscher (4), P. Jeannin (2,3,‡), P. Roingeard (1,‡), Y. Delneste (2,3,‡)

(1) INSERM unit 1259 MAVIVH, University and CHRU of Tours, Tours, France

(2) Univ Angers, Université de Nantes, CHU Angers, INSERM, CNRS, CRCI2NA, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

(3) Laboratory of Immunology and Allergology, University Hospital of Angers, Angers, France

(4) Institute for Infection Medicine, Christian-Albrecht University of Kiel and University Medical Center Schleswig-Holstein, Kiel, Germany

(5) ICO Cancer Center, Angers, France

(6) Molecular and Integrative Biosciences Research Programme, Faculty of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki, Helsinki, Finland

(7) Service de Pharmacologie et d'immunoanalyse, Commissariat à l'Energie Atomique Saclay, iBiTec-S, Gif sur Yvette, France

(†) These authors contributed equally to this work.

(‡) These authors supervised equally this work.

Introduction: Interleukin-26 (IL-26) is a proinflammatory cytokine involved in the pathophysiology of chronic inflammatory disorders. It has properties atypical for a cytokine, such as direct antibacterial activity and DNA-binding capacity. In a previous study, we observed an accumulation of IL-26 in fibrotic and inflammatory lesions in the livers of patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection, and showed that infiltrating CD3⁺ lymphocytes were the principal source of IL-26 (Miot *et al.*, Gut 2015). Surprisingly, immunohistochemical staining for IL-26 was also detected in the cytoplasm of hepatocytes from HCV-infected patients, even though these cells do not produce IL-26, even when infected with HCV. Based on this observation and possible interactions between IL-26 and nucleic acids, we investigated the possibility that IL-26 controlled HCV infection independently of the immune system.

Methods: We evaluated the ability of IL-26 to interfere with HCV replication in hepatocytes, and investigated the mechanisms by which IL-26 exerts its antiviral activity.

Results: We showed that IL-26 penetrated HCV-infected hepatocytes, where it interacted directly with HCV double-stranded RNA replication intermediates, thereby inhibiting viral replication. IL-26 interfered with viral RNA-dependent RNA polymerase activity, preventing the *de novo* synthesis of viral genomic single-stranded RNA.

Conclusion: These findings reveal a new role for IL-26 in direct protection against HCV infection, independently of the immune system, and increase our understanding of the antiviral defense mechanisms controlling HCV infection. Future studies are required to evaluate the possible use of IL-26 for treating other chronic disorders caused by RNA viruses, for which few treatments are currently available, or emerging RNA viruses.

Corrélation entre l'auto-évaluation et l'hétéro-évaluation d'ICOPE step 1 en service de gériatrie aiguë

Auteurs : M. OTEKPO (1,2), J. GAUTIER (1), M. MOUSSET (2), J. TERRIER (2), M. ASFAR (1), C. ANNWEILER (1,2)

- (1) Service de Gériatrie, CHU Angers
- (2) Faculté de santé, Université Angers

Introduction : Depuis plusieurs années, l'intérêt pour le concept de fragilité est grandissant en gériatrie. Le programme ICOPE, porté par l'OMS depuis 2019, s'est développé afin de proposer une approche et une prise en soins standardisée de la fragilité à l'échelle mondiale, reposant sur des soins intégrés pour la personne âgée en plusieurs étapes. La première étape (step 1) qui est une échelle de dépistage est proposée en hétéro ou en auto-évaluation. Cette étude a pour but d'évaluer la corrélation entre les résultats de ces deux modalités d'évaluation.

Méthode : Nous avons mené une étude observationnelle transversale monocentrique au CHU d'Angers entre avril et juin 2021, lors de laquelle les patients étaient évalués sur ICOPE step 1 à la fois en hétéro-évaluation par un professionnel de santé et en auto-évaluation.

Résultats : Le score global et le score de chaque capacité intrinsèque était évalué, ainsi que les facteurs confondants potentiels : âge, sexe, ADL, IADL, MMSE et BBREF. 51 patients ont été inclus (âge moyen 86,8 ans). La totalité des patients étaient fragiles sur le score global, et la corrélation était parfaite. L'évaluation des capacités intrinsèques de façon indépendante retrouvait des corrélations faibles (cognition, psychologie) à modérées (vision, audition, nutrition, mobilité). Seule l'audition (Kappa de Cohen à 0,50 ; IC 95% [0,26-0,75] ; $p=0,035$) était significativement corrélé.

Conclusion : L'auto-évaluation par ICOPE step 1 en population âgée hospitalisée en gériatrie apparaît d'un bénéfice limité au regard de son temps de passation. Compléter cette étude en population âgée plus hétérogène serait très intéressant.

Dissémination d'un clone de *Staphylococcus epidermidis* résistant au linézolide au CHRU de Tours

Auteurs : N. Lépine¹, M.-F. Lartigue^{1,2}

¹Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHRU Tours, France

²Equipe "Bactéries et risque materno-foetal", UMR1282 Université-INRAE

Introduction :

Les staphylocoques à coagulase négative, y compris *Staphylococcus epidermidis*, sont des pathogènes opportunistes fréquemment impliqués en médecine humaine, notamment dans le cadre d'infections liées aux soins chez les patients immunodéprimés. En raison de la forte prévalence des souches méticillino-résistantes, les oxazolidinones font partie des traitements antibiotiques couramment utilisés, induisant l'émergence de souches de *S. epidermidis* résistantes au linézolide (SERL), observée en Europe depuis 2014.

Le but de l'étude était de caractériser phénotypiquement et génotypiquement 18 isolats de SERL retrouvés dans des prélèvements à visée diagnostique au CHRU de Tours entre 2017 et 2021, en particulier dans les services de réanimation chirurgicale et de chirurgie orthopédique.

Méthodes :

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par méthode de diffusion en milieu gélosé et les CMI par microdilution ou Etest conformément aux recommandations du CA-SFM EUCAST 2020. Pour déterminer l'existence d'une clonalité, les 18 isolats ont été génotypés par trois méthodes différentes : électrophorèse en champ pulsé (PFGE), Multi-Locus Sequence Typing (MLST) et spectrophotométrie Infra-Rouge avec transformation de Fourier (IR-biotyper).

Résultats :

Tous les isolats présentaient une multi-résistance aux antibiotiques, incluant une résistance à la méticilline. Le PFGE montre que sur les 18 isolats, 17 appartiennent au même clone. Les résultats du typage par IR-biotyper sont concordants avec ceux du PFGE. Le clone appartient au ST-2. Ces résultats permettent de conclure à la dissémination d'un clone épidémique. Par ailleurs, 3 des 17 patients infectés par le clone épidémique avaient présenté antérieurement une infection à *S. epidermidis* méti-R qui avait été traitée par linézolide. Or ces trois souches n'appartiennent pas au ST-2.

Conclusion :

Ces résultats montrent la dissémination d'un clone épidémique de SERL au sein du CHU de Tours entre 2017 et 2021. D'autre part, les infections à SERL seraient dues à l'acquisition du clone épidémique et non à la sélection de mutants résistants sous pression antibiotique.

CoCaD

Étude de l'association entre Calcium et vitamine D chez la personne âgée atteinte de la COVID-19 hospitalisée en court séjour gériatrique

Auteurs : AB Alexis Bourgeois (1), JG Jennifer Gautier (1), GC Guillaume Sacco (2), CA Cédric Annweiler (1), MA Marine Asfar (1)

(1) CHU Angers

(2) CHU Nice

Introduction : La carence en 25 OH vitamine D (25[OH]D) est fréquente dans la population âgée. Lors d'une carence en 25(OH)D, on observe l'apparition compensatrice physiologique d'un hyperparathyroïdisme secondaire pour stabiliser la calcémie dans les normes. Le calcium corrigé (CaA) est estimé par la méthode de PAYNE et plusieurs études rapportent une mauvaise classification du statut calcique par le calcium corrigé comparativement au calcium ionisé. L'hypocalcémie est fréquente chez les patients COVID-19. Le mécanisme d'hyperparathyroïdisme secondaire est à l'origine de la forte prévalence d'hypocalcémie chez des patients COVID-19 âgés de 65 ans en moyenne. Aucune étude ne s'est intéressée à des patients âgés de plus de 75 ans malgré le taux de mortalité élevé dans cette population.

Méthodologie : Nous avons étudié une population de 181 patients âgés de 86,4 years (+/- 5,7) atteints de la COVID-19 pour étudier l'association entre les différents types de calcium : calcium ionisé (CaI), calcium corrigé (CaA), calcium total (CaT) et la carence en 25(OH)D définie par une concentration inférieure à 50 nmol/L.

Résultats : CoCaD mettait en évidence une association négative en régression linéaire entre carence en 25(OH)D et CaA; $\beta = -0.052$ [-0.093 ; -0.010] ($p = 0.015$) ainsi qu'avec le CaT ; $\beta = -0.05$ [-0.09 ; -0.01] ($p = 0.034$) dans le modèle multivarié. Nous ne retrouvons pas d'association entre carence en vitamine D et CaI. Dans les modèles multivariés, il n'existait pas d'association entre les différents types de calcium et la PTH.

Discussion et conclusion : A notre connaissance, c'est la première étude chez la personne âgée qui aboutit à ces résultats et qui analysent les différents types de calcium dans ce contexte. Nous avons montré que le mécanisme d'hyperparathyroïdisme secondaire ne s'active pas dans le contexte de la COVID-19 chez le patient âgé. De plus l'augmentation des acide gras saturés circulants en contexte de COVID-19 pourrait expliquer l'absence d'association entre la calcémie ionisée et la carence en 25(OH)D chez les patients âgés.

Genomic evolution of SARS-CoV-2 virus in immunocompromised patients at the University Hospital of Tours

Auteurs : N. DAL PRA¹, Q. ROIG¹, K. STEFIC^{1,2}, E. POIDRAS¹, L. GUIGNAUD¹, J. MAURIN¹, C. GAUDY-GRAFFIN^{1,2}, L. HANDALA^{1,2}, T. GUINOISEAU¹

(1) Plateforme Emergence, Service de Bactériologie, Virologie, Hygiène Hospitalière du CHRU de Tours, FRANCE

(2) Equipe INSERM U1259, MAVIVH (Morphogénèse et antigénicité du VIH et des virus des hépatites), Université de Tours, France

Introduction : Since December 2019, the novel coronavirus disease (COVID-19) has spread widely and was recognized as pandemic on March 2020. It is caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) a ribonucleic acid (RNA) virus. As several other RNA viruses, it has a high mutation rate leading to the emergence of several variants including the Omicron variant. The Omicron variant was first identified in an immunocompromised patient. Indeed, the immunocompromised state with a weak immune pressure and a prolonged infection may predispose for mutations accumulation and thus, lead to emergence of new virus variants. The purpose of our study is to follow-up the genomic evolution of SARS-CoV-2 in infected immunocompromised patients at the University Hospital of Tours.

Méthode : Several respiratory samples from 8 immunocompromised patients were retrospectively studied and their clinical and biological data were collected. Each patient had at least 3 sequential SARS-CoV-2 positive respiratory samples sequenced by NGS using Illumina MiSeq or Nanopore MinION technologies leading to 30 different sequences.

Résultats : Among the 8 patients, 5 were infected with Omicron 21K/BA.1 variant and 3 with Omicron 21L/BA.2 variant. For the 8 strains studied, the amino acid substitution rate was calculated and varies from 10 to 55 substitutions per site per year, with an average rate of 33. Genomic sequencing revealed genetic variation specific to each variant but also to sublineages of these variant like the substitution S:R346K observed in 3 patients and characteristic of the Omicron 21K/BA.1.1 variant. Other substitutions were not specific to a variant and found for 2 patients (S:E340A) or were found in one patient and also described in the literature (S:N460K, S:R683Q). In the ORF1a/b genes, other variations were observed: ORF1a:L3201F and ORF1b:E1264D for 3 patients as well as ORF1a:T4311I, and ORF1b:T1453I for 2 patients.

Conclusion : Among all the mutations observed, the mutations located in the S gene have many functional consequences described in the literature, such as the ability to confer resistance to the monoclonal antibody sotrovimab or to neutralizing antibodies. However, the functional consequences of mutations on other genes are less described. Thus, it seems important to further investigate their functional consequences, particularly in the ORF1a and ORF1b genes.

Titre : The role of response regulator Skn7 in resistance to oxidative stress in the opportunistic filamentous fungus *Scedosporium apiospermum*

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

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

Email : Hajar-yaakoub@hotmail.com

Résumé : Surviving and militating host-induced oxidative burst has always received attention as one of the virulence factors featuring pathogens. Airways of cystic fibrosis (CF) patients are characterized by a persistent oxidative environment, which raises the question of how fungal agents that chronically colonize CF airways abate such oxidative conditions. The answer has been answered for other fungal species, though the case for the second most frequent fungal colonizer, *Scedosporium apiospermum*, is only partially understood. Transcriptomic studies depicted that thioredoxin reductase and peroxiredoxin are the main effectors of oxidative stress response in this fungus. Since during any cellular response to a given stress, cells must be able to sense, transduce, and activate the proper response, we wanted to identify regulators underlying the response to oxidative threats in *S. apiospermum*.

We aimed to generate and characterize the knockout mutant of *S. apiospermum* lacking *SKN7*, the gene encoding one of the main regulators of response to oxidative stress in fungi. The *skn7Δ* mutant was characterized through transcriptomic profiling, nephelometric monitoring, stress susceptibility spot test, antifungal susceptibility test, and transmission electron microscopy (TEM) examination. Accumulation of intracellular reactive oxygen species (ROS) and percentage of macrophage-killed conidia were assessed using flow cytometry-based techniques.

Findings support pertinent roles of *S. apiospermum* Skn7 in protection against different types of oxidative stress, mainly cumene hydroperoxide and diamide. The Skn7 protein is also protective against stress-induced ROS accumulation, as well as macrophages-mediated killing. This protection is probably conferred by the induction of genes encoding components of the thioredoxin, peroxiredoxin, and glutathione systems that showed dependency on Skn7. We also demonstrated a potential role of Skn7 in the synthesis of the hyphal cell wall, which presumably affected the susceptibility of the mutant to antifungals.

In conclusion, the response regulator Skn7 is essential for the protection of *S. apiospermum* against oxidative stress, whether generated by chemical or immune cells. Therefore, Skn7 could be a promising target for drug development.

The metabolite succinate inhibits influenza virus replication through succinylation and nuclear retention of the viral nucleoprotein

A.Guillon^{1,2,3*}, D.Br ea-Diakite^{1,2*}, **A.Cezard**^{1,2*}, A.Wacquiez^{1,2}, T.Baranek^{1,2}, J.Bourgeois^{2,4,5}, F.Picou^{2,4,5}, V.Vasseur^{1,2}, L.Meyer⁶, A.Auvet^{1,2,3}, J.M. Carballido⁷, L.Nadal Desbarats⁸, F.Dingli⁹, A.Turtoi^{10,11,12}, A.Le Gouellec¹³, F.Fauvelle^{14,15}, A.Donchet¹⁶, T.Cr epin¹⁶, P.S. Hiemstra¹⁷, C.Paget^{1,2}, D.Loew⁹, O.Herault^{2,4,5§}, N.Naffakh^{18§}, R.Le Goffic^{6§} and M.Si-Tahar^{1,2*}

¹INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), UMR 1100, Tours, France. ²Universit  de Tours, Tours, France. ³CHRU de Tours, Service de Médecine Intensive Réanimation, Tours, France. ⁴CNRS ERL 7001 LNOx " Leukemic niche and redox metabolism ", Tours, France. ⁵CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, Tours, France. ⁶Virologie et Immunologie Moléculaires, INRAe, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France. ⁷Novartis Institutes for BioMedical Research, Basel, Switzerland. ⁸UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France. ; ⁹Institut Curie, PSL Research University, Centre de Recherche, Laboratoire de Spectrométrie de Masse Prot omique, Paris, France. ¹⁰Tumor Microenvironment Laboratory, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, INSERM U1194, Montpellier, France. ¹¹Institut du Cancer de Montpellier, Montpellier, France. ¹²Universit  de Montpellier, 34000 Montpellier, France. ¹³University Grenoble Alpes, CNRS, CHU Grenoble Alpes, Grenoble INP, TIMC-IMAG, 38000 Grenoble, France. ¹⁴UGA/INSERM U1216, Grenoble Institute of Neurosciences, Grenoble, France. ; ¹⁵UGA/INSERM US17, Grenoble MRI Facility IRMaGe, Grenoble, France. ¹⁶Institut de Biologie Structurale (IBS), University Grenoble Alpes, CEA, CNRS, 38044, Grenoble, France. ¹⁷Department of Pulmonology, Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands. ¹⁸ Institut Pasteur, Unit  Biologie des ARN et Virus Influenza, CNRS UMR3569, Paris, France

*: contributed equally to this work. §: contributed equally to this work

Introduction: Influenza is an acute respiratory immunopathology resulting from the intrinsic pathogenicity of influenza A (IAV) and B (IBV) viruses, added to an inflammatory host response which in excess, is deleterious. Influenza is a major public health issue, causing 500 000 deaths per year and a considerable socioeconomic burden. Frequent vaccine escape and emerging antiviral resistance spur innovative research on host-directed therapy against influenza. We hypothesized that investigating the metabolic signaling during influenza infection may help to design innovative antiviral approaches.

Methods: Using *in vivo* models and in-depth metabolomics analysis, we found that IAV infection induces metabolic reprogramming in lung tissues and leads to the accumulation of specific metabolites. Among these metabolites, we focused on succinate, a mitochondria-derived metabolite. Using complementary approaches, such as immunological and qRT-PCR assays, reverse genetics, western-blotting, flow cytometry and confocal microscopy techniques, we evaluated anti-influenza properties of succinate.

