



# 4<sup>ème</sup> Journée Scientifique du CRNH Auvergne

Pôle Physique des Cézeaux, 24 novembre 2011

Organisation : Bureau CRNH Auvergne



# PROGRAMME

**8h00 Accueil, installation des posters**

**9h00 Introduction (N Cano)**

**9h15-10 h00 Tissus osseux et musculaire (D. Taillandier)**

- CO1 Muscle actin is polyubiquitinated *in vitro* and *in vivo* and targeted for breakdown by the E3 ligase MuRF1.  
C. Polge, A. E. Heng, M. Jarzaguet, S. Ventadour, A. Claustre, L. Combaret, D. Béchet, M. Matondo, S. Uttenweiler-Joseph, B. Monsarrat, D. Attaix and D. Taillandier.
- CO2 Aging-associated oxidative stress enhances mitochondrial respiration in skeletal muscle of senescence-accelerated mouse-prone 8 (SAMP8) model  
V. Barquissau, C. Feillet-Coudray, Anne Galinier, C. Jouve, V. Patrac, J.-P. Rigaudière, P. Rousset, J. Rieusset, J.-M. Chardigny, B. Morio
- CO3 Stress oxydant, GPR40, lipides et remodelage osseux  
C. Philippe, F. Wauquier, S. Mercier, L. Léotoing, P. Lebecque, M-J Davicco, V. Coxam et Y. Wittrant

**10:00- 10:30 pause**

**10h30 –11h15 Cancers hormono-dépendants (C. Beaudoin)**

- CO4 LXR and their targets genes during prostate carcinogenesis  
J. Dufour, E. Viennois, A. Pommier, F. Caira, JM Lobaccaro, S. Baron
- CO5 Influence du microenvironnement adipocytaire dans la cancérogenèse mammaire  
L. Delort, C. Lequeux, V. Dubois, H. Billard, O. Damour, MP. Vasson, F. Caldefie-Chézet
- CO6 Un régime hypercalorique modifie l'activité des cellules NK et accélère le développement tumoral mammaire : approche expérimentale chez la souris « nude »  
B. Lamas, S. Rougé, A. Rossary, G. Garrait, L. Delort, H. Billard, N. Goncalves-Mendes, F. Caldefie-Chézet, M-P. Vasson, M-C. Farges

**11h15 -12h05 Conférence - Samar Basu**

"Oxidative stress and its regulation by polyunsaturated fatty acids"

**12:15 – 13 :30 Repas**

### **13h30 – 14h15      Tractus gastro-intestinal (V. Livrelli)**

- CO7            La colite spontanée chez les souris déficiente pour Toll-like récepteur 5 est liée à une incapacité à contrôler le microbiote  
F. A. Carvalho, A. Darfeuille-Michaud, A. T. Gewirtz
- CO8            Développement de modèles animaux dans l'étude de la physiopathologie de l'hypersensibilité colique chez la souris  
M. Meleine, A. Gelot, E. Muller, D. Ardid
- CO9            Rôle du microbiote intestinal dans la physiopathologie du syndrome de l'intestin irritable.  
L. Crouzet, E. Gaultier, E. Delmas, C. Del'Homme, J. Fioramonti, A. Bernallier Donadille

### **14h15 – 15h45      Posters**

**15:45 - 16:00 Pause**

### **16h00 – 16h45      Pathologie dégénérative cardiovasculaire (B. Comte)**

- CO10           Citrus flavanones exert cardiovascular protective effects  
D. Milenkovic, A. Chanet, C. Deval, J-F. Martin, D. Bayle, S. Thien, M. Rambeau, C. Dubray, A. Mazur, C. Morand
- CO11           Immunodétection des adduits aldéhydiques de type hydroxyalkénal dans le protéome et le tissu aortique de souris athérosclérotiques – mise au point méthodologique  
L. Joumard, M. Zmojdzian, N. Gerard, S. Thien, Y. Sadok, P. Brachet, B. Comte, E. Rock, C. Gladine, A. Mazur
- CO12           Mise en évidence de modifications du protéome de cellules de la lignée cardiomyoblastique H9c2 par la carence en précurseurs de méthyles  
E. Martinez, N. Gérard, C. Deval, M. Rambeau, E. Roche, P. Gérard, A. Mazur, J-L. Guéant, B. Comte, P. Brachet

# POSTERS

## Tissus osseux et musculaire (C Guillet - L Mosoni)

- P1 Effect of a chronic intake of high dietary glycated-proteins on skeletal muscle protein metabolism during aging in normal rats  
H. Murakami, G. Henry, J. Leonil, C. Giraudet, P. Rousset, A. Masgrau, S. Warland, Y. Boirie, C. Guillet
- P2 Tibialis anterior muscle atrophy following immobilization in the rat is associated with sustained activation of proteolytic and apoptotic pathways during the early stages of recovery  
L. Slimani, A. Dubost A, B. Meunier, D. Dardevet, D. Attaix, A. Listrat, L. Combaret
- P3 Une supplémentation en leucine suite à une atrophie induite par une immobilisation par plâtrage chez le rat âgé améliore le métabolisme protéique musculaire mais n'améliore pas la récupération de masse musculaire.  
H. Magne., I. Savary-Auzeloux, C. Sornet, C. Migne, L. Combaret, D. Remond, D. Dardevet
- P4 Syndrome métabolique et vieillissement : effet sur le muscle squelettique humain  
M. Gueugneau, C. Coudy-Gandilhon, B. Meunier, C. Barboiron, A. Listrat, L. Feasson, M. Ravelojaona, J-C. Barthelemy, B. Picard, D. Bechet
- P5 Borage and fish oils supplementation effects on bone health in a murine model of senile osteoporosis.  
F. Wauquier, V. Barquissau, L. Léotoing, M-J. Davicco, P. Lebecque, S. Mercier, C. Philippe, E. Miot-Noirault, J-M. Chardigny, B. Morio, Y. Wittrant, and V. Coxam
- P6 Implication d'un récepteur membranaire aux acides gras dans les mécanismes du remodelage osseux  
F. Wauquier, C. Philippe, L. Léotoing, S. Mercier, P. Lebecque, T. Alquier, V. Poitout, M-J. Davicco, J. Guicheux, E. Miot-Noirault, V. Coxam et Y. Wittrant
- P7 Implication de la qualité des lipides alimentaires dans la réponse inflammatoire postprandiale chez l'homme sain. -Effet de l'âge-  
N. Tardif, E. Gadéa, J. Salles, C. Boue-Vaysse, C. Malpuech-Brugère, C. Guillet, A. Hssain, J. Léger-Guist'hau, N. Cano, C. Giraudet, V. Patrac, J-F. Landrier, Y. Boirie, S. Walrand
- P8 Le patient transplanté rénal présente un hyper métabolisme énergétique  
C. Montaurier, A-E.Heng, N. Caillot, A. Blot, N. Meunier, B. Morio

