



Webinar IBSAM

Mardi 5 octobre 2021

10h-12h15

Lien BBB : <https://bbb-conference.univ-brest.fr/b/jaf-znp-ah6>



Webinar IBSAM
Mardi 5 octobre 2021

Lien d'accès BBB: <https://bbb-conference.univ-brest.fr/b/jaf-znp-ah6>

- 10h15-10h30 Connexion
- 10h30-11h Communications orales – Doctorants
- Marie Belaire** – LUBEM
« Qui sont les responsables du Dépérissement du Noyer en France ? »
- Dorsaf Malouch** – CEMCA
« Nouveaux composés amphiphiles pour l'inhibition de l'adhésion des bactéries marines »
- Estelle Ollivier** – GETBO
« Le récepteur P2X7 endothélial favorise la thromboembolie veineuse »
- 11h-12h15 Conférence
- Dr. Pascal Loyer**, Inserm, INRAE, Univ Rennes, Institut NUMECAN (Nutrition Metabolisms and Cancer) UMR-A 1341, UMR-S 1241, F-35000 Rennes, France
“Involvement of xenobiotic metabolism in manganese-dependent toxicity of the Maneb and Mancozeb pesticides at low doses in human hepatocytes”

Involvement of xenobiotic metabolism in manganese-dependent toxicity of the Maneb and Mancozeb pesticides at low doses in human hepatocytes

Kilian PETITJEAN¹, Yann VERRES¹, Nicolas BRUNO¹, Elise VENE¹, Catherine RIBAUT¹, Olivier HERAULT², Christophe OLIVIER³, Caroline ANINAT¹, Bernard FROMENTY¹, Anne CORLU¹, **Pascal LOYER¹**

1°) Inserm, INRAE, Univ Rennes, Institut NUMECAN (Nutrition Metabolisms and Cancer) UMR-A 1341, UMR-S 1241, F-35000 Rennes, France

2°) Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours, Service d'Hématologie Biologique, Cedex 9 Tours, National Center for Scientific Research ERL 7001 LNOx, Université de Tours, Tours, France

3°) Centre de Recherche en Cancérologie Nantes Angers, UMR INSERM 892, CNRS 6299, Université de Nantes, Service de toxicologie, Faculté de pharmacie de Nantes, Nantes, France

Pesticides remain extensively used in agricultural practices despite the development of alternative methods and evidences that professional exposure is associated with different types of diseases. The worldwide and intensive use of pesticides involves dissemination in rivers, spring water and soils but also in food as residues. Human exposure is therefore a major health issue. European Food Safety Agency established for each pesticide an Acceptable Daily Intake (ADI), which is a theoretical safety threshold for human health. Nevertheless, ADI does not consider potential cumulative effects of pesticide cocktails.

Our laboratory is involved in a multicenter study that aims at evaluating the effects of a cocktail of 7 pesticides (chlorpyrifos, dimethoate, iprodione, imazalil, diazinon, maneb, mancozeb) at low doses using different cell models including hepatic cells. These compounds are found frequently in human food. We have unveiled an important cytotoxicity of the cocktail towards hepatocytes-like HepaRG cells and human hepatocytes in primary culture following a single exposure at low concentrations extrapolated from the ADI. Interestingly, this toxic effect was not found for other hepatic cell lines such as cholangiocyte-like HepaRG cells or non-hepatic cells. This acute exposure triggers ROS overproduction, which leads to cell death by intrinsic apoptosis involving caspases 3 and 9. Moreover, we have demonstrated that the cocktail toxicity is carried by maneb and mancozeb, which both contain a manganese ion. Our investigations also revealed that toxicity is found only in cells metabolizing the 2 pesticides producing nontoxic metabolites and the release of manganese ion, which triggers ROS overproduction and apoptosis. Our results also showed that very low pesticide concentrations (ADI/5 to ADI/25) induce cytotoxicity upon chronic exposure of at least 14 days representing 8 repeated treatments of the cells.

In a second part of this work, we demonstrated that the pesticide mixture as well as maneb and mancozeb alone aggravated steatosis induced by oleic and stearic fatty acids in HepaRG cells maintained in culture conditions that slightly reduced the levels of hepatocyte differentiation and the toxicity of the pesticides. Importantly, we found that low dose of pesticides (\leq ADI/10) in absence of toxicity, strongly reduced the expression of both CYP2E1 and CYP3A4 at the mRNA levels and the corresponding catalytic activities, while the expression of other markers of liver specific functions such as albumin was not affected upon exposure to the mixture. These data suggest that pesticides and/or metabolites, at very low doses ($<$ ADI), alter the catabolism of xenobiotics in hepatocytes through the down-regulation of phase I enzymes.

Qui sont les responsables du Dépérissement du Noyer en France ?