Results : We found that succinate displays a potent antiviral activity *in vitro* as it inhibits the multiplication of influenza A/H1N1 and A/H3N2 strains and strongly decreases virus-triggered metabolic perturbations and inflammatory responses. Moreover, mice receiving succinate through the intranasal route showed reduced viral loads in lung tissues and had an increased survival rate compared to control animals. The antiviral mechanism involves a succinate-dependent post-translational modification, *i.e.* succinylation, of the viral nucleoprotein (NP). Succinylation of NP could alter its electrostatic interactions with viral RNA and could further impair the formation and trafficking of viral ribonucleoprotein complexes.

Conclusion : We reveal that succinate is an endogenous and key immunometabolite that efficiently disrupts the influenza replication cycle; this opens up new avenues for improved treatment of influenza pneumonia.

Identification of a host metabolite with both antiviral and anti-inflammatory properties that protects against influenza virus-driven morbidity and mortality

Adeline CEZARD¹, Déborah BREA-DIAKITE¹, Virginie VASSEUR¹, Loic GONZALES¹, Ronan LE GOFFIC², Bruno DA COSTA², Delphine FOUQUENET¹, Thomas BARANEK¹, Christophe PAGET¹, Antoine GUILLON^{1,3} and Mustapha SI-TAHAR¹

1. Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Inserm U1100, Université de Tours; 2. INRAE, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas; 3. Service de Réanimation Polyvalente, CHRU de Tours.

Introduction: Influenza is an acute respiratory immunopathology resulting from the intrinsic pathogenicity of influenza A (IAV) and B (IBV) viruses, added to an inflammatory host response which in excess, is deleterious. Influenza is a major public health issue, causing 500 000 deaths per year and a considerable socioeconomic burden. Frequent vaccine escape and emerging antiviral resistance spur innovative research on host-directed therapy against influenza. In that regard, some host metabolites have emerged as potent immuno-regulatory molecules.

Methods: We recently characterized mitochondria-derived succinate as a major antiviral metabolite. Here, we extended those findings by screening the effect of other host metabolites on influenza virus infection, using human bronchial epithelial cells. Among these metabolites, we focused on one mitochondria-derived metabolite (coined here "C2") and evaluated its anti-inflammatory and antiviral activity using complementary approaches, such as immunological and qRT-PCR assays, reverse genetics, western-blotting, flow cytometry and confocal microscopy techniques.

Results: We found that C2 has a major antiviral activity by preventing the expression of viral mRNA and protein, and the subsequent multiplication of both influenza A and B virus strains. Next, we observed that C2 alleviates the inflammatory cascades triggered by influenza virus and other inflammatory stimuli, including the inflammatory cytokine TNF α . We further showed in a mouse model of influenza pneumonia that C2 decreases the viral load, the leukocyte recruitment into the airspaces, the secretion of inflammatory mediators and the damage of lung tissues. As a result, mice treated at day 2 post-infection with C2 resist better than non-treated animals to a lethal dose of influenza virus (survival rate: 70% and 0%, respectively).

Conclusion: In conclusion, we reveal that C2 is a host metabolite with anti-viral and anti-inflammatory properties that protect against influenza pneumonia. Our results open new avenues for the development of a C2-based treatment of influenza virus infection.

Acetoacetate protects human macrophages from lactic acidosis-induced mitochondrial dysfunction by metabolic reprogramming

Léa Paolini^{1*}, Naïg Gueguen^{2,3,*} (...), Guillaume Mabilieu^{4,5}, Laurence Preisser¹, Simon Blanchard^{1,6}, Pascale Pignon¹, (...), Yves Delneste^{1,6}, Vincent Procaccio^{2,3}, Pascale Jeannin^{1,6}

(1) Univ Angers, Université de Nantes, INSERM, CNRS, CRCI2NA, Angers, France

(2) Univ Angers, INSERM, CNRS, MitoVasc, Angers, France

(3) Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France

(4) GEROM, Université d'Angers, Angers, France.

(5) Département de Pathologie Cellulaire et Tissulaire, CHU d'Angers, Angers, France.

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

*equivalent contributions

Introduction. Macrophages have a key role in antimicrobial defense and homeostasis. They can be exposed to hostile environments in injured tissues, including modification of their metabolic microenvironment, such as acidic pH and accumulation of lactic acid (LA).

We and other have shown that lactic acidosis, induced by an extracellular accumulation of lactate and protons and resulting from increased glycolysis triggered by insufficient oxygen supply to tissues, increases the production of inflammatory and protumor cytokines by human monocytes-derived macrophages (Paolini et al. 2020; Colegio et al, 2014). These data revealed that macrophages remain active under lactic acidosis in order to resolve the underlying injury. Nevertheless, the impact of LA on the metabolism of human macrophages remains unknown.

Method. We generated human macrophages from monocytes in the presence or absence of LA, with or without acetoacetate (AcAc), and assessed their mitochondrial metabolism.

Results. We show that human monocyte-derived macrophages generated in lactic acidosis are characterized by depolarized mitochondria, transient reduction of mitochondrial mass due to mitophagy, and a significant decrease in nutrient absorption. These metabolic changes, resembling pseudostarvation, result from the low extracellular pH rather than from the lactosis, and render these cells dependent on autophagy for survival. Meanwhile, acetoacetate (AcAc), a natural metabolite produced by the liver during fasting, is used by macrophages as an alternative fuel to mitigate lactic acidosis-induced pseudostarvation, as evidenced by retained mitochondrial integrity and function as well as nutrient uptake. At the same time, acetoacetate (AcAc), a natural metabolite produced by the liver during fasting, is used by macrophages as an alternative fuel to mitigate lactic acidosis-induced pseudostarvation, as evidenced by maintenance of mitochondrial integrity and function and nutrient uptake. Accordingly, macrophages exposed to lactic acidosis no longer rely on autophagy for survival when cultured in the presence of AcAc.

Conclusion. This study identifies AcAc as a unique metabolite allowing human macrophages to avoid the energetic and metabolic crisis induced by lactic acidosis. This work is of interest in pathologies associating acidosis and tissue damage, such as sepsis.

<https://www.nature.com/articles/s41467-021-27426-x> ; PMID: 34880237

Exploration de l'emprise dans les violences conjugales faites aux femmes : de l'installation à la prise de conscience

Auteurs : E. Padeloup(1), C. Chamant(2)

(1) Chef de Clinique Universitaire, Médecine Générale, Faculté de Médecine de Tours

(2) Maître de conférences associée, Médecine Générale, Faculté de Médecine de Tours

Introduction : La HAS recommande un repérage systématique des femmes victimes de violences conjugales lors des consultations de médecine générale. Cependant, ce repérage semble difficile lorsque ces femmes sont dans l'emprise inconsciente. Une des clefs d'amélioration de la prise en charge serait d'identifier les leviers permettant à ces femmes de prendre conscience et de se reconnaître comme victimes de violences. L'objectif de cette étude était d'explorer le processus de l'emprise dans les violences conjugales faites aux femmes, de son installation à la prise de conscience.

Méthode : Etude qualitative. Des entretiens individuels semi-directifs ont été menés auprès d'un échantillon raisonné de femmes victimes recrutées dans des cabinets de médecins généralistes, un centre de planification et d'éducation familiale, et un service d'unité médico-judiciaire. L'analyse appliquée était inspirée de la théorisation ancrée.

Résultats : Six femmes de 32 à 73 ans ont été interrogées. L'installation de l'emprise était favorisée par une vulnérabilité et une faible estime de soi. Il en résultait un climat de peur, de honte et de culpabilité, qui entretenait et renforçait l'emprise de l'agresseur sur sa victime. L'intensité des violences, le désir de protéger ses enfants, et les aides extérieures favorisaient la prise de conscience de sa situation et la volonté d'agir afin de sortir de l'emprise. Lorsqu'on exposait le mécanisme de l'emprise et son rôle dans les violences conjugales, les femmes se reconnaissaient dans les explications données, ce qui constituait un « effet miroir », révélateur pour elles de leur statut de victime.

Conclusion : « L'effet miroir » semblait avoir une influence sur la prise de conscience du statut de victime de violences des femmes. Il serait intéressant d'évaluer son appropriation et son utilisation par les médecins généralistes et son effet sur le repérage des femmes victimes de violences.

Evaluation de l'IR Biotyper® pour le typage bactérien

J. BRAS-CACHINHO¹, M. ABID¹, N. LEPINE¹, L. NOEL¹, MF. LARTIGUE^{1,2}

¹ Bactériologie, Hôpital Trousseau, CHRU de TOURS ; ²ISP, UMR1282, Université de Tours, INRAE

INTRODUCTION

Le typage bactérien est un outil indispensable pour identifier des clusters lors de l'investigation d'épidémies hospitalières. Une des méthodes de référence est le typage par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) mais cette technique est fastidieuse. Récemment, de nouvelles technologies, plus rapides, ont été développées, comme l'automate IR Biotyper® (Bruker Daltonics, Bremen, Allemagne) qui repose sur la spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Le but de ce travail est d'évaluer les performances de l'automate IR Biotyper® par rapport à l'électrophorèse en champ pulsé afin de déterminer sa place dans la stratégie du typage bactérien en routine.

MATERIELS ET METHODES

Au total, 106 souches préalablement typées en routine par la technique de référence PFGE, ont été analysées avec l'automate IR Biotyper®. Une suspension éthanol/eau a été préparée à partir de cultures de moins de 24h isolées sur gélose au sang. Chaque suspension a été déposée en triplicate sur une plaque IRTF puis l'absorption dans la zone infrarouge des polysaccharides a été mesurée (λ : 1,300–800 cm^{-1}). La comparaison des spectres d'absorption permet ainsi le typage des souches.

RESULTATS

Nous avons analysé 41 entérobactéries [*Klebsiella aerogenes* (n=13), *Klebsiella pneumoniae* (n=20), *Serratia marcescens* (n=8)], 50 staphylocoques [(*Staphylococcus aureus* (n=26), *Staphylococcus epidermidis* (n=24)], *Enterococcus faecium* (n=8) et *Pseudomonas aeruginosa* (n=7). Au total, nous avons obtenu 83 % de concordance entre le PFGE et l'IR Biotyper. Des discordances ont été observées principalement pour *S. aureus* (6/26) et *K. aerogenes* (7/13), mais aussi pour *S. epidermidis* (2/24), *K. pneumoniae* (2/20) et *P. aeruginosa* (1/7).

CONCLUSION

La méthode IR Biotyper® montre une bonne concordance avec le PFGE. Les faibles coûts d'exploitation et les délais d'exécution courts (3h) font de l'IR Biotyper® un outil prometteur pour le typage rapide des souches dans le cadre des investigations nosocomiales en routine au laboratoire. Cependant, d'autres techniques de confirmation peuvent parfois être nécessaires.

Production de la glycoprotéine du cytomegalovirus UL116, la première étape pour la production d'anticorps monoclonaux neutralisants.

L. Claudepierre (1), O. Lopez-Charcas (1), M. Ohresser (1), E. Morello (2), A. Vinhais Da Silva (1), V. Berland (3), R. Lemoine (4), S. Roger (1), N. Aubrey (5), P. Gatault (1,6).

- (1) T2i, EA4245, Université de Tours, Tours, France
- (2) ISP, UMR1282, Université de Tours, INRAE, Tours, France
- (3) Université de Tours, Tours, France
- (4) PST-ASB Département génomique, Université de Tours, Tours, France
- (5) ISP BioMAP, UMR1282, Université de Tours, INRAE, Tours, France
- (6) Département de Néphrologie et Transplantation, Université de Tours, Tours, France

Introduction : Le cytomegalovirus est un herpes virus ubiquitaire très prévalent. Il est responsable chez les patients immunodéprimés de maladies à CMV qui représentent toujours la première infection opportuniste. Alors qu'aucun vaccin n'est disponible et que les molécules antivirales sont partiellement efficaces avec des effets secondaires limitant leur utilisation prolongée. Le développement d'anticorps thérapeutiques contre les protéines virales, notamment des anticorps neutralisants dirigés contre les glycoprotéines d'enveloppe, est une piste thérapeutique innovante. Les protéines cibles d'intérêt sont gB, et les complexes d'entrée basée sur l'hétérodimère gH/gL, c'est à dire le trimère gH/gL/gO et le pentamère gH/gL/UL128/UL130/131. Le complexe alternatif gH/UL116 identifié plus récemment à la surface des virions apparait comme une nouvelle cible d'intérêt pour les anticorps monoclonaux anti-CMV.

Méthode : La vecteur de clonage et d'expression pcDNA3.1 V5 His a été modifié afin d'y intégrer le gène UL116 (souche AD169, fournie par le Pr Alain du CNR Herpes virus à Limoges) couplée à un tag polyhistidine ainsi que la région extra-membranaire de la protéine gH couplée à une double tag streptavidine. Les plasmides modifiés ont été co-transfectés transitoirement dans les cellules HEK 293F pour une sécrétion dans le surnageant du complexe gH/UL116. Le surnageant cellulaire a été purifié sur une colonne d'affinité histidine puis concentré par Amicon. Le surnageant et le lysat cellulaire ont été analysés par Western Blot et quantifiés au spectrophotomètre.

Résultats : La co-transfection UL116-gH permet une production et une sécrétion du complexe dans le surnageant, alors que la transfection isolée d'UL116 s'accompagne d'une production d'UL116 qui reste localisée dans les cellules transfectées. Le rendement de production reste cependant faible et justifie des expériences d'optimisation. Cependant, les quantités produites sont d'ores et déjà suffisantes pour envisager le marquage des LB mémoires anti-UL116.

Conclusion : Nous avons établi un système de production de la protéine virale UL 116 qui est une nouvelle cible thérapeutique d'intérêt.

Réforme de la première année des études médicales et diversification des profils étudiants à la faculté de médecine de Tours : objectif atteint ?

Auteurs : RK Khanna (1), E Blanchard (2), J Pasco (3), P Diot (2), D Angoulvant (2)

(1) Service d'Ophtalmologie, Hôpital Universitaire Bretonneau ; UMR INSERM 1253, iBrain, Tours, France Affiliation 2

(2) Faculté de médecine de Tours, France

(3) Unité de Recherche Clinique & Innovation, Centre Hospitalier Public du Cotentin, Cherbourg, France

Introduction : Déterminer si la réforme de la première année des études de santé mise en place en septembre 2020 a répondu à son objectif de diversification des profils étudiants admis en deuxième année des études médicales à la faculté de médecine de Tours.

Méthode : Etude monocentrique, rétrospective, incluant les étudiants ayant pu accéder à la deuxième année du premier cycle des études médicales de quatre années universitaires de septembre 2018 à septembre 2021 à l'issue d'une première année d'étude de santé (Première Année Commune des Etudes de Santé (PACES), Parcours Accès Santé Spécifique (PASS), Licence avec option Accès Santé (L.AS)) à l'université de Tours.

Résultats : Au total, 1146 étudiants répartis dans les quatre promotions ont été inclus. Le ratio des étudiants ayant obtenu un baccalauréat scientifique était de 98,8% en 2021-2022 contre 99,3 à 99,6% les années précédentes. En 2021-2022, 43,4% des étudiants avaient obtenu une mention très bien contre 53,2% à 64,2% les années précédentes alors que 11,8% avaient obtenu une mention passable, contre 1,8 à 2,6% les années précédentes. Ces différences étaient dues à une augmentation du nombre d'étudiants avec une mention passable au sein de la L.AS (44,8% contre 8,5% en PACES et 1,5% en PASS). Un étudiant sur deux était issu du département de la ville facultaire en PACES (50,3%) et en PASS (50,7%) contre un sur trois en L.AS (32,8%). Les proportions d'étudiants ayant au moins un ou les deux parents issus de la catégorie socio-professionnelle cadres et professions intellectuelles supérieures étaient plus élevées en PASS (1 parent : 72,8% contre 57,2% en PACES et 50,0% en L.AS ; 2 parents : 34,6% contre 26,2% en PACES et 19% en L.AS).

Conclusion : Le modèle élitiste de la PACES a été transféré vers la PASS et la diversification des profils n'a été permise qu'au sein de la filière L.AS, minoritaire puisqu'elle représente uniquement 17% des étudiants admis en deuxième année. La diversification des profils étudiants est donc à l'heure d'aujourd'hui un objectif partiellement atteint et des études complémentaires seront nécessaires sur les promotions à venir afin d'évaluer les effets de la réforme à moyen et long termes. Une attention particulière devra être portée au

devenir de ces étudiants aux profils différents entre la L.AS et la PASS afin de déterminer si ces changements conduiront à une meilleure offre de soins de la population française.

Mise au point et caractérisation de modèles de cellules souches de glioblastome

Auteurs : C. Doualle (1, 2), J. Gouju (1, 2, 3), A. Griveau (1, 2), Y. Nouari (1, 2), P. Saulnier (1, 2, 3), J. Eyer (1, 2), F. Letournel (1, 2, 3)

(1) Micro et Nanomédecines Translationnelles (MINT-U1066-CNRS6021)

(2) Université d'Angers

(3) CHU d'Angers

Introduction :

Le glioblastome est la tumeur primitive la plus fréquente et agressive du système nerveux central. La présence de cellules souches de glioblastome (CSG) au sein de la tumeur est associée à la résistance thérapeutique et aux rechutes. Les CSG constituent donc une cible d'intérêt majeur pour traiter le glioblastome de façon durable. La mise au point de thérapies ciblant les CSG doit prendre en compte leurs spécificités et nécessite donc d'avoir des modèles de CSG *in vitro* robustes et bien caractérisés.

Méthode :

Cette étude a caractérisé de façon extensive 4 modèles de CSG obtenues par dédifférenciation de 4 lignées humaines de glioblastomes (U-87MG, U-251MG, U-118MG et T98-G). Ces modèles dédifférenciés ont été comparés à deux lignées de CSG issues de patients (BTIC).

Résultats :

Le protocole de dédifférenciation permet d'obtenir rapidement et facilement des gliosphères, structures cellulaires 3D caractéristiques des CSG. Les gliosphères dédifférenciées sont morphologiquement similaires à celles formées par les BTIC. Des résultats de cytométrie en flux, de RT-qPCR et d'immunohistochimie montrent que des marqueurs de cellules souches (tels que SOX2 et A2B5) et des marqueurs associés au phénotype mésenchymal de CSG (tels que CD44) sont surexprimés au sein des cellules dédifférenciées, par comparaison avec la lignée d'origine. De plus, le profil d'expression protéique de ces marqueurs est similaire entre les CSG et les BTIC.