## Pathologie dégénérative cardiovasculaire (P. Brachet - D. Milenkovic)

- P9 Exploration of the molecular mechanisms involved in the anti-atherogenic effects of polyphenols in experimental mouse models of atherosclerosis by a transcriptomic approach  
D. Milenkovic, C. Deval, D. Coban, A. Chanut, A. Mauray, A. Mazur, C. Morand
- P10 Modulation of expression of miRNA by polyphenols: potential new molecular target underlying their health effects  
D. Milenkovic, C. Deval, A. Scalbert, C. Morand, A. Mazur

- P11 Citrus flavanone metabolites decrease monocyte adhesion to endothelial cells and modulation of expression of related gene in vitro  
A. Chanet, D. Milenkovic, M. Khan, S. Shinkaruk-Poix, A. Bérard, C. Bennetau-Pelissero, A. Mazur, C. Morand
- P12 Impact of circulating cocoa flavanol metabolites on adhesion process in human endothelial cells  
S. Claude, D. Milenkovic, N. Gerard, A. Mazur and C. Morand
- P13 Influence of [Mg<sup>2+</sup>/Ca<sup>2+</sup>] imbalance on non-specific immune response  
P. Libako, J. Galli, W. Nowacki, A. Mazur
- P14 Hesperidin is causally linked to the vascular protective effect of orange juice – implication of nutrigenomic effect  
D. Milenkovic, A. Chanet, C. Deval, C. Dubray, A. Mazur, C. Morand
- P15 Fructose-fed rat model of metabolic syndrome and its dietary modulation: a nutrigenomic approach  
A. Mazur, D. Milenkovic, R. Llorach, M-H. Rault, S. Polakof, C. Demougeot, D. Bayle, B. Lyan, J-F. Martin, E. Pujos, B. Comte
- P16 Dietary curcumin exhibits antiatherogenic effect by modulating the expression of genes involved in leukocyte adhesion and transendothelial migration  
D. Coban, D. Milenkovic, A. Chanet, J. Khallou-Lasche, L. Sabbe, W. Vanden Berghe, A. Mazur, C. Morand
- P17 Naringin, the major grapefruit flavonoid, presents anti-atherogenic property in diet-induced hypercholesterolemia in mice  
A. Chanet, D. Milenkovic, C. Bennetau-Pelissero, A. M. Bérard, A. Mazur, C. Morand
- P18 Effet d'une supplementation en oméga-3 sur des cardiomyocytes de patients atteints d'athérosclérose coronaire - étude préliminaire  
M. Farhat, K. Azarnoush, B. Laillet, J-P. Rigaudière, V. Batel, L. Camilleri, B. Morio, J-M. Chardigny, C. Malpuech-Brugère

## Tractus gastro-intestinal (N. Barnich – A. Gelot)

- P19 Implication du canal calcique voltage dépendant Cav3.2 dans l'hypersensibilité colique d'origine inflammatoire  
L. Boudieu, M. Mathieu, E. Chrétien, A. Gelot, D. Ardid
- P20 Nouveaux biomarqueurs du carcinome hépatocellulaire : premiers résultats de l'analyse métabolomique par spectroscopie RMN-<sup>1</sup>H  
D. Morvan, A. Abergel, C. Teilhet, A. Demidem
- P21 High fat diet modulates gut microbiota composition, favors aiec colonization and promotes inflammation in cebac10 mice  
M. Martinez-Medina, J. Denizot, E. Billard, A. Darfeuille-Michaud, N. Barnich
- P22 Etude en conditions coliques simulées des propriétés antagonistes de levures du genre *Saccharomyces* vis-à-vis des *Escherichia coli* entérohémorragiques O157:H7  
J. Thévenot, V. Livrelli, L. Etienne-Mesmin, S. Denis, S. Chalancon, M. Alric, S. Blanquet-Diot
- P23 Etude de l'influence du régime alimentaire dans le développement d'une inflammation colique chez le rat.  
A. Bousenna, J. Joubert-Zakeyh, A. Rossary, D. Fraisse, O. Texier, M-P. Vasson, C. Felgines

## Cancers hormono-dépendants (C. Aubel – S. Baron)

- P24 La consommation de saumon au cours de la grossesse modifie-t-elle la disponibilité en acides aminés pour la mère et le fœtus ?  
A. Rossary, M-C. Farges, S. Rougé, B. Liaset, L. Froyland, P. C. Calder, M-P Vasson.
- P25 Obésité et cancérogenèse mammaire : implication du microenvironnement tumoral adipocytaire.  
V. Dubois ; L. Delort ; H. Billard; T. Jarde ; S. Perrier ; M-P. Vasson ; F. Caldefie-Chezet
- P26 Variation de poids et mécanismes impliqués, au cours du traitement par chimiothérapie des patientes atteintes d'un cancer du sein non métastatique  
E. Gadéa, E. Thivat, B. Morio, X. Durando.
- P27 limiter les complications de la radiochimiothérapie (rct) des cancers de la tête et du cou : effet d'une immunonutrition  
C. Bouteloup, J. Talvas, A-F. Dillies, P. Bachmann, A-C. Achim, D. Pezet, P. Pommier, S. Racadot, M. Ramdani. M-P. Vasson
- P28 Comparaison du Taux de Méthylation du Promoteur de BRCA2 dans l'ADN du Sang Périphérique dans une Etude Cas-Témoins de Cancer Sporadique du Sein en Auvergne  
N. Sonnier, R. Bosviel, J. Durif, M. Mebrek, J. Guo, F. Kwiatkowski, Y-J. Bignon, D. Bernard-Gallon
- P29 Méthylation de l'ADN, Phyto-œstrogènes et Cancer du Sein et de l'Ovaire  
R. Bosviel, Y-J Bignon, D. Bernard-Gallon
- P30 Phyto-œstrogènes du soja et modification de la méthylation de l'ADN : Etude quantitative dans 2 lignées continues de cancer de la prostate, DU-145 et PC-3.  
M. Adjakly, R. Bosviel, N. Rabiau, M. N'N'Gollo, J-P. Boiteux, Y-J Bignon, L. Guy, D. Bernard-Gallon
- P31 Approche fonctionnelle et moléculaire des systèmes de réparation de l'ADN de type BER chez la drosophile : 1ère étape vers l'analyse globale de ces systèmes dans des cellules prostatiques cancéreuses  
L. Cruz-Rodriguez, P. Dubessay, I. Balandier, M. Chéron, S. Jacquard, S. Caillat, V. Agier, F. Morel, P. Lachaume, S. Alziari, S. Sauvaigo et P. Vernet