Marie Belair^a, Adeline Picot^a, Cyrielle Masson^b, Marie-Neige Hébrard^c, Yohana Laloum^d, Agnès Verhaeghe^{b,d}, Gaétan LeFloch^a, Flora Pensec^a

a- Univ. Brest, LUBEM, EA 3882, UBO – marie.belair@univ-brest.fr

b- SENUA, 38160 Chatte, France

c- Station expérimentale de Creysse, 46600 Creysse, France

d- CTIFL, Centre opérationnel de Lanxade, 24130 Prigonrieux, France

Représentant plus de 25000 ha, la nuciculture française se positionne en deuxième place derrière les vergers de pommiers en termes de surfaces cultivées. Depuis 2013, des dépérissements de branches, des nécroses de fruits et des brûlures sont apparus comme étant de nouveaux symptômes majeurs dans les noyeraies françaises. Ces symptômes, largement répandus dans des pays à climat méditerranéen comme les États-Unis (Californie) ou encore l'Espagne, sont en général associés à des espèces de la famille des *Botryosphaeriaceae* et du genre *Diaporthe*^{1,2}. Ces agents fongiques présentent la capacité d'infecter les fruits puis d'atteindre les branches par le biais du pédoncule, pouvant alors aller jusqu'à provoquer la mort de l'hôte¹. Malgré l'émergence des symptômes de dépérissement en France depuis 2013, peu d'études ont porté sur l'identification des champignons responsables de cette maladie en France.

Dans ce contexte, notre étude vise à évaluer la diversité fongique retrouvée sur des noyers présentant des symptômes de dépérissement par méthode culture-dépendante et - indépendante. Pour ce faire, des fruits et des rameaux symptomatiques et asymptomatiques ont été prélevés en septembre 2020 et mai 2021 respectivement dans 12 vergers de noix des bassins de production nucicoles français du Sud-Ouest et du Sud-Est.

L'approche culturale a permis d'identifier jusqu'à 6 genres fongiques phytopathogènes incluant les genres *Diaporthe*, *Neofusicoccum*, *Botryosphaeria*, mais aussi *Alternaria*, *Colletotrichum* et *Fusarium*. L'analyse de la diversité fongique a permis de mettre en avant la prédominance du genre *Diaporthe* et de la famille des *Botryosphaeriaceae*, associés respectivement à 58,3 % et 63,3 % des fruits symptomatiques et 76,4 % et 39,6 % des rameaux symptomatiques dans les deux bassins de production. Par ailleurs, ces agents fongiques ont aussi été isolés en moindre quantité dans des échantillons asymptomatiques, confirmant leur caractéristique de pathogène latent³. Ces résultats seront comparés avec la liste des genres obtenus *via* l'approche culture-indépendante. Pour cela, une analyse par métabarcoding a été réalisée après avoir testé des couples d'amorces permettant de différencier les genres et/ou espèces d'intérêt⁴.

Références.

1- J. Moral, D. Morgan, A. Trapero, T.J. Michailides, *Plant Disease*, **2019**, 103(8): 1809-1827

2- S.F. Chen, D.P. Morgan, J.K. Hasey, K. Anderson, T.J. Michailides, *Plant Disease*, **2014**, 98(5): 636-652

3-B. Slippers and M.J. Wingfield, *Fungal Biology Reviews*, **2007**, 21(1-3): 90-106

4- A. Morales-Cruz, R. Figueroa-Balderas, J.F. Garcia, E. Tran, P.E. Rolshausen, K. Baumgartner, D. Cantu, *BMC Microbiol*, **2018**, 18(1): 214

Nouveaux composés amphiphiles pour l'inhibition de l'adhésion des bactéries marines

Dorsaf Malouch^{a,b}, Mathieu Berchel^a, Catherine Dreanno^b, Paul-Alain Jaffrés^a

a- Univ. Brest, CEMCA UMR 6521 CNRS/UBO. Dorsaf.Malouch@univ-brest.fr

b- IFREMER, Unité Recherche et développement technologique, Laboratoire Détection Capteurs et Mesures

La biocolonisation est un phénomène naturel, généralement décrit comme une succession d'étapes mettant en jeu des propriétés biologiques, physiques et chimiques relatives au milieu, à la surface immergée et aux organismes vivants¹. Ces propriétés font de ce phénomène un équilibre « dynamique » dont la compréhension du processus permet de proposer des stratégies de lutte efficaces. Les surfaces ou matrices inhibant la biocolonisation sont requises dans différents domaines (santé, traitement des eaux, transport maritimes...). Plusieurs approches sont actuellement envisagées, comme l'utilisation de peinture antisalissure à base de biocides² (dérivés de cuivre par exemple) ou encore des revêtements superhydrophobes. Actuellement ces deux procédés s'avèrent être les plus efficaces, cependant ils ne sont pas entièrement satisfaisants. Dans un contexte d'évolution de la législation, le défi est de développer des composés bio-inspirés et non-toxiques pour les organismes marins.