Conclusion :

Ces cellules constituent donc un modèle robuste pour l'étude cellulaire et moléculaire des CSG. Par la suite, nous utiliserons ces modèles pour identifier des cibles thérapeutiques potentielles et réaliser des tests pharmacologiques.

Adapt'obese: Un outil en ligne proposant des adaptations personnalisées de doses de médicaments aux adultes obèses

Auteurs : J. Gouju^{1,2,3}, S. Legeay^{2,3}

(1) CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49033 Angers, France

(2) UFR de Santé, Département de Pharmacie, Université d'Angers, 16 Bd Daviers 49045 Angers, France

(3) Université d'Angers, MINT Inserm 1066 CNRS 6021, Angers, France

Introduction : L'expansion de l'obésité à travers le monde peut être qualifiée de pandémique. En effet, entre 1975 et 2014 le nombre de personnes obèses a triplé (17% des adultes français, plus de 35 % des adultes américains). L'obésité est un état pathologique définie par un IMC > 30 kg/m² et caractérisée par une accumulation importante de tissu adipeux entraînant une augmentation du poids et capable d'impacter la pharmacocinétique, notamment la distribution. Ces modifications peuvent conduire à l'administration de doses inappropriées. Des ajustements significatifs de doses sont parfois nécessaires. Néanmoins, les données sur ces adaptations sont peu accessibles et complexes à mettre en pratique. Pour cette raison, une application en ligne sous forme de calculateur a été développée.

Méthode : Sur la base de recherche bibliographique d'abord à partir de revues de la littérature sur le sujet puis approfondie sur les classes pharmacologiques citées dans ces revues, un outil en ligne a été élaboré pour proposer le calcul d'adaptation de dose personnalisé aux patients obèses.

Résultats : Actuellement, le site Adapt'Obese rassemble et rationalise les données bibliographiques d'adaptation chez les patients obèses de 84 molécules et modalités d'administration afin qu'elles soient plus facilement applicables par les praticiens. Parmi elles des antibiotiques, des antifongiques, des anticoagulants et des cytotoxiques dont la littérature a pu conduire à des propositions d'ajustements. Grâce au sexe, à la taille et au poids du patient obèse, l'outil propose au praticien une adaptation personnalisée du médicament à son patient obèse.

Conclusion : L'outil déployé en ligne est d'ores et déjà utilisable à l'adresse URL suivante : www.adaptobese.com. D'autres principes actifs seront intégrés prochainement et des améliorations de fonctionnalités sont envisagées. L'objectif est de mieux considérer les impacts pharmacocinétiques de l'obésité pour ajuster au mieux les doses de médicaments, comme cela est couramment pratiqué chez les patients insuffisants rénaux.

Metabolomic Profiling of Angiotensin-II-Induced Abdominal Aortic Aneurysm in *Ldlr*^{-/-} Mice Points to Alteration of Nitric Oxide, Lipid, and Energy Metabolisms

A. Richard^{1,2,3,†}, JM. Chao de la Barca^{1,2,3,4,†}, P. Robert^{1,2,3}, M. Eid⁵, O. Fouquet⁵, L. Tessier⁴, C. Wetterwald⁴, J. Faure⁴, C. Fassot^{1,2,3}, D. Henrion^{1,2,3,6}, P. Reynier^{1,2,3,4,‡} and L. Loufrani^{1,2,3,*,‡}

(1) UMR CNRS 6015—INSERM U1083, IRIS2, 3 rue Roger Amsler, 49100 Angers, France; jmchaodelabarca@chu-angers.fr (J.M.C.d.l.B.); alexis.richard@univ-angers.fr (A.R.); pauline.robert@univ-angers.fr (P.R.); celine.fassot@inserm.fr (C.F.); daniel.henrion@univ-angers.fr (D.H.); pareynier@chu-angers.fr (P.R.)

(2) INSERM U1083, 49100 Angers, France

(3) Mitovasc Institute, Université d'Angers, 49100 Angers, France

(4) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire (CHU), 49000 Angers, France; l.tessier@chu-angers.fr (L.T.); c.wetterwald@chu-angers.fr (C.W.); j.faure@chu-angers.fr (J.F.)

(5) Service de Chirurgie Cardiaque, Centre Hospitalier Universitaire (CHU), 49100 Angers, France; maroua.eid@chu-angers.fr (M.E.); olfouquet@chu-angers.fr (O.F.)

(6) Angers University Hospital (CHU), 49100 Angers, France

* Correspondence: laurent.loufrani@inserm.fr; Tel.: +33-244688263

† These authors contributed equally to this work.

‡ These authors contributed equally to this work.

Introduction :

Aneurysm is the second-most common disease affecting the aorta worldwide after atherosclerosis. While several clinical metabolomic studies have been reported, no study has reported deep metabolomic phenotyping in experimental animal models of aortic aneurysm.

Methods :

We performed a targeted metabolomics study on the blood and aortas of an experimental mice model of aortic aneurysm generated by high-cholesterol diet and angiotensin II in *Ldlr*^{-/-} mice.

Results :

The mice model showed a significant increase in media/lumen ratio and wall area, which is associated with lipid deposition within the adventitia, describing a hypertrophic remodeling with an aneurysm profile of the abdominal aorta. Altered aortas showed increased collagen remodeling, disruption of lipid metabolism, decreased glucose, nitric oxide and lysine metabolisms, and increased polyamines and asymmetric dimethylarginine (ADMA) production. In blood, a major hyperlipidemia was observed with decreased concentrations of glutamine, glycine, taurine, and carnitine, and increased concentrations of the branched amino acids (BCAA). The BCAA/glycine and BCAA/glutamine ratios discriminated with very good sensitivity and specificity between aneurysmatic and non-aneurysmatic mice.

Conclusion :

Our results reveal that experimental induction of aortic aneurysms causes a profound alteration in the metabolic profile in aortas and blood, mainly centered on an alteration of NO, lipid, and energetic metabolisms.

Rôle des récepteurs P2X dans la libération d'exosomes cancéreux - Conséquence sur l'agressivité cancéreuse

Thomas Duret^{1#}, Stéphanie Chadet¹, Roxane Lemoine¹, Audrey Héraud¹, Pierre Besson¹, Lili Fan², Gang Yin², Christophe Baron¹, Sébastien Roger¹

¹, EA4245 Transplantation, Immunology, Inflammation, University of Tours, France. ², Central South University, Changsha, Hunan province, China. # Presenting author.

Introduction : Les exosomes sont des nanovésicules extracellulaires originaires des corps multivésiculaires (CMVs) et connus pour être impliqués dans l'agressivité cancéreuse. Bien qu'il soit établi que le relargage des exosomes est conditionné par la fusion des CMVs à la membrane plasmique et est inhibé par leur fusion aux lysosomes, le processus moléculaire reste peu connu. Dans cette étude, nous avons analysé le rôle des purinorécepteurs P2X4 et P2X7 dans le relargage des exosomes, leurs compositions et leurs conséquences sur l'agressivité cancéreuses.

Méthode : Nous avons généré, par la technologie CRISPR-Cas9, des clones stables issus de la lignée cellulaire murine 4T1, sous-exprimant les récepteurs P2X4 (4T1-CR4) ou P2X7 (4T1-CR7) ainsi qu'un clone témoin « null-target » (4T1-CTL). Les exosomes issues du surnageant de ces lignées cellulaires ont été purifiés par ultracentrifugations différentielles, puis caractérisés par microscopie électronique à transmission (MET) et « nanoparticle tracking analysis » (NTA). L'expression intracellulaire des tétraspanines CD9, CD63, CD81, utilisées comme marqueurs des exosomes, a été étudiée par cytométrie en flux. Pour étudier la capacité des exosomes à moduler les propriétés invasives des cellules 4T1, nous avons réalisé des co-cultures de cellules donneuses d'exosomes 4T1-CTL, -CR4, -CR7, et de cellules 4T1-CTL « receveuses », en présence ou non de l'inhibiteur de libération d'exosomes GW4869.

Résultats : L'analyse NTA des surnageants des lignées 4T1-CTL et -CR4, purifiés par ultracentrifugation, révèle la présence de particules de taille inférieure à 200 nm. Celles-ci expriment les marqueurs CD9, CD63 et CD81. L'augmentation intracellulaire du marqueur CD9 dans la lignée 4T1-CR4, ainsi que l'augmentation des nanoparticules extracellulaires retrouvées dans le surnageant de cette lignée par rapport aux 4T1-CTL suggère une implication de P2X4 dans le relargage des exosomes. Les cellules receveuses 4T1-CTL co-cultivées avec des cellules donneuses 4T1-CR4 présentent une invasion réduite par rapport à celles co-cultivées avec des cellules donneuses 4T1-CTL.

Conclusion : P2X4 semble moduler le relargage ou la composition d'exosomes provenant de cellules 4T1.

Rôle de l'altération de la barrière hématoencéphalique dans la progression de la sclérose latérale amyotrophique

H Alarcan(1,2), C Veyrat-Durebex(1,2), P Vourc'h(1,2), CR Andres (1,2), P Corcia (2,3), H Blasco(1,2)

- (1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours, France
- (2) UMR 1253 iBrain, Université de Tours, Inserm, 10 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours, France
- (3) Service de Neurologie, CHRU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé, 37000 Tours, France

Introduction : La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative caractérisée par une perte des motoneurons à la fois centraux et périphériques. L'évolution de la maladie est rapide, avec un décès survenant dans les 3 à 5 ans suivant l'apparition des symptômes. L'hétérogénéité de la maladie et sa physiopathologie complexe limitent l'efficacité des thérapeutiques potentielles. Des preuves d'une altération de la barrière hématoencéphalique (BHE) ont été reportées dans la SLA, mais son implication dans la physiopathologie de la maladie reste peu comprise. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'évaluer le rôle de marqueurs circulants d'intégrité de la BHE et d'autres protéines du liquide céphalo-rachidien (LCR) dans la progression de la maladie.

Méthode : Cette étude rétrospective a inclus 307 patients suivis au Centre de Ressources et Compétences SLA du CHRU de Tours, pour lesquels la détermination des concentrations sériques et dans le LCR des protéines totales, de l'albumine et des Immunoglobulines G (IgG) a été réalisée au moment du diagnostic de la maladie. Les quotients albumine (QAlb) et IgG (QIgG) ont été calculés par le rapport entre les concentrations cérébrospinales et sériques. Les données démographiques ainsi que les paramètres cliniques au diagnostic et au cours du suivi ont été récoltés. Dans un premier temps, les corrélations entre marqueurs biologiques et données cliniques ont été évaluées, puis une analyse de survie par régression multivariée de Cox a été menée sur chaque paramètre biologique, après ajustement avec les marqueurs cliniques de progression de la maladie (âge, sexe, site de début, poids, capacité vitale forcée, le score « *Amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale* » (ALSFRS), ainsi que le délai entre le diagnostic et début des symptômes).

Résultats : Nous avons retrouvé une augmentation du QAlb (>0.65 %), signe d'une altération de la BHE, chez 54 % des patients atteints de SLA, avec des différences de proportion selon le sexe (41 % des femmes, 66 % des hommes). Les protéines totales du LCR et le QIgG étaient également plus élevés chez les hommes. Le QAlb et le QIgG, ainsi que les protéines totales, les IgG et l'albumine du LCR étaient significativement corrélés avec le score ALSFRS au diagnostic, mais uniquement chez les hommes. L'analyse de survie a révélé qu'une élévation du QAlb (Hazard ratio (HR) = 2.06, Intervalle de confiance à 95 % (IC95% = 1.17 -3.64, p = 0.013) et de l'albumine dans le LCR (HR=4.56, IC95% = 1.24-16.8, p=0.023) était associée à un risque accru de décès des patients, après ajustement avec les covariables de la maladie, chez les patients masculin uniquement.

Conclusion : Une altération de l'intégrité de la BHE est retrouvée chez plus de la moitié des patients atteints de SLA, et ce, dès le diagnostic. De plus, les marqueurs reflétant son altération sont associés avec le pronostic de la maladie, mais uniquement chez les hommes.

Glycogen metabolism supports human macrophage functions

N. Jeroundi¹, P. Pignon¹, C. Roy¹, L. Basset¹, G. Tcherkez², C. Bocca², D. Couez¹, P. Jeannin¹

(1) Université d'Angers, F-49000 Angers

(2) CHU Angers, Laboratoire d'Immunologie.

Introduction : Macrophage polarisation and activation are linked with metabolic adaptation, which is required to sustain their biological functions. Recently, it was shown that murine M1, but not M2 macrophages, store glycogen, and that the glycogen catabolism channelled through the pentose phosphate pathway to support macrophage-mediated inflammatory responses. To date, the expression and role of glycogen in human macrophages has not been evaluated. We thereby investigated whether human macrophages may stock glycogen and whether they use it as fuel to ensure their functions.

Méthode : Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained from healthy human volunteers by standard density-gradient centrifugation on Lymphocyte Separation medium (Eurobio, Courtaboeuf, France). Monocytes isolated from PBMC by positive magnetic selection, were differentiated into prototypic M1 by culture with GM-CSF and IFN γ and into prototypic M2 cells by culture with M-CSF and IL-4. Intracellular glycogen levels were measured at day 5.

Résultats : Prototypic Human monocyte-derived M1 and M2 macrophages both store glycogen. Our results identify that GM-CSF and IL-4 as two factors triggering glycogenesis. In addition, we also found that glycogen metabolism mainly supports their functions. Inhibition of glycogenolysis or the pentose phosphate pathway strongly impairs the cytokine secretion by both M1 and M2, and the phagocytic activity of M2. In contrast, the macrophage respiration was not affected.

Conclusion : In summary, our results demonstrate that i) human macrophages are able to provide energy reserves in the form of glycogen, and ii) that glycogen is used by macrophages as fuel to perform their function, not to supply glucose like liver and tumour cells but rather to function independently of the microenvironment.

Objet : résumé des travaux de Master 2 et du projet de doctorat

Mots clés : Maladies cardiovasculaires, vieillissement, ADN mitochondrial

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

Théophile THIBAUT, Olivier BARIS

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

Introduction

Les maladies cardiovasculaires sont la 1^{ère} cause de mortalité dans monde. Dans les tissus vieillissants et notamment cardiaques, on observe fréquemment une mosaïque formée par quelques cellules dont la fonction mitochondriale est diminuée au sein de nombreuses cellules saines, et qui pourrait jouer un rôle dans le vieillissement pathologique cardiaque. Cette dysfonction résulte de l'instabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt), qui subit de nombreuses délétions au cours du vieillissement. L'étude vise à déterminer l'impact de la dynamique mitochondriale et de l'autophagie sur l'instabilité de l'ADNmt en utilisant notre modèle murin de vieillissement mitochondrial accéléré TWNK, dont l'hélicase de l'ADNmt est mutée et cause l'accumulation accélérée de délétions de l'ADNmt.

Matériel et méthode

La souris TWNK a d'abord été croisée avec des souris knockout hétérozygotes pour des gènes cruciaux de la dynamique, OPA1^{delTTAG} (fusion) et DRP1^{+/-} (fission). Après validation des modèles par western blot, la proportion de délétions de l'ADNmt et de cellules dysfonctionnelles a été évaluée par qPCR et coloration enzymatique COX/SDH, respectivement.

Résultats

Nous n'avons pas identifié de différences entre les proportions d'ADNmt ou de délétions. Cependant, les souris TWNK-OPA1^{delTTAG} présentent 1,6 fois plus de cardiomyocytes déficients en activité mitochondriale que les souris TWNK, suggérant un rôle protecteur de la fusion dans le vieillissement cardiaque.

Perspectives

Nous souhaitons moduler la mitophagie par régime ou traitement pharmacologique chez les souris TWNK afin de déterminer son impact sur l'instabilité de l'ADNmt et la dysfonction des cardiomyocytes. Nous espérons en promouvant le turn-over mitochondrial, induire l'élimination de mitochondries riches en ADNmt altéré.

Développement d'un modèle *in vitro* d'étude de la fibrose hépatique liée au virus de l'hépatite B

Auteurs : C. Lefeuvre (1), N. Keophorasy (2), D. Durantel (3), A. Pivert (1), A. Ducancelle (1)

(1) Univ Angers, CHU Angers, HIFIH, SFR ICAT, F-49000, Angers, France

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

(3) CIRI - Centre International de Recherche en Infectiologie, Univ Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Inserm, U1111, CNRS, UMR5308, ENS Lyon, Lyon, 69007, France

Introduction : Au stade chronique de l'infection par le virus de l'hépatite B (VHB), des complications peuvent survenir comme la fibrose hépatique. Le mécanisme physiopathologique de la fibrose hépatique est complexe mais l'activation puis la prolifération des cellules hépatiques stellaires (CHS) joue un rôle primordial dans la fibrogenèse. L'implication du VHB, de ses protéines virales spécifiques ou de sa variabilité génétique dans la fibrose reste à préciser. Nos travaux de recherche ont pour objectif de poursuivre l'étude du rôle de la variabilité des régions promoteur basal du core (PBC) / précore (PC) dans la fibrose hépatique en développant des outils moléculaires et cellulaires afin de reproduire *in vitro* un modèle de fibrose.

Méthode : Le développement d'un modèle de co-culture de cellules LX-2 (CHS)/dHepaRG (hépatocytes différenciés) en système Transwell a donc été initié au laboratoire. Nous avons évalué l'expression basale de marqueurs pro-fibrotiques (α -SMA, collagène 1A1 et TGF- β 1) pour chaque type cellulaire et lors de la co-culture des LX-2/dHepaRG en réponse à une stimulation ou non par un agent pro-fibrotique (TGF- β 1).

Résultats : Nos résultats confirment que le traitement des cellules LX-2 par le TGF- β 1 favorise l'expression du col1A1 et du TGF- β 1 mais ne semble pas induire l'augmentation de l'expression de l'ARNm α -SMA dans les LX-2. La co-culture des LX-2 avec la lignée dHepaRG sans traitement par TGF- β 1 n'induit pas d'augmentation d'expression des ARNm α -SMA et TGF- β 1 dans les LX-2.