# **COMMUNICATIONS ORALES**

## CO1

### **Muscle actin is polyubiquitinated in vitro and in vivo and targeted for breakdown by the E3 ligase MuRF1.**

**C. Polge, A. E. Heng, M. Jarzaguet, S. Ventadour, A. Claustre, L. Combaret, D. Béchet, M. Matondo, S. Uttenweiler-Joseph, B. Monsarrat, D. Attaix and D. Taillandier**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[cpolge@clermont.inra.fr](mailto:cpolge@clermont.inra.fr)

Muscle atrophy prevails in numerous diseases (cancer cachexia, renal failure, infections, etc.), mainly results from elevated proteolysis, and is accelerated by bed rest. This largely contributes to increased health costs. Devising new strategies to prevent muscle wasting is a major clinical challenge. The ubiquitin proteasome system (UPS) degrades myofibrillar proteins, but the precise mechanisms responsible for actin breakdown are surprisingly poorly characterized. We report that chimeric flag-actin was destabilized and polyubiquitinated in stably transfected C2C12 myotubes treated with the catabolic agent dexamethasone (1  $\mu$ M) and that only proteasome inhibitors blocked its breakdown. Actin polyubiquitination was also detected in wild-type C2C12 myotubes and human muscle biopsies from control participants and patients with cancer. The muscle-specific E3 ubiquitin ligase MuRF1 is up-regulated in catabolic conditions and polyubiquitinates components of the thick filament. We also demonstrate that recombinant GST-MuRF1 physically interacted and polyubiquitinated actin in vitro and that MuRF1 is a critical component for actin breakdown, since MuRF1 siRNA stabilized flag-actin. These data identify unambiguously the abundant contractile protein actin as a target of the UPS in skeletal muscle both in vitro and in vivo, further supporting the need for new strategies blocking specifically the activation of this pathway in muscle wasting conditions.

## CO2

### **Aging-associated oxidative stress enhances mitochondrial respiration in skeletal muscle of senescence-accelerated mouse-prone 8 (SAMP8) model**

**V. Barquissau, C. Feillet-Coudray, A. Galinier, C. Jouve, V. Patrac, J.-P. Rigaudière, P. Rousset, J. Rieusset, J.-M. Chardigny, B. Morio**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[beatrice.morio@clermont.inra.fr](mailto:beatrice.morio@clermont.inra.fr)

We aimed at investigating the association between aging-associated oxidative stress and impairments in muscle mitochondrial functioning, which may themselves contribute to the development of chronic metabolic diseases such as insulin resistance and type 2 diabetes.

Twelve month-old mice from the aging model *senescence-accelerated mouse (SAM) prone-8* strain, supplemented (P8-NAC) or not (P8) with 10mg/d N-acetylcysteine, and their controls from the *SAM resistant-1* strain (R1) were used for assessment of the oxidative status and mitochondrial function in skeletal muscle.

P8 mice displayed a higher oxidative stress than R1 evidenced by an increased muscle activity of xanthine oxidase (+79%,  $p=0.03$ ) and a decreased activity of MnSOD (-24%,  $p=0.02$ ), although the increase in muscle carbonylated proteins content was not significant (+29%,  $p=0.12$ ,  $n=4$ ). Respiration measurements in muscle-isolated mitochondria revealed higher complex I- as well as complex II-stimulated maximal respiration (P8 vs. R1: +34% and +37%,  $p=0.05$  and  $p=0.02$ , respectively), the respiratory control ratios (RCR) being similar between strains. Complex II maximal activity and mitochondrial coenzyme Q9 ( $p=0.10$ ) and Q10 ( $p=0.02$ ) content were higher in P8 compared to R1 ( $p=0.01$ ). By contrast, complex I enzymatic activity was 22% lower in P8 compared to R1 ( $p=0.03$ ). All these strain differences were significantly reversed in P8-NAC. Strain and NAC supplementation had no effect on CREB-P and PGC-1 $\alpha$  protein content.

In this model of aging, increased mitochondrial respiration with unaltered RCR suggests that the mitochondrial biogenesis pathway might be induced by oxidative stress. However, this could not be evidenced based on CREB-P and PGC-1 $\alpha$  protein content. These adaptations can be explained by the rise of complex II activity and/or of ubiquinone expression, a coenzyme involved in the transport of electrons and with antioxidant properties.