Les molécules amphiphiles dont la structure se rapproche des phospholipides, des glycolipides et des lipo-amino acides sont des candidats qui semblent posséder des propriétés intéressantes. Certains composés amphiphiles ioniques ont montré une activité antimicrobienne³, des composés zwitterioniques réduisent l'adsorption non spécifique des protéines⁴. On s'intéresse à la synthèse de composés amphiphiles tels que les phospholipides et à l'étude de leurs propriétés anti-fouling. Un ensemble de bactéries marines associées à la formation du biofilm ou présentant des propriétés de pathogénicité a été sélectionné, et l'effet sur la croissance et la formation du biofilm a été étudié.

Références.

- 1- Grasland, B.; Mitalane, J.; Briandet, R.; Quemener, E.; Meylheuc, T.; Linossier, I.; Vallee-Rehel, K.; Haras, D. Bacterial Biofilm in Seawater: Cell Surface Properties of Early-Attached Marine Bacteria. *Biofouling* **2003**, *19* (5), 307–313.
- 2- Chambers, L. D.; Stokes, K. R.; Walsh, F. C.; Wood, R. J. K. Modern Approaches to Marine Antifouling Coatings. *Surface and Coatings Technology* **2006**, *201* (6), 3642–3652.
- 3- Ghosh, S.; Ray, A.; Pramanik, N. Self-Assembly of Surfactants: An Overview on General Aspects of Amphiphiles. *Biophysical Chemistry* **2020**, *265*, 106-429.
- 4- McKeating, K. S.; Hinman, S. S.; Rais, N. A.; Zhou, Z.; Cheng, Q. Antifouling Lipid Membranes over Protein A for Orientation-Controlled Immunosensing in Undiluted Serum and Plasma. *ACS Sens.* **2019**, *4* (7), 1774–1782.

Le récepteur P2X7 endothélial favorise la thromboembolie veineuse

Estelle Ollivier^a Virginie Gourdou-Latyszenok^b, Francis Couturaud^c, Catherine Lemarié^d

a- Univ. Brest, GETBO, EA 3878, UBO estelleollivier.spocki@gmail.com

b, c, d- Univ. Brest, GETBO, EA 3878, UBO

La maladie veineuse thromboembolique (MVTE) touche 117 personnes pour 100 000 chaque année et est une cause importante de morbidité et de mortalité¹. La MVTE peut entraîner 1) la mort par embolie pulmonaire, 2) le syndrome post-thrombotique ou 3) une hypertension pulmonaire chronique entraînant une insuffisance respiratoire chronique importante. L'inflammation est intimement impliquée dans les mécanismes de la maladie veineuse thromboembolique. Dans des conditions pathologiques, l'adénosine triphosphate (ATP) est libérée dans le compartiment extracellulaire et est reconnue comme un signal de danger. Des données récentes ont indiqué que le système CD39/CD73 impliqué dans le métabolisme de l'ATP en AMP pourrait protéger contre la thrombose en régulant négativement la voie pro-inflammatoire de l'inflammasome². L'ATP peut également interagir avec le récepteur P2X7 impliqué dans l'inflammation provoquant un large éventail de réponses³. Nous avons émis l'hypothèse que le récepteur P2X7 exprimé dans les cellules endothéliales contribue à la maladie veineuse thromboembolique.

Des cellules endothéliales de type HUVEC ont été incubées avec du BzATP, de la thrombine ou les deux. Dans certaines expériences, les HUVEC ont été en plus pré-activées avec du TNF α . Nous avons réalisé des analyses d'immunofluorescence, de western blot et de PCR quantitative en temps réel pour évaluer l'expression de P2X7 par les cellules endothéliales, l'activation de p38 et de NF κ B et l'expression de gènes pro-inflammatoires et pro-coagulants.

Nous avons confirmé que les cellules endothéliales exprimaient le P2X7 in vitro dans les HUVEC et in vivo après induction d'une thrombose veineuse par ligature de la veine cave inférieure. Le traitement des cellules endothéliales avec du BzATP et de la thrombine induit l'activation des voies de signalisation p38 et NF κ B. Ceci a été associé à une expression accrue de l'IL-1 β et du facteur tissulaire et à une régulation négative de l'expression de la thrombomoduline.

Nos données suggèrent que l'ATP libéré dans l'espace extracellulaire à la suite d'une lésion ou d'une activation cellulaire induit l'inflammasome dans l'endothélium via l'activation du P2X7. Le récepteur P2X7 pourrait avoir un rôle pro-thrombotique exacerbant la maladie veineuse thromboembolique.

Références.

- 1- S. Bouée, C. Emery, A. Samson, J. Gourmelen, C. Bailly and F-E. Cotté. *Thrombosis Journal*. **2016**, 14,4.
- 2- C. Furlan-Freguia, P. Marchese, A. Gruber, Z.M. Ruggeri and W. Ruf. *J Clin Invest*. **2011**, 121,2932.
- 3- B.G. Shokoples, P. Paradis, E.L. Schiffrin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2021**,41,186.