Conclusion : Nos travaux démontrent la stimulation des LX-2 en monocouche après traitement par TGF- β 1 et l'absence de co-stimulation des cellules LX-2 et dHepaRG en co-culture à l'état basal sans traitement par le TGF- β 1. Ces deux étapes étant validées, nous allons poursuivre nos travaux avec la co-culture des CHS en présence d'hépatocytes exprimant les virions complets du VHB, ou encore les protéines HBe ou HBc. En perspective, le développement de ce modèle permettra d'étudier le rôle différencié ou combiné des protéines HBc et HBe du VHB dans la fibrose, et de mieux comprendre l'impact des mutants PBC/PC du VHB dans la fibrose hépatique.

Practical diagnosis of cirrhosis by liver specialists in non-alcoholic fatty liver disease using currently available non-invasive fibrosis tests

Auteurs : Jérôme Boursier (1,2), Marine Roux (2), Sophie Michalak (3,2), Julien Chaigneau (2), Clémence M Canivet (1,2).

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

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

(3) Pathology Department, Angers University Hospital, Angers, France

Introduction: Unlike for advanced liver fibrosis, the practical rules for the non-invasive diagnosis of cirrhosis in NAFLD remain not well defined. We aimed to develop and validate an accurate diagnosis of cirrhosis in NAFLD using the most accurate non-invasive tests currently available to liver specialists.

Methods: Data from 1,568 patients with NAFLD and liver biopsy from four independent cohorts were allocated to derivation and validation sets according to a phase 3 TRIPOD design. All patients had six non-invasive fibrosis tests utilising different modalities (elastography, blood tests) and dedicated to different diagnostic targets (advanced liver fibrosis, cirrhosis): FIB4, FibroMeter^{V3G}, CirrhoMeter^{V3G}, Fibroscan, Agile3+, and Agile4.

Results: We developed a risk prediction chart to allow estimation of the individual probability of cirrhosis. In the validation set, calibration of the predicted risk was excellent: the integrated calibration index was 0.025, and mean difference with perfect prediction was only -2.9% (extremes: -5%; -2%). Quantitative morphometric analysis confirmed that our approach stratified patients into subgroups with significantly different amounts of liver fibrosis.

Conclusion: The new tools we developed improve the personalized non-invasive diagnosis of cirrhosis in NAFLD patients.

L'altération de la fusion mitochondriale dans la cellule endothéliale induit un stress oxydatif dans le rein âgé et une augmentation de l'inflammation dans l'artère mésentérique

Auteurs : C. Turnaturi (1), C. Proux (2), L. Grimaud (2), E. Vessières (2), A.-L. Guihot (2), R. Sorrentino (3) D. Henrion (2)

(1) Département de pharmacie Université de Naples Federico II, Italie

(2) Équipe CarMe, laboratoire MITOVASC, CNRS UMR 6015, INSERM U1083, Université de Angers, France

(3) Département de Médecine moléculaire e biotechnologie médical, Université de Naples Federico II, Italie

Introduction : Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité au niveau mondial et leur fréquence augmente avec l'âge. Le dysfonctionnement endothélial (DE) est le principal responsable du développement des maladies cardiovasculaires. Cela inclut la réduction de l'activité de l'enzyme de synthèse du monoxyde d'azote (eNOS) et l'augmentation de la production d'espèce radicalaires de l'oxygène (ROS). Les mitochondries sont en permanence soumises à des cycles de fusion et de fission appelé la dynamique mitochondriale. La protéine GTPase *optic atrophy 1* (OPA1) a un rôle clé dans la fusion mitochondriale. Un dysfonctionnement mitochondrial est observé dans les maladies cardiovasculaires et l'absence d'OPA1 dans les cellules endothéliales humaines et de souris réduit leur réponse dilatatrice au flux et induit le développement de l'athérosclérose. Nous avons émis l'hypothèse que la réduction de OPA1 dans la cellule endothéliale pourrait contribuer à la dysfonction endothéliale due à l'âge. **Méthode :** On a utilisé des souris jeunes (8 mois) et des souris âgées (22 mois) déficientes en *Opa1* au niveau des cellules endothéliales (KO induit par le tamoxifène) : souris EC-OPA1^{-/-} et leur contrôle EC-WT. On a collecté les reins et les artères mésentériques pour évaluer l'expression de protéines impliquées dans la fonction endothéliale, dans l'inflammation et dans le stress oxydatif. **Résultats :** Dans le reins âgée EC-OPA1^{-/-} l'expression de p67, composant de la NADPH-oxydase, est significativement plus élevée par rapport au reins EC-WT, suggérant une augmentation du stress oxydatif. L'expression de eNOS est augmentée dans les reins des souris jeunes et les âgées EC-OPA1^{-/-} et l'expression de cavéoline-1 augmente dans les reins de souris âgées uniquement. Dans le reins âgée EC-OPA1^{-/-} il y a aussi une augmentation de la nitration des protéines. Finalement, on a observé une augmentation de VCAM et de CD45 uniquement dans les reins de souris jeunes EC-OPA1^{-/-}. Dans l'artère mésentérique on n'a pas observé de stress oxydatif mais seulement une inflammation majeure chez les souris EC-OPA1^{-/-} jeunes et âgées. **Conclusion :** La réduction de la fusion mitochondriale dans la cellule endothéliale induit un stress oxydatif avec probablement un découplage de la eNOS dans les reins et essentiellement de l'inflammation dans l'artère mésentérique. Donc OPA1 aurait un rôle protecteur dans le fonctionnement de la cellule endothéliale et pourrait réduire l'effet de l'âge sur ces cellules.

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

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

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

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

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

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

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

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

Introduction. Le carcinome rénal à cellules claires (ccRCC) est caractérisé par une reprogrammation métabolique prédominante avec une production énergétique accrue via la glycolyse aérobie aux dépens de la phosphorylation oxydative, appelé "effet Warburg". Le régime cétogène (KD), consiste en un apport élevé en graisses et faible en glucides, apportant les substrats énergétiques nécessaires aux cellules saines tout en privant les cellules tumorales de glucose représentant une stratégie thérapeutique.

Résultats. In vitro, l'exposition aux corps cétoniques est associée à une réduction significative de la prolifération des lignées de cellules rénales (ACHN et RENCA). La croissance tumorale des xénogreffes est significativement réduite pour un modèle de souris nude. L'analyse de l'expression génique par RNA sequencing montre en particulier une surexpression de PDL-1. Nous avons traité des souris syngéniques avec un régime cétogène et/ou une immunothérapie anti-PD-L1.

Nous avons constaté que le KD ralenti la croissance tumorale in vivo. Les souris traitées par une combinaison anti-PDL1 + KD ont une survie significativement augmentée.

Conclusion. Le régime cétogène réduit de manière significative la prolifération des cellules tumorales rénales et augmente le métabolisme et la biogénèse mitochondriale. Il ralentit également la croissance tumorale des xénogreffes ACHN ainsi que des tumeurs RENCA et modifie l'immunité intratumorale associée à une surexpression de PD-L1. Ces effets bénéfiques du régime cétogène pourraient représenter une stratégie thérapeutique adjuvante en complément des immunothérapies, dans la prise en charge des patients atteints de cancer du rein métastatique. Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer les bénéfices thérapeutiques de ces stratégies métaboliques.

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

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

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

²Département Biochimie, CHU Angers - Angers (France)

³Département Génétique, CHU Angers - Angers (France)

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

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

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

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

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

Introduction : Les déficits du Complexe I représentent 30% des maladies mitochondriales affectant particulièrement les tissus fortement consommateurs d'énergie comme muscles et cœur. Il n'existe actuellement pas de traitement curatif.

Résultats : Lors d'une 1ere phase, nous avons entrepris un projet de criblage de molécules avec AMM pour compenser les dysfonctions mitochondriales utilisant des mutants introduits dans des organismes simples : champignon *Podospora anserina*. Les hits positifs ont été testés à partir de cellules humaines présentant des mutations pour différentes sous-unités du Complexe I, notamment NDUFV1. L'analyse mitochondriale a permis de sélectionner une drogue candidate après validation chez un organisme plus complexe, le nématode *C. elegans*.

La caractérisation mitochondriale des lignées humaines mutantes NDUFV1 a montré une réduction sévère de l'activité et de l'assemblage du complexe I. L'efficacité de la molécule sélectionnée a ensuite été testée sur ces lignées mutantes afin de déterminer la concentration optimale. Nous avons mis en évidence une augmentation significative de l'activité enzymatique du complexe I pour une dose optimale de 300nM.

Conclusion : Cette stratégie nous a donc permis d'identifier des molécules candidates qui pourraient devenir des thérapeutiques avec un focus particulier sur les atteintes cardiaques des maladies mitochondriales. Cette étude vise ensuite à obtenir le mécanisme d'action et la preuve de concept in vivo de ces molécules à l'aide de différents modèles cellulaires (lignées cellulaires et cellules souches induites) mais aussi de modèles murins. A moyen terme cette

étude pourrait se poursuivre par des essais cliniques avec le repositionnement de ces molécules pour le traitement de ces maladies mitochondriales.

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

Auteurs : S. Bonnet (1), F. Franconi (1)(2), L. Lemaire (1)(2), S. Pottier (1)(3), A. Bondon (1)(3), M. Musse (1)(4), G. Collewet (1)(4), F. Mariette (1)(4), P.A. Eliat (1)(5)(6), F. Noury (1)(7)

- (1) PRISM, Biogenouest, Angers-Rennes, France
- (2) MINT, Univ Angers, Inserm, CNRS, SFR ICAT, Angers, France
- (3) ISCR, Univ Rennes, France
- (4) INRAE UR OPAALE, Rennes, France
- (5) CNRS, INSERM, BIOSIT – UMS 3480, US_S 018, F-35000 Rennes, France
- (6) Univ Rennes, INRAE, INSERM, Institut NUMECAN – UMR_A 1341, UMR_S 1241, F-35000 Rennes, France
- (7) Univ Rennes, INSERM, LTSI – U1099, F35000 Rennes, France

Introduction : La spectroscopie de diffusion par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique couramment employée dans les domaines de la chimie et du biomédical, notamment pour des caractérisations *in vitro*. Toutefois, il n'existe actuellement pas de séquence dédiée utilisable sur des imageurs par résonance magnétique (IRM). Cet outil ouvrirait pourtant de nouvelles perspectives pour mesurer le coefficient de diffusion de signaux autres que celui de l'eau (molécules endogènes, médicaments, etc...), tout particulièrement lors d'études *in vivo* chez le petit animal.

Méthode : Une méthode de diffusométrie par spectroscopie localisée, basée sur une séquence de spectroscopie localisée PRESS¹ à laquelle un motif de pondération en diffusion a été ajouté, a été développée sur les deux imageurs Bruker Biospec de la plateforme PRISM (imageurs 7T à Angers et 4.7T à Rennes). Elle a été testée à température contrôlée sur des solutions de polyéthylène glycol (PEG) de différentes masses moléculaires et des suspensions de nanocapsules lipidiques (LNC) libres ou incluses dans des gels d'agarose à différentes concentrations. Les coefficients de diffusion ont été comparés aux valeurs de références obtenues sur un spectromètre RMN Bruker 500 MHz (Plateforme PRISM, Rennes).

Résultats : À ce jour, cette méthode innovante est en mesure d'évaluer des coefficients de diffusion libres et restreints de signaux autres que ceux de l'eau, comme ceux des PEG, ou des lipides, qui sont des éléments constitutifs des LNC.

Conclusion : Ces résultats ouvrent la voie à la transposition de cette méthode pour des études *in vivo* pour l'étude de l'intégrité de nanomédicaments post-administration.

1. Bottomley P.A., Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy. US Patent #4,480,228 (1984)

Analyse fonctionnelle de variants génétiques dans la Sclérose Latérale Amyotrophique par l'étude de marqueurs précoces de la neurodégénérescence.

Auteurs : L. Bedja--Iacona (1), A. Dangoumeau (1), D.C. Ung (1), S. Marouillat (1)(2), C. Veyrat-Durebex(1)(2), C. Brulard (3), H. Alarcan(1)(2), D. Lanznaster (1)(2), F. Laumonnier (1), C. Andres (1)(2), H. Blasco (1)(2), P. Corcia (1)(2), P. Vourc'h (1)(2)(3)

(1) UMR 1253, IBrain, Université de Tours, Inserm

(2) CHRU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, 37044 Tours, France.

(3) CHRU de Tours, Plateforme UTTIL

La Sclérose Latérale Amyotrophique, également appelée maladie de Charcot, est une maladie neurodégénérative qui se caractérise par la mort progressive des motoneurones, et conduit au décès du patient en moyenne 3 ans après l'apparition des premiers symptômes.

Une trentaine de gènes ont été impliqués dans le développement de la pathologie. De part ce grand nombre de gènes, les mécanismes physiopathologiques ne sont pas totalement connus et demandent encore à être élucidés afin d'élaborer des thérapeutiques adéquates.

Le but de mon projet de thèse est d'identifier la fonction de variants génétiques dit de classe 3 (de signification inconnue) et de classe 4 (probablement délétères) dans 4 des principaux gènes responsables de la SLA: *SOD1*, *FUS*, *TARDBP*, et *TBK1*. Ces variants ont été identifiés chez des patients SLA lors de diagnostics moléculaires réalisés par le Service de Biochimie et de Biologie moléculaire, en lien avec le centre de référence sur la SLA du CHU de Tours. Pour l'étude de ces variants, nous mettons en place une approche originale consistant en l'étude de marqueurs précoces de la neurodégénérescence *in vitro*, sur des cultures primaires de neurones ou des cultures de motoneurones dérivés de cellules IPSs. Les variants considérés pathologiques suite aux études *in vitro*, seront analysés *in vivo* sur un modèle de zebrafish en lien avec une équipe de Montpellier (INM). Ces deux modèles *in vivo* et *in vitro* portant des variants pathogènes, permettront d'étudier l'effet de molécules à visée thérapeutique en développement dans l'équipe...

Cette étude permettra une meilleure compréhension de la physiopathologie de la SLA et participera au développement de nouvelles thérapeutiques. Les résultats obtenus pourront être exportés vers la clinique avec un possible retour aux patients, si reclassification de variants non pathogènes en variants pathogènes. Les modèles développés pourront être transférés vers le laboratoire de diagnostic moléculaire du CHU en vue d'études fonctionnelles rapides, ceci afin de proposer à l'avenir au patient une thérapeutique le plus précocement possible, ceci en fonction de sa génétique.

Evaluation d'immunoconjugués innovants dans le cancer du sein HER2+

Auteurs : E. Douez (1,2), I. Ait Mohammed Amar (3), L. Jolivet (2), F. Boursin C (2), Denevault (3), N. Joubert (3), N. Aubrey (2), E. Allard-Vannier (1)

(1) EA6295 Nanosondes et Nanomédicaments, faculté de pharmacie de Tours,

(2) UMR 1282 ISP, Equipe BioMAP, Université de Tours-INRAE, F-37200, Tours, France,

(3) EA 7501 GICC, Equipe IMT, Université de Tours, F-37032, Tours, France.

Introduction : Dans le monde, en 2020, le cancer du sein (CS) touchait 2,2 millions de femmes avec une mortalité estimée à 685 milles. De nombreuses thérapeutiques innovantes sont apparues récemment dont les anticorps conjugués à des agents cytotoxiques que l'on nomme « antibody-drug conjugate » ou ADC. Le premier ADC approuvé est le trastuzumab emtansine (Kadcyla[®]) qui cible HER2 dans le CS HER2+. Pour ces médicaments ciblés et vectorisés, on définit le DAR comme le nombre moyen de drogue conjuguées à l'anticorps. Afin d'améliorer ces nouvelles thérapeutiques, limitées par leur toxicité hors cible et leur diffusion limitée au sein des tumeurs, des ADC ou FDC (fragment-drug conjugate) anti-HER2 innovants ont été développés puis testés biologiquement sur des modèles *in vitro* et *in vivo* de cancer du sein HER2+.

Méthode : La drogue vectorisée est la MMAE avec un DAR de 4 pour le FDC (format minibody) et un DAR de 8 pour l'ADC. Des tests d'affinité post-conjugaison, de cytotoxicité et d'internalisation ont été réalisés sur deux lignées de cancer du sein ; la lignée SK-BR-3 (HER2+++) et la lignée MDA-MB-231 (HER2 low). Nous utilisons un marqueur : la peptostreptococcus protéine L liée à la phycoérythrine afin de tracer nos entités *in vitro*. Enfin, des tests de réduction tumorale ont été réalisés sur un modèle de cancer mammaire HER2+ xéno greffé chez la souris nude après différents schémas (injection intrapéritonéale).

Résultats : La conjugaison de l'ADC et du FDC ne dénature pas leur spécificité pour la cible HER2 comparé au non-conjugués. Les tests de cytotoxicité montrent une efficacité cytotoxique équivalente entre les deux entités sur les SK-BR-3 et quasiment aucune activité sur les MDA-MB-231. Une meilleure internalisation du FDC de DAR4 a été observée sur les SK-BR-3 comparé à l'ADC de DAR8. Enfin les tests *in vivo* montrent une réduction tumorale homogène pour le groupe FDC DAR4 et une efficacité moyenne et hétérogène pour le groupe ADC DAR8.

Conclusion : L'IgG de DAR8 semble trop chargée en drogue pour obtenir de bons résultats *in vivo*. Par ailleurs, le minibody de DAR4 montre des résultats très satisfaisants en internalisation cellulaire et en réduction tumorale. Les résultats d'internalisation semblent être prédictifs de la réponse d'efficacité *in vivo*. Cette prédiction est à confirmer avec des futures expériences d'internalisation sur un modèle en 3D de cellule de CS.