# CO3

## Stress oxydant, GPR40, lipides et remodelage osseux

**C. Philippe<sup>1,2</sup>, F. Wauquier<sup>1,2</sup>, S. Mercier<sup>1,2</sup>, L. Léotoing<sup>1,2</sup>, P. Lebecque<sup>1,2</sup>, M-J. Davicco<sup>1,2</sup>, V. Coxam<sup>1,2</sup> et Y. Wittrant<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63009 Clermont-Ferrand

[claire.philippe@clermont.inra.fr](mailto:claire.philippe@clermont.inra.fr)

Les acides gras sont capables de stimuler la production d'espèces radicalaires de l'oxygène et ainsi de promouvoir l'établissement d'un stress oxydant au niveau des cellules endothéliales, des fibroblastes et des macrophages [Schonfeld et al. 2008]. Ces espèces radicalaires jouent un rôle crucial dans la physiopathologie du tissu osseux [Garrett et al. 1990] et le maintien de l'équilibre entre les fonctions ostéoblastiques et ostéoclastiques [Wittrant et al. 2009 ; Wauquier et al. 2009]. Cependant, leur implication en tant que médiateurs de l'influence des acides gras sur le remodelage osseux reste à démontrer. Parallèlement, le récepteur associé aux protéines G (GPR40), exprimé par les ostéoblastes et les ostéoclastes, est activé par les acides gras à longues chaînes.

L'objectif de cette étude est donc de déterminer l'influence de la nutrition lipidique sur le statut redox des cellules osseuses et les éventuelles modifications du couplage ostéoblastes / ostéoclastes qui pourraient en résulter notamment via l'activation du récepteur GPR40.

Lors de cette étude, les cellules RAW264.7 ont été traitées avec du GW9508, un agoniste du récepteur GPR40 pour des concentrations (0 à 100µM) et des temps d'incubation croissants (0 à 24h). La viabilité cellulaire a été analysée par XTT et la production d'espèces radicalaires de l'oxygène (ROS) a été déterminée par cytométrie de flux grâce à la sonde fluorescente DCF-DA. L'implication de la mitochondrie a été analysée par cytométrie de flux avec la sonde fluorescente MitoSox, puis les activités des complexes I et II de la chaîne respiratoire mitochondriale ont été mesurées par une méthode spectrofluorimétrique. Par ailleurs, la modulation de la capacité antioxydante totale intracellulaire a été évaluée par la méthode ORAC et l'induction des mécanismes de mort cellulaire ont été étudiés par double marquage Annexine V et 7-AAD.

Les résultats montrent que le GW9508 induit une diminution de la viabilité cellulaire pour les doses les plus élevées. L'analyse en DCF-DA montre que cette diminution est corrélée à une augmentation de la production de ROS ce qui suggère un rôle inducteur de mort cellulaire via l'établissement d'un stress oxydant. Les résultats démontrent que la mitochondrie semble être l'acteur principal de ce phénomène en tant que producteur majoritaire de ROS. Ainsi, l'agoniste du GPR40 entraîne une perte de potentiel de membrane mitochondriale ainsi qu'une forte augmentation des activités des complexes I et II de la chaîne respiratoire mitochondriale.

L'étude d'une lignée RAW264.7 invalidée pour le gène GPR40 par ARN interférence suggère un effet du GW9508 indépendant de son récepteur. Néanmoins, ces résultats seront à valider par une prochaine étude de cultures primaires provenant de souris KO pour le récepteur GPR40.

L'analyse des processus de mort cellulaire engagés suite au traitement des cellules avec l'agoniste du GPR40 suggère l'induction d'une nécrose programmée, encore appelée nécroptose. Les deux molécules clés dans cette voie sont RIP1 et RIP3. L'expression de ces deux protéines a été confirmée par western-blot, cependant une étude plus approfondie sur leurs activités kinases et leur implication dans cette voie est en cours.

## CO4

### **LXR and their targets genes during prostate carcinogenesis**

**J. DUFOUR, E. VIENNOIS, A. POMMIER, F. CAIRA, J-M. LOBACCARO, S. BARON**

"LXR, OXYSTEROLS ET TISSUS STEROÏDOGENES". LABORATOIRE GRED, UMR CNRS 6247-CLERMONT UNIVERSITE-INSERM U931 ET CRNH D'Auvergne. 24 AVENUE DES LANDAIS. BP80026 F-63171 AUBIERE CEDEX

[julie.dufour@univ-bpclermont.fr](mailto:julie.dufour@univ-bpclermont.fr)

Prostate cancer is the most common malignancy in men and the second leading cause of male cancer-related deaths in the Western world. Epidemiological studies underline the role of lifestyle and dietary factors in the onset of prostate cancer, among these, cholesterol. Indeed, a cholesterol accumulation can be seen in solid tumours. Moreover, the use of statins, which inhibit the HMG-CoA reductase, a limiting enzyme of the cholesterol biosynthesis, reduces the risk of development and progression of a prostatic tumour. Liver X Receptors (LXR)  $\alpha$  and  $\beta$  belong to the nuclear receptor superfamily activated by natural derivatives of cholesterol known as oxysterols, and they control cholesterol and fatty acids homeostasis (1,2). We raised the question of an implication of LXR $\alpha$  and  $\beta$  in prostatic carcinogenesis. To decipher the molecular mechanisms involved, we use PtenloxP-PBcre4 mice where the Pten gene has been removed specifically in the prostate epithelium. This mouse model recapitulates the different stages of carcinogenesis observed in human prostate cancer. In these mice developing cancer, expression profiles of rxr $\alpha$ , lxr $\beta$  and of their target genes were affected with age and consequently with cancer progression. These results emphasize that cholesterol homeostasis is a critical metabolic pathway targeted during prostate carcinogenesis.

- (1) Pommier et al. Oncogene. 2010; 29(18):2712-23.
- (2) Viennois et al. Expert Opin Ther Targets. 2011. 15(2) :219-232

Work supported by grants from Fondations FRM-BNP-Paribas, Ligue Allier contre le Cancer, ARTP Région Auvergne, Cancéropôle Lyon Auvergne Rhône-Alpes, ARC, FEDER.