Encapsulation de l'amiodarone dans le traitement de la fibrillation atriale

Auteurs : J. Chen(1)(2), G. Lefebvre(1), E. Martinez(1), P. Saulnier(1)(2)

(1) Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, 49000 Angers, France

(2) CHU d'Angers, Angers

Introduction : La fibrillation atriale est le plus fréquent des troubles du rythme cardiaque et touche près d'un million de personnes en France. L'amiodarone est l'anti-arythmique le plus efficace pour maintenir le rythme sinusal après une cardioversion et est autorisée pour le traitement de cette pathologie en cas d'insuffisance cardiaque. Cependant, à cause de son profil pharmacocinétique et de son profil métabolique, le délai d'action de l'amiodarone est lent et son usage est associé à de nombreux effets indésirables cardiaques et extracardiaques associés (thyroïdien, hépatique, pulmonaire, oculaire, cutané). Ainsi, l'encapsulation de l'amiodarone dans des nanovecteurs représente une stratégie prometteuse pour améliorer son efficacité et diminuer sa toxicité (ciblage actif et diminution de la dose utile). L'objectif de ce travail est donc de développer une nanocapsule lipidique d'amiodarone et d'en évaluer son efficacité.

Méthode : Les nanocapsules lipidiques (NCL) sont formulées par microfluidique selon une méthode basse-énergie d'inversion de phase en composition. La taille des NCL et leur indice de polydispersité (PDI) sont mesurés par diffusion dynamique de la lumière. Le potentiel zêta est mesuré par mobilité électrophorétique. Le taux de charge et l'efficacité d'encapsulation sont évalués par chromatographie liquide ultra-haute performance couplé à un détecteur UV.

Résultats : Les NCL contenant de l'amiodarone ont une taille de $44 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ avec un indice de polydispersité de $0,15 \pm 0,3$ et un potentiel zêta légèrement positif de $+18 \text{ mV}$. Après purification, le taux de charge est de $0,4 \text{ mg/ml}$ de suspension de NCL avec une efficacité d'encapsulation de 60%. Les méthodes de purification testées apportent des éléments de compréhension sur le positionnement de la molécule d'amiodarone préférentiellement à la surface des LNC du fait de son caractère amphiphile pH-dépendant.

Conclusion : Des NCL d'amiodarone ont pu être optimisées. Les perspectives de l'étude à court terme seront la co-encapsulation d'une molécule anti-fibrotique et la fonctionnalisation de ces NCL à l'aide d'un peptide d'adressage spécifique des oreillettes du cœur. Enfin, la cytotoxicité de ces NCL sera évaluée *in vitro* sur différentes lignées cellulaires et leur efficacité sur les arythmies sera déterminée grâce à un modèle *ex vivo*.

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

Auteurs :

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

1 : Université Angers, Université de Nantes, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI²NA, SFR ICAT

2 : Service des maladies du sang, CHU Angers

3 : Laboratoire d'Immunologie et Allergologie, CHU d'Angers

4 : Service d'onco-immuno-hémato pédiatrique, CHU d'Angers

Introduction : Les complications infectieuses lors des épisodes de neutropénie fébrile sont gravées d'une morbidité importante. Nous nous sommes intéressés à la Pentraxine 3 (PTX3), une protéine de l'immunité humorale. En cas de déficience en PTX3, les patients présentent une susceptibilité accrue à certains pathogènes comme *Aspergillus Fumigatus*. En réanimation médicale, un taux élevé de PTX3 s'est révélé être un marqueur prédictif de mortalité. Cependant, la valeur du dosage de PTX3 a été peu étudiée au cours des neutropénies fébriles.

Méthode : Cette étude descriptive, prospective et monocentrique s'est intéressée aux dosages de PTX3 pré-thérapeutiques et au cours des neutropénies prolongées consécutives à un traitement intensif dans les hémopathies. L'objectif principal est de décrire les variations de PTX3 au cours des neutropénies fébriles de cette population.

Résultats : 169 patients adultes candidats à un traitement intensif ont été inclus entre 2014 et 2017 dans le service d'hématologie du CHU d'Angers. Sur les 159 patients en aplasie analysés, 41 sont restés aapyrétiques et 118 ont présenté une neutropénie fébrile dont 61 une neutropénie fébrile simple (NFS), 33 un sepsis(S) et 11 un sepsis sévère(SS). Les taux de PTX3 augmentent passant d'en moyenne 0.69 ng/mL avant la neutropénie à 3.26 ng/mL le jour de la fièvre ainsi que les jours suivants (PTX3 = 4.71 en moyenne pour le 2^e prélèvement puis PTX3 = 7.57 ng/mL au 3^{ème}) alors que ces taux restent stables et peu élevés chez les patients sans fièvre au cours du suivi. De plus, le taux de PTX3 augmente significativement le jour de la fièvre pour les patients neutropéniques qui développeront par la suite un sepsis ou sepsis sévère en comparaison aux patients avec neutropénie fébrile simple (NFS=1.12ng/mL VS S=1.12ng/mL p=0.002; NFS=1.12ng/mL VS SS=13.49ng/mL p=0.012). Ce résultat se confirme les jours suivant la fièvre.

Conclusion : Ces résultats indiquent que PTX3 pourrait être un marqueur prédictif de complication chez les patients neutropéniques atteints d'une hémopathie

Développement d'une téléconsultation innovante et pluriprofessionnelle d'évaluation du risque de chute au domicile de la personne âgée, au CHU d'Angers

Auteurs : M. Asfar (1), C. Annweiler (1,2), G. Duval (1)

- (1) Service de Gériatrie et Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, Centre de Recherche sur l'Autonomie et la Longévité, CHU d'Angers, UPRES EA 4638, Université d'Angers, UNAM, Angers, France
- (2) Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, The University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction : Les chutes des personnes âgées représentent un problème majeur de santé en raison d'une prévalence et d'une incidence élevée ainsi que des complications multiples. Au sein de cette population de patients âgés chuteurs, les troubles de la mobilité sont fréquents entraînant une potentielle difficulté d'accès aux soins et un besoin d'intervention de proximité. Néanmoins, le domicile de ces patients est fréquemment inadapté et comporte des facteurs de risque de chute nécessitant une évaluation dédiée de l'environnement. Une offre de soins répondant de façon spécialisée à la problématique de la chute de la personne âgée et au plus près du patient semble nécessaire.

Méthodes : Le Service de Gériatrie du CHU d'Angers, en collaboration avec la société DOMUS Prévention, a développé un acte de téléconsultation depuis Janvier 2021, représentant une solution innovante d'accès facilité à une évaluation spécialisée du risque de chute, au domicile du patient, pour les personnes âgées. Les patients pour lesquels ce modèle d'évaluation spécialisée est proposé sont identifiés en intra-hospitalier ou en extrahospitalier par leur médecin généraliste.

Résultats : Ce processus de téléconsultation hybride avec un ergothérapeute au domicile du patient et un gériatre en téléconsultation, répond à un besoin d'évaluation spécialisée de la chute de la personne âgée à son domicile avec un degré de satisfaction >9/10.

Conclusion : Une téléconsultation pluriprofessionnelle semble pertinente pour évaluer les personnes âgées à risque de chute à domicile.

Relation entre hypotension orthostatique et praxies mélokinétiques chez les personnes âgées : étude de cohorte GAIT

Auteurs : G. Duval (1,2), C. Godreau (2), C. Annweiler (1,2,3)

- (1) Département de médecine gériatrique ; Centre de Mémoire Universitaire ; Centre de Recherche sur l'Autonomie et la Longévité (CeRAL) ; CHU d'Angers, Angers, France
- (2) Faculté de Médecine et UPRES EA 4638, Université d'Angers, Angers, France
- (3) Robarts Research Institute, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction : L'hypotension orthostatique (HO) est responsable d'une altération des fonctions cognitives et semble toucher plus spécifiquement les fonctions exécutives et praxiques. Les mécanismes impliqués dans ce lien entre HO et fonctionnement cognitif ne sont pas totalement élucidés. Nous formulons l'hypothèse que l'HO pourrait être associée à la présence d'un trouble spécifique des praxies mélokinétiques.

Méthodes : Les participants sont issus de la cohorte GAIT recrutée entre novembre 2009 et novembre 2015. L'HO a été dépistée selon une procédure standardisée conforme aux bonnes pratiques cliniques. Les troubles des fonctions mélokinétiques ont été évalués par la séquence motrice de Luria comprise dans la Batterie Rapide d'Efficiency frontale (BREF).

Résultats : 363 patients ont été sélectionnés, d'âge moyen $72,6 \pm 4,4$ ans, et 61,7 % d'hommes. 52 patients avaient une HO, soit 14,3 % de la population. Le score moyen obtenu à la BREF était de $15,90 \pm 1,7/18$. L'analyse n'a pas trouvé d'association significative entre la présence d'une HO et le score à la BREF ($p = 0,195$). Une association a été trouvée entre l'HO et la séquence motrice de Luria ($p = 0,0024$), mais pas avec les autres sous-domaines de la BREF.

Conclusions : L'HO était associée à une séquence motrice de Luria pathologique comme marqueur d'un trouble des praxies mélokinétiques dans la cohorte GAIT. Les praxies mélokinétiques sont à la frontière entre les fonctions exécutives et les praxies mais sont sensibles pour mesurer les troubles praxiques. La relation entre l'HO et l'apraxie mélokinétique suggère la présence d'un facteur de risque cognitif de chutes causé par l'HO.

Prévalence de la iatrogénie chez la personne âgée chuteuse : étude «Pharma'Chute». Axes de prévention de la chute et de ses complications à l'officine

Auteurs : D. Dixneuf (1), M. Corvaisier (1), C. Annweiler (2,3), G. Duval (2)

(1) Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, CHU d'Angers, Université d'Angers, Angers, France

(2) Service de Gériatrie et Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, Centre de Recherche sur l'Autonomie et la Longévité, CHU d'Angers, UPRES EA 4638, Université d'Angers, UNAM, Angers, France

(3) Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, The University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction : Introduction : Les chutes de personnes âgées sont un problème de santé majeur en raison de la prévalence et de l'incidence élevées, ainsi que des conséquences et complications multiples. Certains médicaments sont responsables de chutes et de sévérité potentielle. Le but de cette étude était d'identifier quels médicaments sont le plus souvent consommés dans une cohorte de personnes âgées « chuteurs » et en particulier ceux associés à un diagnostic d'ostéoporose, fracture et hypotension orthostatique.

Méthodes : Étude rétrospective menée sur la consommation de médicaments des patients ayant consulté pour chute en Gériatrie au CHU d'Angers entre le 01/09/2017 et le 31/12/2018. Les médicaments, les changements de prescription, l'hypotension orthostatique, les fractures et le diagnostic d'ostéoporose ont été évalués.

Résultats : 75 patients ont été inclus, âge moyen de 85,3 ans et 74,7% de femmes. Le nombre moyen de médicaments par patient était de $7,8 \pm 3,3$. Associations significative : i) entre le groupe ostéoporotique et le traitement ISRS et un ajout de médicaments lors de la consultation ; ii) entre le groupe fracture et le sexe, la polymédication sévère et le traitement de l'ostéoporose ; et iii) entre l'hypotension orthostatique et le nombre de médicaments, la polymédication sévère, le traitement IPP, les dérivés de morphine et les opioïdes.

Conclusion : De nombreux médicaments jouent un rôle majeur dans le risque de chute des patients âgés. La collaboration entre le médecin et le pharmacien peut avoir un rôle de prévention de certaines chutes ou de leurs complications chez ces patients. Cette étude montre l'importance d'une bonne relation entre ces deux professionnels de la santé, à l'hôpital ou en ville.

Évaluation de l'utilisabilité des chaussures e-vone® (Parade Connect®) comme dispositif de détection des chutes chez les patients âgés hospitalisés dans le living lab hospitalier gériatrique du CHU d'Angers, étude EDORA

Auteurs : M. Guérin (1), F.Noublanche (1), C. Annweiler (1,2), G. Duval (1)

(1) Service de Gériatrie et Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, Centre de Recherche sur l'Autonomie et la Longévité, CHU d'Angers, UPRES EA 4638, Université d'Angers, UNAM, Angers, France

(2) Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, The University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction : La mortalité post-chute des personnes âgées est essentiellement liée aux complications métaboliques de la station au sol prolongée, ce qui renforce l'intérêt de réduire la durée de cet événement, notamment par des dispositifs d'alerte. Les dispositifs les plus répandus (collier ou bracelet à bouton poussoir) ont une efficacité limitée. Un système autonome et innovant, tel que les chaussures e-vone® (dispositif Parade Connect®) pourrait apporter un réel bénéfice. Objectif : évaluer l'utilisabilité « anticipée » perçue de patients hospitalisés au sein du Living Lab hospitalier du service de gériatrie du CHU d'Angers et par les soignants, en vue d'améliorer l'adéquation du dispositif Parade Connect® aux besoins et attentes des personnes âgées, et de réaliser un retour des usagers au fournisseur du dispositif.

Méthodes : 32 patients et 12 soignants ont répondu à un questionnaire créé et composé sur la base du System Usability Scale (SUS). L'utilisabilité perçue, l'ergonomie, l'utilité perçue et la volonté d'acquisition ont été évalués, ainsi qu'une comparaison des réponses des deux populations (patients - soignants).

Résultats : Le score moyen au SUS des patients était de 68,48/100 et des soignants de 84,16/100 (seuil d'utilisabilité à 70/100). Le dispositif n'est pas perçu comme stigmatisant par les participants. La volonté d'acquisition du dispositif était faible chez les patients et faiblement positive chez les soignants (pour une personne de leur entourage).

Conclusion : Il est difficile d'affirmer que le dispositif Parade Connect® est utilisable. Un retour d'utilisabilité peut être réalisé à l'industriel sur son produit, cependant, des études complémentaires restent nécessaires afin de tester le dispositif Parade Connect® dans son usage prévu pour recueillir l'utilisabilité « concrète ».

Le confinement lié au Covid-19 comme outil de dépistage des troubles cognitifs ?

Auteurs : M. Otekpo (1), C. Annweiler (1,2), G. Duval (1)

- (1) Service de Gériatrie et Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, Centre de Recherche sur l'Autonomie et la Longévité, CHU d'Angers, UPRES EA 4638, Université d'Angers, UNAM, Angers, France
- (2) Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, The University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction : Introduction : Face à la pandémie de COVID-19 causée par le SARS-Cov-2, de nombreux pays, dont la France, ont mis en place des mesures de confinement afin de limiter la propagation du virus, de diminuer le nombre de contaminations et ainsi réduire l'impact sur le système de soins. Cependant, les troubles cognitifs peuvent être responsables d'une incapacité à respecter le confinement.

Méthodes : Nous rapportons le cas d'une femme âgée de 76 ans qui met en évidence la découverte de troubles cognitifs par le non-respect des mesures gouvernementales de confinement après avoir été verbalisée en voiture à deux reprises puis adressée aux Urgences du CHU d'Angers à 90km de son domicile.

Résultats : Le non-respect du confinement lors de la 2ème vague épidémique de Covid-19 en France a permis de mettre en évidence chez cette patiente le diagnostic de troubles cognitifs.

Il est décrit que seule une personne sur deux atteintes de troubles neurocognitifs majeurs serait diagnostiquée en France même à des stades sévères de la maladie. Or l'impact du confinement sur cette population était alors inconnu jusque-là.

Conclusion : La verbalisation des personnes âgées pour non-respect des mesures de confinement ou la non-présentation d'une attestation de déplacement dérogatoire au cours de l'épidémie de coronavirus doit faire questionner, d'un point de vue médical, sur leur statut cognitif et leur capacité à appliquer les directives gouvernementales. Pour les personnes antérieurement diagnostiquées atteintes de troubles cognitifs, des adaptations des mesures gouvernementales doivent être mises en place pour limiter le risque individuel et collectif.

Estimation of a risk difference in a cluster randomized trial.

Auteurs : J. Pereira Macedo (1), B. Giraudeau (2),

(1) Université de Tours, INSERM, SPHERE U1246, France

(2) Université de Tours, Université de Nantes, INSERM, SPHERE U1246, Tours, France;
INSERM CIC1415, CHRU de Tours, Tours, France

Introduction : Cluster randomized trials (cRT) are usually analysed with a mixed model or a marginal modelling approach such as generalized linear mixed model (GLMM) or generalized estimating equation (GEE). When the outcome is binary a logit link function is classically used. This leads to express the results as a relative effect, with an odds ratio. Relative effects aren't clearly understandable and lead to an over-optimistic appraisal of the results. The CONSolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) statement recommends reporting both relative and absolute effect, which means, for binary data, to report a risk difference (RD).

Methods : We conducted a simulation study. We generated binary outcome and considered situations with multiple covariates at both individual and cluster levels. We used GEE to estimate an absolute or a relative intervention effect and then used the g-computation method to estimate a RD. We considered an exchangeable matrix correlation and considered Binomial (B), Poisson (P) and Gaussian (G) distributions with different link functions: identity (B, P and G), log (B and P) and logit (B).

Results : Preliminary results show convergence problems when a log link function was considered and covariates are included. Whatever the model used, we did not observed any bias, knowing that simulated covariates were not confounding factors. Coverage rates are lower than 95% when a small number of clusters are considered. They increase when the number of cluster increases but remains lower than 95%.

Conclusion : Models using an identity and logit link function seems the most appropriate to estimate a RD. These preliminary results will be expanded considering other simulation scenarii.

Impact of tumor heterogeneity & endothelial-mesenchymal transition on the response to treatment in non-small cell lung cancer

Clara Bourreau^{1,4}, Hichem Bouchenaki², Flavien Bessaguet², Sarah ElAli², Chadi Abbara², Marie Briet², Alice Boissard³, Cécile Henry³, Catherine Guette³, Delphine Fradin⁴, Lucas Treps⁴, Nicolas Clere¹

(1) Univ Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France (2) Service de Pharmacologie-Toxicologie et Pharmacovigilance, Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers, France (3) Université d'Angers, ICO - Institut de cancérologie de l'Ouest (Angers/Nantes), F-44000 Nantes, France (4) Nantes Université, INSERM UMR 1307, CNRS UMR 6075, Université d'Angers, CRCI2NA, F-44000 Nantes, France

Introduction: Non-small cell lung cancer (NSCLC) is one of the most common cancers worldwide. The mutational heterogeneity of NSCLC has enabled the development of new targeted therapies. However, this heterogeneity also exists within the tumor microenvironment (TME) where endothelial cells (ECs) promote tumor growth and dissemination, through angiogenesis and the endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT). Studies suggest that these two processes are involved in chemoresistance in several tumors, including NSCLC. Therefore, the aims of this study were (i) to evaluate the pharmacological profile of several anti-cancer drugs on NSCLC cell lines and (ii) to determine the role of their secretome on ECs.

Method: NSCLC cell lines (A549; H1755) and ECs (HUVECs) were selected for this study. 16 tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and 6 conventional chemotherapies (indicated or not as standard treatments in NSCLC) were chosen and tested for their action on tumor cell viability (CellTiter-Glo), evaluated by the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) 96h after drugs exposition. The impact of the conditioned media (CM) from A549 and H1755 lung adenocarcinoma cell lines was assessed on HUVECs after 48h and 72h of treatment and studied by flow cytometry (von Willebrand factor - vWF and α -smooth-muscle actin - α -SMA) and by functional tubulogenesis assay on ECMgel. The tumor secretome composition was analyzed using Data Independent Analyses (DIA) mass spectrometry to identify cues responsible for the EndMT induction.

Results: 6 TKIs (brigatinib, crizotinib, entrectinib, lorlatinib, osimertinib and trametinib) and 4 cytotoxic (etoposide, paclitaxel, pemetrexed and vinorelbine) drugs significantly inhibited A549 and H1755 cell proliferation. CM-treated HUVECs induced EndMT with a decrease of tube formation from 48h treatment. Moreover, a higher level of α -SMA⁺ ECs was observed at this same time while an increase was found at 72h treatment. Interestingly, mass spectrometry revealed the presence of EndMT-related proteins in CM from cancer cells, including FSP1 in CM from A549 or SPARC in CM from H1755.

Conclusion: These preliminary data showed that few TKIs inhibit cell proliferation compared to chemotherapies, as expected since TKIs target specific mutations that are not carried by our cell lines. Furthermore, the induction of EndMT through different components included into CM could also modify the response to antitumor drugs. In this context, it will be necessary to set up a model that can integrate the EndMT phenomenon into the pharmacological screening process. Components of the EndMT could also be new potential targets in the treatment of NSCLC.

OREMO : Outil de revalidation de la Reconnaissance des EMotions pour adultes cérébrlésés

Auteurs : S. BATRIN, M. CHAUMILLON, J. MASTEAU, C. EL AKIKI, N. AGUILLON-HERNANDEZ

(1) CFUO de Tours, Faculté de Médecine, Université de Tours

(2) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours

L'abstract doit être écrit en Arial 11, interligne 1.5, corps du texte justifié et ne doit pas excéder une page A4. Effacer ces deux phrases avant soumission.

Introduction : Fréquemment retrouvés chez les patients cérébrlésés, les troubles de la reconnaissance des émotions sont secondairement pris en soin en orthophonie, à travers des protocoles de rééducation de la cognition sociale, ou bien dans des protocoles spécifiques mais uniquement sur support visuel statique. Un support audiovisuel, plus proche du quotidien de ces patients et basé sur des stimuli dynamiques, semblerait plus pertinent. Une double validation, subjective et objective, paraît nécessaire afin d'obtenir les items les plus saillants. En effet, bien que des logiciels tels que FaceReader® soient performants pour analyser et interpréter une émotion, ils demeureraient moins efficaces que l'humain pour rendre compte de tout l'apport du flux d'informations auditives véhiculées par des stimulations audiovisuelles. L'objectif de ce mémoire est de créer un outil robuste, efficace et doublement validé puis d'évaluer son efficacité auprès de patients cérébrlésés.

Méthode : Pour cela, nous avons créé une banque de 669 items (photographies, enregistrements audios et vidéos) portant sur les six émotions primaires définies par Ekman (1987) : joie, colère, tristesse, peur, surprise, dégoût. Afin de ne garder que les items les plus saillants, nous les avons fait valider subjectivement auprès de vingt participants non-cérébrlésés et objectivement via le logiciel FaceReader®. Les items sélectionnés ont été utilisés pour le protocole. Celui-ci est constitué de 14 séances de revalidation. Chaque émotion est présentée isolément sur deux séances dédiées à l'analyse visuelle, auditive et audiovisuelle. Deux séances de distinction des émotions les plus confondues selon la littérature (peur et surprise / colère et dégoût) sont également proposées aux patients. Afin d'évaluer l'efficacité de l'outil OREMO, nous avons recruté quatre patients cérébrlésés dans cette étude préliminaire.

Résultats : La double validation nous a permis de sélectionner les 157 items les mieux reconnus par l'humain et par le logiciel, toutes modalités confondues. Ceux-ci ont constitué l'outil OREMO. Après revalidation via le protocole OREMO, les résultats obtenus aux lignes de base et aux tests normés de reconnaissance des émotions montrent une amélioration de la reconnaissance des émotions dans toutes les modalités (visuelle, auditive et audiovisuelle) chez tous les patients inclus dans l'étude.

Conclusion : OREMO semble efficace sur ce petit échantillon, c'est pourquoi une validation scientifique de cet outil sur davantage de patients est indispensable.

Characterizing the role of IL-34 in type 2 diabetes: towards a novel therapeutic strategy

Auteurs : Chloé Delépine (1), Laurence Preisser (1), Raffaella Soleti (1), Laetitia Basset (1), Yves Deleneste (1), Pascale Jeannin (1,2), Céline Beauvillain (1,2)

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

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

Introduction : Type 2 diabetes is mostly induced by obesity, and is characterized by sustained hyperglycemia linked to a decreased insulin tissue sensitivity associated to adipose tissue expansion and accompanied by inflammation. This inflammation leads to monocytes recruitment in the pancreas that will differentiate into proinflammatory macrophages. Macrophages play various roles in tissue homeostasis and repair, host defense and inflammation. They are plastic cells that polarize in different ways depending on the signal they receive. Among these signals, Interleukin 34 (IL-34) an alternative ligand for CD115 as well as M-CSF regulates macrophages survival and confers an immunoregulatory phenotype. In the laboratory, we have observed a constitutive production of IL-34 by β -cells from human pancreas Langerhans islets. Interestingly, this expression is increased in islets of type 2 diabetic patients. Moreover, data from literature have involved IL-34 in type 2 diabetes suggesting that this cytokine could be associated with insulin resistance in the disease.

Méthode: Therefore, we have set up a mouse model invalidated for the IL-34 gene in the pancreatic- β -cells (IL-34 ^{Δ Pdx1}). This in vivo model has allowed to measure metabolic parameters in physiological and type 2 diabetes conditions.

Résultats: In physiological conditions, we observed that female IL-34 ^{Δ Pdx1} mice are more insulin sensitive than control mice. Moreover, diet-induced obesity accelerates the insulin resistance process in control mice but not in IL-34 ^{Δ Pdx1} mice and is associated with steatosis areas significantly lower for IL-34 ^{Δ Pdx1} mice compared to Ctrl mice.

Conclusion: These preliminary results suggest that IL-34 could be a therapeutic target in diabetes due to its action on metabolic parameters associated with this pathology.

Characterization of a therapeutic approach to target TDP-43 pathology using intrabodies in Amyotrophic Lateral Sclerosis

Yara Al Ojaimi (1), Rudolf Hergesheimer (1), Anna Chami (1), Hugo Alarcan (1,2), Shanez Haouari (1), Jérôme Bourgeois (3), Olivier Herault (3), Patrick Emond (1), Patrick Vourc'h (1,2), Christian Andres (1,2), Philippe Corcia (1,4), Pierre Martineau (5), Débora Lanznaster (1), Hélène Blasco (1,2)

(1) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, INSERM, Tours, France.

(2) CHU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Tours, France.

(3) CNRS ERL7001, EA 7501 GICC, Université de Tours, Tours, France

(4) CHU de Tours, Service de Neurologie, Tours, France.

(5) Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier (IRCM), Montpellier, France.

Introduction: Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a progressive motor neuron disease that remains incurable. One hallmark of ALS is the presence of toxic cytoplasmic aggregates of the protein TDP-43 in $\geq 97\%$ of patients, rendering this protein a major therapeutic target. Thus, the aim of our study is to develop biotherapeutics targeting TDP-43.

Methods: By means of phage display of a library of small-chain variable fragments (scFv), we identified two clones (B1 and D7) exhibiting TDP-43-specific affinity. The binding of the scFv's to wildtype TDP-43 was assessed by ELISA and surface plasmon resonance (SPR). The scFv's were then expressed in HEK293T and NSC-34 cells. Their cellular localization, cytotoxicity, metabolomic alterations, and effect on TDP-43 proteinopathy were examined. The scFv's were then complexed to PEGylated SPIONs and their internalization into HEK293T cells was assessed.

Results: We confirmed by indirect ELISA the binding of the selected scFv's to purified wildtype TDP-43 and estimated by SPR a good affinity with a K_D of 5.59 nM. *In silico* binding site prediction revealed relevant, potential binding sites that are known to have roles in TDP-43 pathology. MTT reduction assay demonstrated that the scFv's were not toxic to cells, and immunofluorescence showed that the scFv's exhibited robust cytoplasmic expression. Immunoblots of lysates of cells overexpressing wildtype TDP-43 and expressing the scFv revealed that D7 decreased the levels of insoluble TDP-35 in HEK293T cells, while B1 decreased the activation of NF- κ B in NSC-34 cells. The scFv's also appear to reverse some metabolomic defects caused by TDP-43 proteinopathy. Finally, the complexation of scFv's to SPIONs increased by several folds the internalization of the scFv into target cells *in vitro*.

Conclusion: Overall, our results confirm the binding of our scFv's to wildtype TDP-43 and suggest a potential role in counteracting TDP-43 pathology. Further studies will focus on the identification of the exact binding site of the scFv's to TDP-43, and the study of the toxicity and effect on TDP-43 proteinopathy of the SPION/scFv nanoparticles in cellular and animal models of ALS.

Impact de l'acétoacétate sur les dysfonctions mitochondriales induites par le choc septique

Auteurs : M. Corre (1), P. Asfar (2), P. Jeannin (1)

(1) CRCINA UMR Inserm université d'Angers, Angers

(2) Service de Médecine Intensive et Réanimation, C.H.U d'Angers

Introduction : Le choc septique, stade le plus avancé du sepsis, est caractérisé par une réponse inadaptée de l'hôte à une infection et associé à une défaillance d'organes. Malgré une meilleure compréhension de la physiopathologie du choc septique, il existe peu de thérapie spécifique et la mortalité reste élevée. De nombreuses études ont montré l'implication des dysfonctions mitochondriales induite par le choc septique sur la mortalité des patients admis en réanimation. Dans ce contexte de crise énergétique, l'administration de corps cétoniques tel que l'acétoacétate (AcAc), utilisé comme substrat alternatif au glucose, est évoqué comme une approche thérapeutique innovante dans le traitement des dysfonctions mitochondriales.

Méthode : 12 patients en état de choc septique répondant aux critères de la classification sepsis-3 ont été inclus dans cette étude (service de réanimation médicale, C.H.U d'Angers). Les cellules mononucléées périphériques (PBMC) ont été isolées à partir du sang total et mis en culture en présence ou non d'AcAc ou de glucose. La dépolarisation mitochondriale, témoin des dysfonctions mitochondriales, a été mesurée par cytométrie en flux en utilisant des sondes fluorescentes MitoTracker Green (MTG) et MitoTracker DeepRed (MTDR). Les gènes de la biogenèse et de l'autophagie ont été analysés par RT qPCR.

Résultats : De manière intéressante, les résultats montrent une diminution de la dépolarisation mitochondriale des différentes sous-populations leucocytaires en présence d'AcAc accompagnée d'une augmentation d'expression des transcrits des gènes de l'autophagie et de la biogenèse supportant un renouvellement des mitochondries. De plus, en présence de glucose, aucun effet sur la dépolarisation mitochondriale ni sur les transcrits des gènes de l'autophagie et de la biogenèse n'est observé.

Conclusion : Cette étude identifie l'AcAc comme un substrat capable de normaliser le potentiel de membrane mitochondrial chez des sujets en choc septique.

Remodelage ventriculaire pathologique et signalisation purinergique : rôle émergent du récepteur-canal P2X4.

Auteurs : A. Vinhais da Silva⁽¹⁾, E. Miquelestorena-Standley⁽²⁾, S. Roger⁽¹⁾, D. Angoulvant⁽³⁾ T. Bourguignon⁽³⁾, F. Ivanès⁽³⁾

⁽¹⁾ Université de Tours, EA 4245 Transplantation, Immunologie et Inflammation

⁽²⁾ CHRU de Tours, Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Tours, France

⁽³⁾ CHRU de Tours, Service de cardiologie, Tours, France

Introduction : Le remodelage ventriculaire pathologique est un phénomène de cicatrisation anormale du cœur après un infarctus du myocarde (IDM) dont le mécanisme reste à ce jour inexpliqué. Notre hypothèse de travail est qu'il y a chez ces patients un maintien/résurgence d'une réponse inflammatoire tissulaire qui entraverait le processus de cicatrisation et serait associé à un profil purinergique spécifique. Parmi les acteurs possibles, le récepteur P2X4 attire notre attention par sa participation dans des phénomènes de stress cellulaire, notamment dans l'autophagie modulant ainsi le devenir de nombreux types cellulaires. Ce récepteur, sensible à l'ATP et exprimé au niveau des membranes lysosomales, pourrait ainsi être impacté lors de l'ischémie induite par l'IDM mais également par la libération du contenu cellulaire des cellules nécrosées (ATP), faisant de lui une cible potentielle.

Méthode : Dans un premier temps, nous avons étudié l'impact de l'ischémie (5 heures) et reperfusion (24, 48 heures) d'une part sur la différenciation des fibroblastes par l'étude de l'expression de l'alpha-actine muscle lisse (α SMA) et d'autre part sur le niveau d'expression de P2X4. Dans un second temps, nous avons bloqué l'activité de P2X4 à la reperfusion par son antagoniste spécifique 5-BdBd (5 μ M) pour déterminer son implication dans la différenciation des fibroblastes dans ces conditions. En parallèle, des études de cicatrisation ont été menées avec et sans l'antagoniste de P2X4 afin d'étudier son implication dans la capacité migratoire des fibroblastes.

Résultats : Après 48h de reperfusion, nous observons une diminution de l'expression d' α SMA chez les fibroblastes soumis à l'ischémie par rapport à la condition contrôle. De façon concomitante, nous observons une diminution de l'expression protéique de P2X4. L'utilisation de l'antagoniste 5-BdBd entraîne une diminution de l'expression de l' α SMA dans la condition normoxie mais n'a pas d'effet en ischémie, possiblement du fait de la diminution d'expression de P2X4. De plus, l'inhibition de l'activité de P2X4 semble également impacter la capacité migratoire des fibroblastes.

Conclusion : L'ensemble des résultats semble indiquer, qu'au cours du phénomène d'ischémie/reperfusion, il y aurait une diminution de l'expression de P2X4 s'accompagnant d'une moindre différenciation des fibroblastes cardiaques. Cela suggère un possible lien entre la présence/fonctionnalité de ce récepteur et le devenir des fibroblastes cardiaques.

Quelle nutrition au cours d'une chimiothérapie d'induction pour une LAM : entérale ou parentérale ? – Etude rétrospective bi centrique.

Schwarz M¹, Lebreton A², Lester M-A³, Lamy de la Chappelle T⁴, Houot R⁴, Giltat A¹, Orvain C^{1 5}, Hunault Berger M^{1 5 6}, Tanguy-Schmidt A^{1 5 6}.

1 Service des maladies du sang, CHU Angers, France

2 Pharmacie hospitalière, CHU Angers, France

3 Pharmacie Hospitalière, CHU Rennes, France

4 Service des maladies du sang, CHRU Rennes, France

5 Fédération hospitalo-universitaire « Grand Ouest against Leukemia »

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

Introduction. La dénutrition des patients d'onco-hématologie augmente la toxicité des traitements, majore le risque infectieux et/ou limite l'intensité des traitements proposés. Les nutritons entérales ou parentérales sont utilisées pour limiter la dénutrition chez ces patients. Au cours de l'allogreffe, la nutrition entérale permet une diminution du risque de maladie du greffon contre l'hôte grade III-IV et une amélioration de la survie. Chez les patients traités pour une leucémie aigüe myéloïde (LAM) peu de données sont disponibles pour orienter le choix du support nutritionnel. Notre étude a pour but de rechercher le meilleur support nutritionnel au cours de l'induction pour une LAM.

Matériel et méthode. Etude rétrospective bicentrique de tous les patients recevant une chimiothérapie d'induction pour une LAM entre janvier 2017 et mars 2022.

Résultats. 305 patients ont été inclus et analysés : 47 n'ont pas reçu de support nutritionnel, 129 ont reçu une nutrition entérale (NE) et 129 une nutrition parentérale (NP). L'âge médian des patients au diagnostic est de 60 ans [18-84]. Ils reçoivent les mêmes régimes de chimiothérapie. Les caractéristiques des patients des deux groupes « NE » et « NP » sont comparables à la prise en charge à l'exception de la répartition des patients PS0 (22% dans le groupe EN vs 34% dans le groupe NP $p=0.037$) et PS1 (70% dans le groupe EN vs 45% dans le groupe PN $p < 0.001$). Nous avons comparé les deux populations NE et NP soit 258 patients. La durée d'hospitalisation médiane de 33 et 34 jours dans les 2 groupes sans différence significative. Le pourcentage de perte de poids est plus important de façon significative dans le groupe NP, 6.8 % [3-9.8] vs 4.5% [1.7-7.5] dans le groupe EN ($p=0.047$). Concernant la toxicité, il existe une augmentation des hyperglycémies dans le groupe NP (45% vs 21%, $p < 0.0001$). Par contre, la tolérance est moins bonne dans le groupe EN avec plus d'arrêts prématurés de la nutrition (21% vs 9%, $p=0.0078$). Dans notre étude nous ne trouvons pas d'impact sur la survie globale du type de support nutritionnel reçu. Une perte de poids de plus de 5% n'impacte pas la survie globale.