## CO5

### Influence du microenvironnement adipocytaire dans la cancérogenèse mammaire

**L. Delort<sup>1,2</sup>, C. Lequeux<sup>5</sup>, V. Dubois<sup>1,2</sup>, H. Billard<sup>1,2</sup>, O. Damour<sup>5</sup>, M-P Vasson<sup>2,3,4</sup>, F. Caldefie-Chézet<sup>1,2,4</sup>**

(1) Laboratoire SVFp ;

(2) EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale », CRNH-Auvergne, UFR Pharmacie, Université d'Auvergne ;

(3) Unité de Nutrition, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand ;

(4) Cancéropole Lyon Auvergne Rhône-Alpes (CLARA),

(5) Banque de tissus et de cellules, Hôpital Edouard-Herriot, 69437 Lyon

[Laetitia.delort@u-clermont1.fr](mailto:Laetitia.delort@u-clermont1.fr)

L'obésité est aujourd'hui reconnue comme un facteur de risque de cancer du sein en particulier chez la femme ménopausée. De plus, le microenvironnement tumoral, notamment adipocytaire, semble impliqué dans ce processus de cancérogenèse. L'objectif de ce travail est de caractériser le rôle du tissu adipeux et de ses produits de sécrétion dans la cancérogenèse mammaire par deux approches expérimentales. Dans un premier temps, un modèle original tridimensionnel de peau reconstruite adipeuse, reconstituant l'environnement adipocytaire englobant la tumeur mammaire, a été développé en collaboration avec une équipe lyonnaise. Dans ce modèle, des fibroblastes et des préadipocytes sont ensemencés sur un substrat dermique. Après 3 semaines de culture, les cellules cancéreuses (MCF7, MDA-MB-231) ou non cancéreuses (MCF10a) sont déposées à la surface du derme équivalent adipeux reconstitué (n=3). Des analyses immunohistochimiques ont montré que la leptine et son récepteur ObR, l'adiponectine et son récepteur AdipoR1 mais pas AdipoR2 étaient exprimés par les cellules mammaires au contact du microenvironnement adipocytaire. De façon surprenante, la différenciation des préadipocytes en adipocytes matures est maximale lorsque les cellules adipeuses sont au contact des cellules cancéreuses. L'analyse transcriptomique des cellules mammaires a révélé une surexpression de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire (cyclinD1, MAPK), l'angiogenèse (MMP9, VEGF) et le métabolisme hormonal (ESR1, IL6).

Dans un second temps, un modèle de co-cultures entre les trois types cellulaires mammaires cités précédemment, et des cellules adipeuses (préadipocytes ou adipocytes matures) prélevés sur des individus de poids normal ou obèses a été mis en place (n=6). Cette étude préliminaire montre une augmentation de la prolifération cellulaire des 3 lignées mammaires étudiées lorsqu'elles sont co-cultivées. Une croissance plus élevée des cellules MCF-7 est observée lorsqu'elles sont co-cultivées avec des adipocytes matures issus de patientes obèses que lors de co-culture avec des adipocytes matures de patientes de poids normal. Aucune modification significative n'est relevée pour les cellules MDA-MB-231. L'état de différenciation des cellules adipeuses semble également jouer un rôle au niveau des cellules MCF-7 et MCF10a avec une prolifération plus importante des cellules en présence d'adipocytes matures.

Ces modèles apporteront de nouvelles pistes en termes de prise en charge thérapeutique des patientes et plus particulièrement des patientes en situation d'obésité.

## CO6

### Un régime hypercalorique modifie l'activité des cellules NK et accélère le développement tumoral mammaire : approche expérimentale chez la souris « nude »

**B. Lamas<sup>1</sup>, S. Rougé<sup>1</sup>, A. Rossary<sup>1</sup>, G. Garrait<sup>1</sup>, L. Delort<sup>1</sup>, H. Billard<sup>1</sup>, N. Goncalves-Mendes<sup>1</sup>, F. Caldefie-Chézet<sup>1</sup>, M-P Vasson<sup>1,2</sup>, M-C Farges<sup>1</sup>.**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, EA 4233, Nutrition Cancérogène et Thérapie anti-tumorale, CLARA, CRNH Auvergne,

(2) Centre Jean Perrin, Unité de Nutrition, F-63000 Clermont-Ferrand

[bruno.lamas@u-clermont1.fr](mailto:bruno.lamas@u-clermont1.fr)

Une alimentation à forte densité énergétique contribue à l'augmentation de l'incidence de l'obésité et de pathologies comme le cancer du sein chez la femme ménopausée<sup>1,2</sup>. Dans cette situation, les cellules Natural Killer (NK) impliquées dans la vigilance anti-tumorale, de part leur activité réduite<sup>3</sup>, peuvent contribuer à l'expansion de cellules néoplasiques<sup>4</sup>. Le but de cette étude est d'évaluer, dans un modèle de xénogreffe de cellules cancéreuses mammaires, l'impact d'un régime hypercalorique sur l'activité des cellules NK et le développement néoplasique mammaire.

Des souris Balb-c « nude » femelles ont été randomisées en 2 groupes : le premier a été soumis à un régime hypercalorique (HC : 5,32 kcal/g, L/G/P en % : 36/35/18) et le second un régime normocalorique (NC : 2,82 kcal/g, L/G/P en % : 3/60/18) pendant 6 mois. Au bout de 5 mois, des cellules tumorales (MCF-7 : 2x10<sup>6</sup> cellules, NCT et HCT) ou le véhicule (NC et HC) ont été implantées au niveau de la quatrième paire de glande mammaire. Outre le suivi de la prise alimentaire, de l'évolution pondérale et tumorale, la composition corporelle par absorptiométrie biphotonique a été déterminée à 6 mois. La cytotoxicité des cellules NK spléniques vis-à-vis des cellules cibles YAC-1 a été étudiée par cytométrie en flux. (Moyenne ± DS, ANOVA 2 voies + PLSD Fisher,  $a \neq b$ ,  $p < 0,05$  ; Mann-Whitney, \* $p < 0,05$ , NCT vs HCT, † $p < 0,05$ , HC vs HCT, ‡ $p < 0,05$ , NC vs HC, ◇ $p < 0,05$ , NC vs NCT)

Paramètre	Régime		Tumeur		Interaction		Signif.
	NC	HC	NC	HC	NC	HC	
Prise alimentaire (g)	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	
Poids corporel (g)	25 ± 2	35 ± 3	25 ± 2	35 ± 3	25 ± 2	35 ± 3	†
Masse grasse (g)	5 ± 1	15 ± 2	5 ± 1	15 ± 2	5 ± 1	15 ± 2	†
Masse maigre (g)	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	
Poids tumoral (g)	0 ± 0	0 ± 0	10 ± 2	15 ± 3	10 ± 2	15 ± 3	†
Cytotoxicité NK (%)	80 ± 5	70 ± 4	80 ± 5	70 ± 4	80 ± 5	70 ± 4	†

Les souris HC présentent une masse grasse significativement supérieure à celle des souris NC sans développer de surpoids. La croissance tumorale, accrue sous régime HC, est associée à une diminution de la masse grasse, de la masse maigre et du poids corporel total. Les cellules NK des souris HC ont une cytotoxicité plus importante que celle des souris NC. La présence de la tumeur augmente l'activité cytotoxique des cellules NK des souris NCT. En revanche, l'association régime HC et tumeur induit une diminution de la cytotoxicité des cellules NK. Ces résultats témoignent de l'effet d'un régime HC sur la vigilance anti-tumorale médiée par les cellules NK et sur le développement néoplasique mammaire.