Conclusion La NE semble être plus intéressante pour limiter la perte de poids chez les patients recevant une induction pour une LAM. Une étude prospective permettrait l'obtention de données plus robustes quant à la tolérance et à l'impact sur la procédure d'allogreffe.

Prophylaxie pré-exposition contre le SARS-CoV-2 : étude d'une cohorte régionale de patients allogreffés.

Schwarz M¹, Villate A², Guegan M³, Schmidt-Tanguy A^{1 6 8}, Giltat A¹, François S¹, Bouthry E⁴, Ducancelle A⁴, Le Pecheur V⁵, Dubée V⁷, Hunault-Berger M^{1 6 8}, Thépot S^{1 6 8}.

¹ Service des maladies du sang CHU Angers, France

² Service des maladies du sang CHU Rennes, France

³ Service des maladies du sang CHU Tours, France

⁴ Laboratoire virologie CHU Angers, France

⁵ Pharmacie hospitalière CHU Angers, France

⁶ Angers Inserm CRCINA, France

⁷ Service des maladies infectieuses et tropicales CHU Angers, France

⁸ Fédération Hospitalo-universitaire Grand Ouest Acute Leukemia FHU GOAL

Introduction : La transplantation de cellules souches hématopoïétiques (HSCT) est un facteur de risque d'infection grave par le COVID-19 avec un taux de mortalité élevé. L'avènement des vaccins a permis de réduire le risque de maladie grave et de mortalité lié au COVID-19. Cependant, les patients allogreffés ne présentent pas toujours une réponse vaccinale satisfaisante. Des combinaisons d'anticorps monoclonaux ont été développées comme prophylaxie pré-exposition au COVID-19 afin de limiter le risque de forme grave et de mortalité. Néanmoins, les patients allogreffés n'étaient pas représentés dans les études pivots qui ont conduit à l'utilisation précoce de cette prophylaxie. L'objectif de notre étude est donc d'évaluer la tolérance et l'efficacité des anticorps monoclonaux en prophylaxie pré-exposition chez les patients allogreffés.

Matériel et méthode : Étude rétrospective dans 3 centres hospitaliers universitaires (Angers, Rennes et Tours) de tous les patients allogreffés ayant reçu des associations d'anticorps monoclonaux après échec de la vaccination. Cette population a été comparée à une population témoin composée de tous les patients allogreffés suivis au CHU d'Angers ayant une réponse vaccinale après au moins 2 doses entre janvier 2021 et mars 2022.

Résultats : 138 patients ont été inclus. 36 patients ont reçu une prophylaxie pré-exposition au COVID-19 avec un anticorps monoclonal après échec vaccinal et 102 patients allogreffés ont obtenu une réponse vaccinale après au moins 2 doses. Les patients non répondeurs ont été vaccinés plus tôt par rapport à leur transplantation (19,6 mois vs 105 mois), étaient plus souvent sous immunosuppresseurs au moment de la vaccination. Sur le plan biologique, les non-répondants présentaient une hypogammaglobulinémie et plus de la moitié étaient lymphopéniques (nombre médian de lymphocytes < 1000 cellules/μL). 75 injections d'anticorps monoclonaux ont été réalisées (33 de casirivimab/imdevimab et 42 de tixagevimab/cilgavimab) chez ces 36 patients. Aucun événement indésirable significatif n'a été signalé. Il y a eu 5 cas d'infection COVID-19 non sévère et aucun décès lié à cette infection dans notre cohorte après un suivi médian de 107 jours.

Conclusion : Il existe un profil particulier de non-réponse à la vaccination chez les patients allogreffés, la plupart d'entre eux sont sous traitement immunosuppresseur, ont une GVH active, et la transplantation est récente. Ils présentent une hypogammaglobulinémie et une lymphopénie importante (marquée sur les CD4). Concernant les patients allogreffés qui ne répondent pas à la vaccination, il existe une très bonne tolérance des anticorps monoclonaux en prophylaxie pré-exposition au COVID-19.

Hypotension Orthostatique et fonctions exécutives :

Étude de la cohorte française MERE

Auteurs : GT. Duval (1), M. Asfar (1), J. Gautier (1), C. Annweiler (1,2,3)

(1) Department of Geriatric Medicine; University Memory Center; Research Center on Autonomy and Longevity (CeRAL); Angers University Hospital, Angers, France;

(2) School of Medicine and UPRES EA 4638, University of Angers, Angers, France;

(3) Robarts Research Institute, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Introduction : L'hypotension orthostatique (HO) est responsable de troubles cognitifs. Néanmoins, les fonctions cognitives et les mécanismes sous-jacents impliqués ne sont pas complètement élucidés.

Méthodes : Les participants de la cohorte MERE ont bénéficiés d'une recherche d'HO et d'une évaluation des fonctions exécutives par la Batterie Rapide d'Efficienc Frontale (BREF).

Résultats : 1 573 patients ont été sélectionnés. 338 patients avaient une HO, soit 21,5 % de la population. Nous avons trouvé une association transversale inverse linéaire entre l'HO et le score à la BREF. De plus, l'HO était associé à une séquence motrice de Luria pathologique.

Conclusion : L'HO était associée à un trouble des fonctions exécutives et à une séquence motrice de Luria pathologique représentant un trouble des praxies mélokinétiques, au sein de la cohorte MERE.

Apport de la dérivation chimique pour l'exploration ciblée d'un métabolome

Auteurs : Jérémy Monteiro (1), Antoine Lefèvre (1), Lydie Nadal-Desbarats (1), Patrick Emond (1,2)

(1) UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France

(2) CHRU de Tours, Service de Médecine Nucléaire In Vitro, Tours, France.

Introduction : L'étude de prélèvements biologiques par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide (LCMS) peut s'avérer complexe. Une grande diversité de composés coexiste et à des échelles de concentrations très différentes. La dérivation de fonctions chimiques par une étiquette chimique (TAG) peut être employée afin de cibler certaines classes chimiques présentes dans l'échantillon. Le TAG est choisi en fonction de sa réactivité avec le groupe fonctionnel ciblé associé à sa capacité d'ionisation pour une utilisation en LCMS. L'introduction d'un « motif moléculaire » à un ensemble de composés ayant en commun une fonction chimique permet de dégager des motifs de fragmentation communs. Le 3-nitrophenylhydrazine (3-NPH) est employé pour le marquage des carboxyles, des carbonyles et des phosphoryles. Cette approche offre la possibilité, à partir d'un nombre limité de standards, de sélectionner et d'identifier des composés ayant en commun un groupe fonctionnel. L'hypothèse de travail est que l'utilisation du 3-NPH pourrait permettre de cibler spécifiquement les métabolites contenant des fonctions carboxyles au sein d'un métabolome.

Méthode : Une solution de standards couvrant plusieurs fonctions chimiques et les matrices biologiques sont dérivées avec du 3-NPH puis analysées par un triple quadripôle (QqQ) et un Q-Orbitrap (QO). Ces analyses permettent de déterminer les t_R et de profiter des capacités des spectromètres (QqQ: haute sensibilité et spécificité vs. QO: haute résolution). Sur le QO, des motifs de fragmentations communs sont extraits. Ces motifs serviront à réaliser des analyses MS² dites Neutral Loss (NL) et Parent Ion (PI) afin d'identifier toutes les molécules dérivées sur le QqQ. De plus l'analyse par le QO, sur la base d'une perte de neutre caractéristique d'un composé dérivé aidera à l'identification de molécules contenues dans l'échantillon mais dont nous ne disposons de standards.

Résultats : Grâce à l'analyse de la solution de standards, les fragments 137m/z, 152m/z (liés au 3-NPH), 79m/z (spécifique aux phosphoryles) et une perte de 43m/z (spécifique aux acides gras) ont été identifiés. La superposition des différents chromatogrammes NL et PI permettent de déterminer quels pics chromatographiques correspondent à des composés dérivés et de ne se focaliser que sur ces composés pour une identification putative.

Conclusion : A partir de quelques standards, il est possible de dégager des motifs de fragmentation communs à des familles de composés dérivés au 3-NPH. L'utilisation conjointe d'un QqQ et d'un QO a permis d'augmenter le niveau de confiance de l'identification et permet d'explorer des sous-métabolomes des prélèvements biologiques, telle que celui des carboxyles.

Développement d'une approche RNAe (*enhancement*) permettant d'augmenter la traduction de protéines d'intérêt dans la Sclérose Latérale Amyotrophique

M. Vossels (1), S. Marouillat (1), D. Ung (1), C. Veyrat-Durebex (1,3), H. Blasco (1,3), P. Corcia (1,4), C.R. Andres (1,3), F. Laumonnier (1), K. Zaleta-Rivera (2), P. Vourc'h (1,3).

(1) UMR 1253, iBRAIN, Université de Tours, INSERM, Tours, France

(2) LE STUDIUM Loire Valley Institute for Advanced Studies, France

(3) CHU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Tours, France

(4) CHU de Tours, Service de Neurologie, Tours, France

Introduction : La SLA est une maladie neurodégénérative incurable caractérisée par la mort progressive des neurones moteurs. Pour pallier au dysfonctionnement synaptique survenant précocement dans la maladie, nous avons testé une nouvelle approche thérapeutique basée sur des lcnARN synthétiques, les SINEUPs, permettant d'améliorer l'efficacité de traduction d'ARNm cibles.

Méthode : Nous avons utilisé des ARN antisens ciblant dans la région 5'UTR les ARNm codant les synapsines (SYN I et II) et la synaptophysine (SYP), des protéines synaptiques participant à la synaptogénèse et au maintien synaptique. Ces ARN antisens ont été clonés dans un plasmide possédant le domaine effecteur SINE et codant la GFP, puis à partir de ces constructions des vecteurs viraux AAV9 exprimant ces SINEUP ont été produits.

Résultats : Nos études sur l'effet des SINEUPs au sein de la lignée motoneuronale NSC-34 ont montré une augmentation d'expression des protéines SYN I et SYN II A et B ainsi qu'une augmentation de de la protéine SYP. Nous avons également pu mettre en évidence une augmentation significative de la longueur des neurites pour nos différents SINEUP dans les cellules NSC34 différenciées. Nous avons par ailleurs produit un modèle *in vitro* de cultures primaires de neurones d'hippocampe présentant une réduction d'expression des protéines synaptiques cibles, comme observé dans la SLA, en traitant les cellules avec 1µM de Létrozole. En parallèle, nous avons testé des virus AAV9 exprimant les précédents SINEUPs sur des neurones. Ces expériences préliminaires ont montré une diminution d'expression de SYN et SYP dès 24h après traitement avec le Létrozole qui se prolonge à 72h. Nous avons également observé une expression de nos SINEUP dans les cultures de neurones après 10 jours de culture.

Conclusion : Nos résultats préliminaires sont très encourageants et pourraient participer à ouvrir la voie vers de nouvelles thérapeutiques dans les maladies neurodégénératives, et dans la SLA en particulier.

Caractéristiques et survie des patients avec insuffisance cardiaque terminale traités par assistance mécanique monoventriculaire gauche en bridge to transplantation ou en destination therapy à travers une cohorte nationale française rétrospective.

Auteurs : MG Mickaël. GUGLIERI (1), TG Thibaud GENET (2) / (1,2) CHU TOURS

Introduction : L'assistance à long terme par des dispositifs d'assistance circulatoire mécanique (ACM) durables tels que le dispositif d'assistance ventriculaire gauche (LVAD) chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque avancée offre des bénéfices en termes de survie et améliore la qualité de vie par rapport aux traitements conventionnels chez les patients inotropes-dépendants ou les patients présentant des contre-indications à la transplantation cardiaque. En utilisant les cohortes Intermacs comme référence, les LVAD représentent 92% de tous les patients assistés, les dispositifs d'assistance bi-ventriculaire (BIVAD) 6%, et les coeurs artificiels totaux (TAH) 2%. Les indications et les critères d'éligibilité pour l'implantation d'un LVAD sont proposés par l'American Heart Association (AHA) et l'European Society of Cardiology (ESC). En 2019, près de 3200 LVAD ont été implantés dans le monde.

Plusieurs cohortes concernant des receveurs de LVAD ou de greffes cardiaques sont disponibles dans la littérature mais sont majoritairement réalisées aux États-Unis. Il existe peu de données européennes ou françaises exhaustives récentes.

Objectifs : L'objectif de notre étude était de décrire les caractéristiques et les résultats des patients traités avec un dispositif d'assistance ventriculaire gauche en bridge to transplantation (BTT) ou en destination therapy (DT) grâce à une base de données nationale exhaustive.

Méthodes : Les données ont été obtenues à partir du programme français de médicalisation des systèmes d'information (PMSI) entre 2012 et 2020. La survie a été analysée par la méthode de Kaplan-Meier et les facteurs prédictifs de mortalité ont été déterminés par une analyse multivariée de Cox. Un appariement par score de propension a été réalisé pour équilibrer les facteurs de risque de morbi-mortalité.

Résultats : Cette cohorte rétrospective comprenait 1 517 patients porteurs d'un LVAD, 407 patients porteurs d'un LVAD en BTT et 1 110 patients porteurs d'un LVAD en DT. Les patients ayant reçu un LVAD en BTT étaient plus jeunes (51 ans vs 60 ans) et présentaient moins souvent des maladies rénales (11% vs 25 %) ou hépatiques chroniques (24 % vs 34 %). La survie à 1 an était significativement meilleure chez les patients traités avec un LVAD en BT que chez les patients implantés comme DT (92% vs 39%, Hazard ratio [HR] après appariement par score de propension 0,17 (IC 95% : 0,13-0,24 p<0,001).

Conclusion : En France, les LVAD restent le traitement de l'insuffisance cardiaque terminale chez les patients présentant peu de comorbidités en alternative ou en cas de contre-

indication à la transplantation cardiaque. Une implantation en bridge to transplantation est associée à de meilleurs résultats, semblant similaires à ceux de la transplantation cardiaque.

Binding of heparan sulfate to human cystatin C modulates inhibition of cathepsin L: putative consequences in mucopolysaccharidosis *

S. Denamur^{1,2,3*}, T. Chazeirat^{1,2*}, M. Maszota-Zieleniak⁴, R. R. Vivès⁵, A. Saidi^{1,2}, F. Zhang⁶, R. J. Linhardt⁶, F. Labarthe^{3,7}, S. A. Samsonov⁴, G. Lalmanach^{1,2}, F. Lecaille^{1,2,†}

¹ University Tours, Tours, France.

² INSERM, UMR 1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Team "Mécanismes protéolytiques dans l'inflammation", Tours, France.

³ Pediatric Department, Reference Center for Inborn Errors of Metabolism ToTeM, CHRU Tours, France.

⁴ Faculty of Chemistry, University of Gdańsk, Poland.

⁵ University Grenoble Alpes, CNRS, CEA, IBS, Grenoble, France.

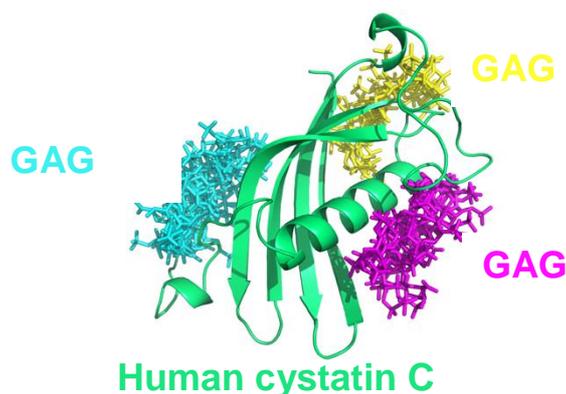
⁶ Center for Biotechnology and Interdisciplinary Studies, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York, USA.

⁷ INSERM, UMR 1069, Nutrition, Croissance et Cancer (N2C), Tours, France.

Introduction: Mucopolysaccharidoses (MPS) are a group of rare lysosomal storage diseases characterized by glycosaminoglycan (GAG) accumulation causing progressive multi-organs dysfunction and ultimately severe cardio-respiratory damages. Human cystatin C (hCC), a potent inhibitor of cysteine cathepsins, plays an important role in respiratory diseases. However, its regulation remained unknown in MPS.

Results: Herein, elevated hCC levels were measured in respiratory specimens from MPS-I, -II, and -III patients and were significantly correlated with severe respiratory symptoms ($r_s=0.7173$). Heparan sulfate (HS), a prominent GAG, dampened its inhibitory activity toward cathepsin L in a dose-dependent manner. HS and HS-oligosaccharides bound tightly hCC, in combination with a secondary structure rearrangement. Molecular modeling studies identified three HS binding regions in hCC, including the N-terminus, which is crucial in the inhibition of cathepsins.

Conclusion: Impairment of inhibitory potential of hCC may reflect abnormal regulation of proteolytic activity of cathepsin L in lung, ultimately contributing to the severity of MPS.



* *Carbohydr. Polym.* (2022) 293, 119734.

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

M.Couchot¹, B.Gobron¹, E.Legrand^{1,2}, B.Bouvard^{1,2}, G.Mabilleau^{1,3}

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

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

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

Introduction : Aside from the gut microbiome, evidence has been provided in the last decade that several intestinal peptides were important for controlling bone strength. Among all gut hormones, glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-2 (GLP-2) exhibited potential effects in increasing bone material properties and strength in preclinical models. Recent studies suggest that GIP and GLP-2 exert separate effects on bone turnover and that combined administration may represent a viable alternative to treat bone fragility. The aim of the present study was to develop a series of dual GIP/GLP-2 analogues and to validate their action and potency in vitro and in vivo.

Méthode : An in-silico program has been developed and led to the generation of several dual GIP/GLP-2 analogues. In vitro validation has been conducted to assess receptor binding, reduction of osteoclast formation and enhancement of bone material properties. Two best candidates, GL-0001 and GL-0007, were further tested in a mice model of ovariectomy-induced bone loss and compared with 100µg/kg zoledronic acid. Three-point bending, microCT and Fourier-transform infrared microspectroscopy were performed to evaluate bone strength, microarchitecture and bone material properties. Analyses of variance have been performed and considered significant at $p < 0.05$.