1World Cancer Research Fund. 2007; 2Cleary et al. Int J Obes Relat Metab Disord. 2004 ; 3Lynch et al. Obesity 2009 ; 4Vivier Immunol Lett. 2006

### **La colite spontanée chez les souris déficiente pour Toll-like récepteur 5 est liée à une incapacité à contrôler le microbiote**

**F. A. Carvalho<sup>1,2</sup>, A. Darfeuille-Michaud<sup>3,4</sup>, A. T. Gewirtz<sup>5</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Pharmacologie fondamentale et clinique de la douleur, F-63000 Clermont-Ferrand.

(2) Inserm, U 766, F-63001 Clermont-Ferrand.

(3) Clermont Université, JE2526 Université d'Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand.

(4) INRA USC 2018, F-63000 Clermont-Ferrand.

(5) Department of Biology, Georgia State University, Atlanta, GA 30303, USA.

[frederic.carvalho@u-clermont1.fr](mailto:frederic.carvalho@u-clermont1.fr)

**Introduction** : De nombreuses souches de souris génétiquement modifiées, y compris les souris dépourvues du récepteur Toll-Like 5 (T5KO), développent une colite spontanée, dont l'intensité semble plus dépendante de l'environnement, et plus particulièrement du microbiote intestinal, que du phénotype lui-même. Ainsi, une normalisation du microbiote par redérivation embryonnaire de souris T5KO diminue la sévérité de l'inflammation intestinale en corrigeant partiellement l'expression augmentée de gènes pro-inflammatoires. Nous avons recherché si la colite sévère observée chez les souris présentant un défaut de signalisation dépendante de TLR5 résultait d'une incapacité à maintenir une composition normale du microbiote intestinal rendant ces souris plus sensibles à l'infection par des bactéries flagellées. **Méthodes** : Les analyses du microbiote intestinal ont été réalisées sur les fèces de souris T5KO et sauvages provenant de la même lignée. L'intensité de l'inflammation a été déterminée en analysant la splénomégalie et la colomégalie. La composition du microbiote a ensuite été déterminée par la technique de pyroséquençage des gènes ARNr 16S (Roche/454). En parallèle la susceptibilité des souris T5KO à développer une inflammation en réponse à des bactéries flagellées a été analysée par gavage avec la souche AIEC de référence LF82 isolée d'un patient atteint de maladie de Crohn. **Résultats** : L'étude du microbiote montre que la composition de celui-ci est très stable dans le temps chez les souris sauvages. En revanche, chez les souris T5KO avec ou sans colite, le microbiote est très instable, montrant de fortes variations au niveau des phyla et des espèces au cours du temps et ces modifications sont accentuées lors du développement de colites sévères. De plus, les souris T5KO développant une colite sévère présentent une augmentation du nombre de Proteobacteria après sevrage qui n'est pas observée dans les souris T5KO ne développant pas de colite ou dans les souris sauvages. Enfin, les souris T5KO développent une inflammation intestinale en réponse à une infection par les bactéries AIEC LF82 en relation avec leur incapacité à éliminer ces bactéries. **Conclusion** : Le développement d'une colite spontanée chez les souris T5KO résulterait de leur incapacité à maintenir un microbiote intestinal normal et stable dans le temps dès le sevrage. Ainsi, un défaut d'immunité innée impliquant TLR5 résulterait en une incapacité de l'hôte à gérer une infection intestinale par des bactéries flagellées telles que des AIEC. Ceci pourrait conduire le système biologique à atteindre un « point de basculement » ou « tipping point », responsable de la colite sévère associée aux maladies inflammatoires du tube digestif.

## CO8

# DEVELOPPEMENT DE MODELES ANIMAUX DANS L'ETUDE DE LA PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HYPERSENSIBILITE COLIQUE CHEZ LA SOURIS

**M. MELEINE , A. GELOT, E. MULLER, D. ARDID**

UMR766 / Inserm / UdA Faculté de Médecine et de Pharmacie  
28, Place Henri Dunant  
63001 Clermont-Ferrand

[mathieu.meleine@hotmail.fr](mailto:mathieu.meleine@hotmail.fr)

La douleur viscérale, diffuse et irradiante, est très invalidante chez les patients atteints de pathologies telles que les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) ou le Syndrome de l'Intestin Irritable (SII). Malgré de nombreuses différences entre ces deux types de maladies, notamment le caractère inflammatoire associé aux MICI et qui n'est pas retrouvé dans le SII, l'hypersensibilité colique (HSC) est un symptôme commun à ces pathologies dont la prise en charge thérapeutique est encore insuffisante.

Afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent le développement de ces douleurs intestinales, nous disposons, au laboratoire, de deux modèles murins d'HSC. Le premier est un modèle d'origine inflammatoire consistant en l'administration de Dextran Sulfate Sodium (DSS) 1% distribué dans l'eau de boisson des animaux durant 12 jours. En dépit d'un mode d'action encore mal connu de cette molécule, on observe, chez ces souris, le développement d'une hypersensibilité colique accompagnée, généralement, de diarrhées sanglantes apparaissant, en moyenne, au 10<sup>ème</sup> jour de traitement. L'examen histologique des colons révèle des phénomènes inflammatoires confirmant la pertinence de ce modèle dans l'étude des MICI.

Le second modèle a pour objectif de mimer les symptômes observés chez des patients atteints du SII. En raison du caractère multifactoriel de son étiologie, il est difficile de déterminer les « acteurs » physiopathologiques à l'origine de l'hypersensibilité colique. Cependant, de nombreuses études recensent l'importance du stress au cours de la vie précoce des patients souffrant du SII. Ainsi, nous avons soumis des souriceaux à un stress néonatal par séparation maternelle et avons observé une hypersensibilité colique chez ces animaux à l'âge adulte. Dans ce cas, la comparaison des coupes histologiques de colon d'animaux stressés et témoins ne montre aucune différence dans l'organisation structurale de la paroi intestinale, ni aucun signe d'inflammation, conformément à ce qui est décrit dans le SII.

## CO9

### Rôle du microbiote intestinal dans la physiopathologie du syndrome de l'intestin irritable

**L. CROUZET<sup>1</sup>, E. GAULTIER<sup>2</sup>, E. DELMAS<sup>1</sup>, C. DEL'HOMME<sup>1</sup>, J. FIORAMONTI<sup>2</sup>,  
A. BERNALIER-DONADILLE<sup>1</sup>**

(1) Unité de microbiologie UR 454 – INRA Clermont-Ferrand Theix – 63122 St Genès  
Champanelle

(2) UMR 1331 ToxAlim Toxicologie alimentaire – INRA – 180 chemin de Tournefeuille  
31027 Toulouse Cedex 3

[laureen.crouzet@clermont.inra.fr](mailto:laureen.crouzet@clermont.inra.fr)

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) est une pathologie digestive caractérisée par des douleurs abdominales et un inconfort digestif associés ou non à des troubles du transit. L'origine de ces troubles fonctionnels intestinaux (TFI) reste mal connue. De récentes études suggèrent toutefois que le microbiote intestinal puisse jouer un rôle important dans ces pathologies. Dans ce contexte, nous avons montré qu'une modification de la composition du microbiote intestinal (dysbiose) affectait les patients atteints de SII (Chassard et al, 2009), celle-ci étant notamment caractérisée par une stimulation de la communauté sulfato-réductrices (SRB).

Les conséquences de cette dysbiose sur le métabolisme microbien colique ainsi que sur certains paramètres physiologiques affectés chez les patients SII, comme la sensibilité viscérale, ont été étudiées à l'aide du modèle de rats à microbiote humain (MIH) sain versus atteint de SII. Ces études démontrent que la dysbiose entraîne une modification du profil fermentaire, caractérisée en particulier par l'augmentation de la quantité d'hydrogène excrété et de la concentration caecale en sulfures chez les animaux à MIH SII. La mesure de la sensibilité viscérale par distension colorectale chez ces animaux a permis de montrer que le microbiote de sujets SII induisait une hypersensibilité viscérale chez les animaux l'hébergeant.

Afin de déterminer si la communauté SRB jouait un rôle dans l'induction de cette hypersensibilité viscérale, nous avons stimulé l'activité de cette population en administrant quotidiennement à des rats à MIH sain, pendant 21 jours, une culture d'une souche SRB isolée au laboratoire. L'augmentation de la population SRB au sein du microbiote sain s'est traduite par une stimulation de la sulfato-réduction, les quantités de sulfures produites au niveau caecal étant 1.5 fois plus importantes. Les rats traités avec la souche SRB ont développé une hypersensibilité viscérale à la différence des animaux contrôles.

En conclusion, ces résultats démontrent le rôle prépondérant du microbiote intestinal dans la physiopathologie du SII, et en particulier celui de la communauté SRB stimulée chez ces sujets SII. En effet, les sulfures produits par les SRB semblent directement impliquée dans les phénomènes de douleur abdominale chez les patients atteints de SII.

## CO10

### **Citrus flavanones exert cardiovascular protective effects**

**D. Milenkovic, A. Chanet, C. Deval, J-F. Martin, D. Bayle, S. Thien, M. Rambeau, C. Dubray, A. Mazur, C. Morand**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[dragan.milenkovic@clermont.inra.fr](mailto:dragan.milenkovic@clermont.inra.fr)

Our researches aimed to characterize the role of citrus flavanones in cardiovascular protection through studies performed in human, animals and in vitro. For a clinical study, 24 healthy men were included in a randomized controlled cross-over study who consumed during 3 one-month periods: 500 ml orange juice (naturally containing 292 mg hesperidin), 500 ml of an isoenergetic control drink or 500 ml of the same control drink supplemented with 292 mg hesperidin. Endothelial microvascular reactivity, blood pressure, systemic markers linked to CVD risk and transcriptome of PBMCs were measured at the end of each period. Consumption of orange juice or hesperidin significantly reduced diastolic blood pressure and improved postprandial microvascular endothelial reactivity. Also, both significantly affected leukocyte gene expression with over 1,000 genes regulated by both orange juice and hesperidin, implicated in chemotaxis, adhesion, infiltration and lipid accumulation, processes involved in initial steps of atherosclerosis development. Impact of flavanones on atherosclerosis development was assessed using mice fed an atherogenic diet supplemented with a nutritionally-achievable dose of naringin (0.02%) for 16 weeks. Plasma lipids, biomarkers of oxidative stress, inflammation and endothelial dysfunction were measured together with transcriptomic analysis of aortas. Naringin consumption protected from diet-induced atherosclerosis with a marked reduction of lipid deposit and modulated expression of genes in aorta implicated in monocytes adhesion and transendothelial migration. To deepen cellular and molecular mechanisms revealed by transcriptome studies, we evaluated the impact of flavanone metabolites on activity and gene expression of endothelial cells. Flavanone metabolites significantly attenuated monocytes adhesion to TNF $\alpha$ -activated endothelial cells and modulated the expression of some atherogenic genes, like cell adhesion molecules or chemokines. Overall, our findings suggest a beneficial impact of citrus flavanone on vascular health and that this latter could be mediated by genomic effects.