Résultats : In vitro, dual GIP/GLP-2 analogues demonstrated different potencies in binding to hGIPr or hGLP-2r, reducing osteoclast formation and increasing collagen maturity. GL-0001 but not GL-0007 increased bone strength in OVX mice by 37% ($p = 0.003$) and more importantly, the magnitude of effect was 27% higher than with zoledronic acid.

Conclusion : Interestingly, GL-0001 improved bone strength by enhancing significantly bone material properties and collagen maturity and limiting bone loss following ovariectomy.

This study highlights the potential of dual GIP/GLP-2 analogues for the treatment of bone fragility. Further studies are required to assess the potency of these molecules in humans.

Nouveaux modèles cellulaires d'étude et de ciblage thérapeutique de la muqueuse respiratoire

Auteurs : Virginie Vasseur¹, Pieter Hiemstra², Adeline Cezard¹, Coralie Mousset³, Gaëlle Fromont-Hankard³, Antoine Legras⁴, Antoine Guillon^{1,5}, Mustapha Si-Tahar¹

1. *Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Inserm U1100, Université de Tours ;*
2. *Department of Pulmonology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands ;*
3. *Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHRU de Tours, Inserm UMR 1069 ;*
4. *Service de Chirurgie Thoracique, CHRU de Tours, Inserm UMR 1069 ;*
5. *Médecine Intensive-Réanimation, CHRU de Tours ;*

Les travaux menés au sein de l'équipe 1 du Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR) visent à mieux comprendre la physiopathologie des infections respiratoires et à développer des stratégies innovantes de thérapies anti-infectieuses.

Les études précliniques indispensables au développement de nouveaux traitements impliquent des modèles animaux dont la valeur prédictive en santé humaine est parfois difficile et l'utilisation socialement discutable. Les lignées cellulaires sont quant à elles limitées par leur manque de représentativité des conditions physiologiques.

La culture de cellules isolées directement de tissus d'organismes vivants constituerait un bien meilleur modèle de l'état physiologique *in vivo*. En outre, cette approche réduirait considérablement le recours à l'expérimentation animale et améliorerait la pertinence biologique.

Dans ce contexte, nous avons développé une expertise originale autour de l'utilisation de cellules primaires épithéliales bronchiques humaines différenciées en interface air-liquide et d'un modèle d'organoïdes à partir de cellules épithéliales nasales humaines. Ces structures 3D récapitulent la réalité tissulaire avec 3 entités cellulaires (basales, ciliées et caliciformes) organisées autour d'un espace pulmonaire et également la physiologie pulmonaire (barrière épithéliale, production de mucus, battement ciliaire). Actuellement, nous développons également un modèle de culture organotypique de poumons murins et humains afin d'améliorer encore la transposabilité de nos résultats expérimentaux vers la clinique humaine.

Adaptation de la technique CRISPR-Cas9 chez *Scedosporium*

Auteurs : K. Ravenel (1), W. Poirier (1), A. Gastebois (1), S. Giraud (1)

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

Introduction

Les espèces du genre *Scedosporium* se situent au 2nd rang des champignons filamenteux associées à la mucoviscidose (après *Aspegillus fumigatus*), et présentent une faible sensibilité aux antifongiques actuellement disponibles. L'unité de recherche Infections Fongiques respiratoires s'intéresse aux mécanismes pathogéniques mis en œuvre par ces champignons afin notamment d'identifier des facteurs de virulence et de potentielles nouvelles cibles thérapeutiques.

Méthode

Le développement d'outils de génie génétique est par conséquent essentiel pour la réalisation d'études fonctionnelles. Le système naturel CRISPR-Cas9 découvert chez les bactéries offre de nouvelles opportunités pour l'édition des génomes fongiques, activité jusqu'alors laborieuse, peu efficiente et très consommatrice de temps.

Résultats et Conclusion

Le travail réalisé consiste en l'adaptation et l'optimisation de la technologie sur notre modèle d'étude fongique. Les résultats montrent que l'utilisation de complexes ribonucléoprotéiques CRISPR- Cas9 assemblés *in vitro* couplée à des modèles de réparation de l'ADN par micro-homologie constitue un système fonctionnel pour la manipulation des gènes chez *Scedosporium*. Les paramètres relatifs au design des complexes, ainsi qu'à la quantité de cassette de délétion ont ainsi pu être optimisés au sein d'une souche de *Scedosporium apiospermum* déficiente pour le système de réparation Non-homologous end joining (NHEJ).

Quels sont les facteurs de risque de morsure par les vipères en France ?

Une analyse spatiale à l'échelle communale

G Le Roux (1,2), M Guillon (3), L Bernard (1), L De Haro (4), O Lourdaï (3), A Descatha (1,2)

- (1) Centre antipoison et toxicovigilance Grand Ouest, CHU d'Angers, France
- (2) IRSET, Inserm UMR 1085, équipe 10 ESTER, Université d'Angers, Université de Rennes, Angers, France
- (3) Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, Chizé, France
- (4) Centre antipoison et toxicovigilance Sud, APHM, France

Introduction : Les études sur les vipères en France ont jusqu'à présent porté sur les conséquences cliniques de l'envenimation, l'efficacité de l'antivenin et l'épidémiologie des morsures. Nous avons adopté une approche originale et cherchant quels déterminants expliquaient les variations spatiale d'incidence des morsures de vipères.

Méthode : L'étude porte sur les morsures de vipères enregistrées au cours des 10 dernières années dans 4 régions de l'ouest de la France. Nous avons recherché les circonstances des morsures au niveau individuel et au niveau populationnel, à l'échelle communale, en considérant le risque de survenue d'au moins une morsure, ainsi que le nombre total de morsures par commune. Nous avons intégré les variables suivantes : probabilité de présence d'une vipère, espèce probable de vipère, données climatiques, taux de fonction touristique, artificialisation des sols et paysage.

Résultats : 703 cas de morsures ont été retenus avec des disparités importantes entre territoires. Les morsures sont survenues principalement au cours des 2^e et 3^e trimestres, avec un pic en juillet, soit lors d'une activité liée au jardin (339 cas, 51,2%) ou lors d'une activité « nature » (300 cas, 45,3%). La plupart des morsures (502 cas, 75,8%) résultent d'une rencontre fortuite avec l'animal. La probabilité de présence d'une vipère dans la commune influençait positivement le risque de morsure (multiplié par 3 pour une variation de probabilité de 0,25 à 0,5), de même que la température moyenne annuelle (+1°C multiplie le risque de 1,83 à 1,92). L'artificialisation des sols a eu un effet positif sur le risque de morsure. En particulier, plus le tissu urbain d'une commune est dense, plus le risque est élevé. Enfin, un taux de fonction touristique supérieur à 50 lits/100 habitants est fortement associé à une augmentation du risque de d'occurrence et du nombre de morsures.

Conclusion : Les morsures de vipères recensées dans notre étude sont concentrées sur le littoral sud des Pays de la Loire. Les villes côtières des Pays de la Loire et de la Bretagne et les paysages agricoles préservés sont des zones d'attraction touristique et offrent des habitats favorables aux vipères. Cette convergence de sélection d'habitats favorise les rencontres homme/animal. Il faut veiller à concilier les flux de population humaine avec la protection des habitats favorables au développement de la biodiversité.

The deadly dance of alveolar macrophages with influenza A virus

Camille David¹, Adeline Cezard¹, Virginie Vasseur¹, Émilie Barsac¹, Benoît Briard¹, Marion Ferreira^{1,3}, Mustapha Si-Tahar¹, Antoine Guillon^{1,2}

¹Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Inserm U1100, Université de Tours, Tours, France ;

²Service de Médecine Intensive et Réanimation, Centre hospitalier régional Universitaire (CHRU), Tours, France ;

³Service de pneumologie, Centre hospitalier régional Universitaire (CHRU), Tours, France

Influenza A virus (IAV) infection predisposes to subsequent bacterial superinfection in the lungs. *Streptococcus pneumoniae* (*Sp*) is the main bacteria involved in this co-infection process and promotes a greater pneumonia severity. Among host innate immune players, resident alveolar macrophages (AMs) are essential for lung protection against bacteria. From mice studies, the prominent paradigm claims that influenza infection induces almost total mouse AMs (mAMs) depletion, resulting in an increased vulnerability to secondary bacteria infection. Here, we demonstrate that contrary to mAMs, human AMs (hAMs) are not depleted by IAV *in vivo*. Furthermore, using several *ex vivo* AMs models, we show that IAV infects, replicates, and induces inflammatory response in both mAMs and hAMs. Interestingly, we observed an important difference in the level of Interleukin-1 β (IL-1 β) cytokine secretion and an exacerbated mortality of mAMs compared to hAMs after IAV infection.

Hence, we demonstrate that AMs from mice and humans are similarly infected by IAV but may have different outcomes regarding cell survival or programmed death. These observations are consistent with the absence of AM depletion in humans with influenza-related pneumonia. Also, our results suggest that AMs depletion cannot fully explain bacterial superinfection post-influenza.

Deciphering the underlying mechanisms may lead to a better understanding of the pathophysiology of bacterial superinfections in influenza-infected patients.

Key words: Alveolar macrophages, Influenza A virus, *Streptococcus pneumoniae*, Superinfection.

Development of succinate-based analogues and formulations against influenza virus infection

Virginie VASSEUR¹, Adeline CEZARD¹, Alexandre CAUMON², Antoine GUILLON¹, Nicolas TSAPIS², Sophie Le PODER³, Samir MESSAOUDI⁴ and Mustapha SI-TAHAR¹

1. Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Inserm U1100, Université de Tours;

2. Université Paris-Saclay, CNRS, Institut Galien, LabEx Nanosaclay, Orsay ;

3. UMR Virologie, INRAE-ENVA-ANSES, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est ;

4. Université Paris-Saclay, CNRS, BioCIS, Orsay.

Introduction: One of the top global causes of death worldwide is respiratory viral infections. Among these, influenza virus-related infections cause deadly epidemics and pandemics. Each year, seasonal influenza infects more than 1 billion people (i.e. ~20% of the world's population) and results in approximately 500,000 deaths. Vaccination efficacy can be impaired by viral intrinsic antigenic drift and the efficiency of drugs targeting directly influenza viruses is largely disputed. Hence, the development of innovative options is required to better treat influenza. In that regard, we recently demonstrated the antiviral activity of succinate (*EMBO J.*, 2022) as well as of “C2”, two host metabolites. In this project, our objectives are to synthesize succinate-derived drugs against influenza viruses, select the best candidates and test them *in vitro* and *in vivo*, and finally formulate them into dry powders for direct lung delivery.

Methods: A series of compounds are synthesized by a structure-activity relationship strategy. Various chemical modifications will be introduced in the “hit” compound in the aim to identify analogues with high activity and good druggability.

Results: A preliminary screening of a short series of commercially available analogues using human bronchial epithelial cells led to the identification of three new active compounds (coined “S1”, “S10” and “S11”). All have an antiviral and anti-inflammatory effect more potent than the natural metabolites succinate and C2. In an *in vivo* model of influenza pneumonia, mice treated at day 2 post-infection with these analogues resisted better than non-treated or C2-treated animals to a lethal dose of influenza virus (survival rate: 85%, 0%, and 50% respectively).

Conclusion: Our study will pave the way for the development of appropriate “drug-and-devices” that will help to administer these succinate analogues directly into the respiratory tract.

This project is funded through an ANR program.

Preventive nasal administration of flagellin protects against a multidrug resistant strain of *P. aeruginosa* by restoring antimicrobial effect of gentamicin

Authors : A. Maia (1)[◊], A. Cezard (1)[◊], D. Fouquet (1), B. Briard (1), V. Vasseur (1), J.C Sirard (2), M. Si-Tahar[•] (1), V. Herve[•] (1)

(1) INSERM U1100 - Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Faculté de médecine, Tours.

(2) INSERM U1019 - Institut Pasteur de Lille, Lille.

[◊] and [•]: equal contribution

Introduction : *Pseudomonas aeruginosa* (PA) is the most common pathogen associated with chronic respiratory disease exacerbations. The emergence of multidrug-resistant (MDR) strains have made such infections very difficult to eradicate and are associated with high mortality. Hence, therapeutic molecules that act on the host rather than on the pathogen have recently been considered appealing antibiotic adjuvants because they do not foster microbial resistance.

Bacterial flagellin activates the immune system through a Toll-like receptor 5 (TLR5)-dependent signalling mechanism. Given that TLR5 is widely distributed in the lungs, flagellin can be used as a host-directed adjuvant that could stimulate immune defence against PA infection. In this study, we aimed to evaluate the effect of prophylactic intranasal flagellin (FliC) against a MDR strain of PA (PA^{MDR}) and to assess possible synergistic effect with the antibiotic gentamicin (GNT).

Methods: C57BL/6 mice were treated intranasally with 10 µg of FliC or PBS (phosphate buffered saline) 24 hours before infection with PA^{MDR} strain. One hour post-infection (*p.i.*) the same mice received, or not, 15 mg/kg of GNT by intraperitoneal injection. Bacterial load, immune cell populations, chemokine/cytokine production and the aspect of the lungs were analysed 16h *p.i.*. Survival studies were also conducted.

Results: The lungs of mice that received both FliC and GNT did not show signs of inflammation, contrary to the control groups (infected non-treated, standalone GNT or standalone FliC-treated mice). The group that received the combination therapy had a significant reduction in PA^{MDR} bacterial load in the lungs which could be due to the concomitant increased phagocytes recruitment. Survival studies showed that while GNT alone was not able to considerably improve mice survival (25% vs. 10% survival of infected non-treated), the prophylactic administration of FliC in combination with GNT increased mice survival by 100%.

Conclusion: Our results suggest that a preventive nasal administration of flagellin restore GNT effect against a MDR strain of *P. aeruginosa*. Our data may pave the way for the use of flagellin in patients with chronic respiratory diseases, who are especially vulnerable to antibiotic-resistant *P. aeruginosa* infections.

This project is funded through a H2020-EU program (acronym: FAIR).

Mise en place des cultures d'IPSC, un nouvel outil pour la modélisation des maladies neurologiques

A. Dangoumau¹, D.C. Ung¹, F. Desprez¹, H. Blasco^{1,2}, P. Vourc'h^{1,2,3}, F. Laumonnier¹

- (1) UMR 1253 iBrain, Université de Tours, Inserm, Equipe 2 - Neurogénomique et Physiopathologie Neuronale
- (2) CHRU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, 37044 Tours, France
- (3) CHRU de Tours, Plateforme UTTIL; Département Génomique, PST ASB, Université de Tours

Introduction : Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC) sont un type de cellule souche pluripotente qui peut être générée directement à partir d'une cellule somatique. Les cellules souches pluripotentes ont le potentiel de se différencier en tout type de cellules présentes chez l'adulte, ce qui en fait un outil de choix pour modéliser de nombreuses pathologies humaines ou pour tester l'efficacité et la toxicité de molécules potentiellement thérapeutiques. Au sein de notre laboratoire, nous nous intéressons à la déficience intellectuelle et la sclérose latérale amyotrophique en ciblant particulièrement les neurones corticaux, les motoneurones et les astrocytes.

Méthode : A partir d'iPSCs contrôles, nous avons mis au point la différenciation de ces cellules iPSC en neurones corticaux (neurones glutamatergiques), en motoneurones et en astrocytes par l'utilisation de facteurs de croissance adaptés. A différentes étapes de la différenciation, nous avons vérifié par immunofluorescence la présence des marqueurs spécifiques pour chaque type neuronal.

Conclusion : Maintenant que les protocoles sont en place au sein du laboratoire, nous allons pouvoir commencer la différenciation d'IPSC de patients porteur de mutation ou non. L'utilisation de ces cellules nous permet d'avoir une source illimitée de cellules malades pour étudier les mécanismes des pathologies ou de tester des molécules thérapeutiques.

Impact of covid-19 on the influenza vaccine coverage in 2020-2021 in France

Authors: J. Abline (1), S. Faure (1,2), E. Fabre (3), A. Heymans (3), P. Artarit (3), A. Even (3), A. Chaslerie (3), S. Legeay (1,2)

(1) University of Angers, Faculty of Health, Pharmacy Department, F-49000 Angers, France

(2) University of Angers, Inserm, CNRS, MINT, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

(3) Medical Department, French Health Insurance System, Nantes, France

Background: The flu vaccination coverage in France is assessed every year and reveals insufficiencies regarding the fragile population. In 2020, the pandemic of covid-19, a new virus, takes place all over the world. With several symptoms known to be similar between the flu and covid-19, we expect to witness an impact on people's choice to receive the flu injection.

Methods: Data regarding the flu vaccination for people aged 65 and more were extracted from the French Health Insurance System and analyzed. A non-interventional multi-center survey in the department of Maine et Loire (France) was used for a qualitative analysis, based on answers from persons aged 68 and more.

Results: The flu vaccine coverage (Maine et Loire - France), among people aged 65 and more, improves since 2017 (54.36% in 2017-18 vs 58.12% in 2020-21). In 2020-21 (concomitantly to covid-19), people got vaccinated earlier than the previous year (peak in the weeks 1-2 *versus* peak in weeks 5-6 in previous campaigns), and a shortage of doses disturbed the 2020-21 campaign. This unprecedented situation, happening at the same time as the pandemic of covid-19, led the French government to purchase foreign flu vaccines. Of the 211 people that answered our questionnaire, 175 were vaccinated in 2020-21. Among them, 29.12% declared they were impacted when receiving the flu vaccine. The most cited reason was the need to feel safe from the virus; the second was the "awareness on the fact that virus can be contagious and deadly". The most influenced persons were the ones usually hesitant towards the flu vaccination, showing a new awareness on their vulnerability and on the needed protection brought by the vaccination.

Conclusion: Our study enlightens the covid-19 impact perceived by the eldest population (Maine et Loire) towards the flu vaccination. Despite having human consequences, the covid-19 pandemic was beneficial to the flu vaccine coverage, and positively changed people beliefs and behaviors towards the flu vaccination.