## **Immunodétection des adduits aldéhydiques de type hydroxyalkénal dans le protéome et le tissu aortique de souris athérosclérotiques – mise au point méthodologique**

**L. Joumard, M. Zmojdzian, N. Gerard, S. Thien, Y. Sadok, P. Brachet, B. Comte, E. Rock, C. Gladine, A. Mazur**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[Laurie.Joumard@clermont.inra.fr](mailto:Laurie.Joumard@clermont.inra.fr)

La peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés (AGPI) induit notamment la formation d'aldéhydes réactifs capables de former des adduits avec différentes molécules dont les protéines, en se liant sur leurs résidus aminoacyles. Il a été montré que le 4-hydroxy-*trans*-2-nonenal (4-HNE), issu de l'oxydation des AGPI oméga-6, joue un rôle dans l'athérogenèse. Les AGPI oméga-3 à longue chaîne (EPA : acide eicosapentaénoïque et DHA : acide docosahexaénoïque) sont également susceptibles d'être peroxydés entraînant la formation du 4-hydroxyhexenal (4-HHE). Cependant, plusieurs études expérimentales ont montré des effets anti-athérogènes des AGPI oméga-3 à longue chaîne. Il reste à déterminer si cet effet passe par une modulation (quantitative ou qualitative) de la production de métabolites peroxydés. Ceux-ci pourraient être directement impliqués dans la modulation de l'activité de protéines. Ainsi, nous avons étudié l'abondance des modifications post-traductionnelles oxydatives (MPTO) affectant le protéome d'aorte de souris LDLR<sup>-/-</sup>, un modèle d'athérosclérose, recevant *per os* différentes doses de DHA. L'analyse protéomique est réalisée d'une part par électrophorèse bidimensionnelle couplée à une immuno-détection des adduits 4-HNE et 4-HHE et d'autre part par la quantification de protéines carbonylées. Huit protéines présentant des adduits 4-HNE ont été identifiées, par spectrométrie de masse MALDI-ToF, aussi bien dans le groupe témoin que celui recevant le DHA. Ces protéines sont essentiellement mitochondriales et interviennent dans le métabolisme des lipides. Par ailleurs, nous avons localisé des adduits 4-HNE-protéines dans les lésions athéromateuses des aortes de souris par immunohistochimie (IHC). Cependant nous n'avons pas détecté d'adduits 4-HHE ni au niveau du protéome ni sur des coupes d'aorte. Ce résultat pourrait être dû à la faible abondance du 4-HHE ou à la non-spécificité de l'anticorps utilisé. Toutefois, nous avons pu démontrer la présence de 4-HHE, par IHC, dans des cellules endothéliales humaines en culture, en particulier après leur exposition au DHA. Ces mises au point nous permettent l'étude de différentes MPTO et leurs conséquences dans différentes conditions physiopathologiques et nutritionnelles.

## CO12

### Mise en évidence de modifications du protéome de cellules de la lignée cardiomyoblastique H9c2 par la carence en précurseurs de méthyles

**Martinez E<sup>1,2</sup>, Gérard N<sup>1,2</sup>, Deval C<sup>1,2</sup>, Rambeau M<sup>1,2</sup>, Roche E<sup>1,2</sup>, Gérard P<sup>3</sup>, Mazur A<sup>1,2</sup>, Guéant JL<sup>3</sup>, Comte B<sup>1,2</sup>, Brachet P<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) Inserm U954, Faculté de Médecine/CHU, Université Henri Poincaré, Nancy

[emilie.martinez@clermont.inra.fr](mailto:emilie.martinez@clermont.inra.fr)

Les précurseurs de méthyles (PDM : folates, vitamine B12 et choline) interviennent dans la reméthylation de l'homocystéine (Hcy) en méthionine. Une déficience en PDM cause une hyperhomocystéinémie considérée comme un facteur de risque de pathologies cardiovasculaires. L'étude protéomique que nous avons réalisée sur le myocarde de rats de 21 j nés de mères carencées en PDM a montré une altération de l'abondance de protéines de la  $\beta$ -oxydation des acides gras et du métabolisme énergétique. Afin de déterminer les mécanismes à l'origine de ces changements, nous avons développé un modèle d'étude in vitro de la déficience en PDM dans des cultures de cellules cardiaques. Des cellules de la lignée H9c2 dérivées de cardiomyoblastes embryonnaires de rats ont été exposées pendant 4j à un milieu carencé en PDM ou complet (C). Les concentrations intracellulaires en folates et vitamine B12 ont été mesurées par dosage radio-immunologique. L'Hcy libérée dans le milieu extracellulaire a été quantifiée par HPLC/fluorimétrie. Nos résultats montrent que les niveaux intracellulaires de folates et vitamine B12 sont fortement réduits par la carence en PDM. Cette condition induit en parallèle une augmentation de la concentration extracellulaire d'Hcy (PDM :  $2,8 \pm 0,3$  vs C :  $1,8 \pm 0,3$  nmol/mg de protéines cellulaires,  $p < 0,001$ ). L'analyse protéomique des cellules a permis d'identifier 6 protéines ayant une abondance augmentée et 5 une abondance diminuée. Elles sont cytosoliques (64%), mitochondriales (18%) ou nucléaires (18%) et sont surtout impliquées dans la transcription et la traduction (36%) mais aussi dans le métabolisme énergétique, la structure cellulaire et le stress du réticulum endoplasmique. Ce modèle cellulaire va nous permettre de mieux comprendre les mécanismes de l'effet d'une déficience en PDM sur le protéome cardiaque.

# POSTERS

# P1

## Effect of a chronic intake of high dietary glycated-proteins on skeletal muscle protein metabolism during aging in normal rats

**Hitoshi Murakami<sup>1,2,5</sup>, Gwenaële Henry<sup>4</sup>, Joelle Leonil<sup>4</sup>, Christophe Giraudet<sup>1,2</sup>, Paulette Rousset<sup>1,2</sup>, Aurelie Masgrau<sup>1,2</sup>, Stephane Warland<sup>1,2</sup>, Yves Boirie<sup>1,2,3</sup>, Christelle Guillet<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND,

(2) CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France,

(3) CHU, Gabriel Montpied Hospital, Service de Nutrition Clinique, Clermont-Ferrand, France,

(4) UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de L'Oeuf (STLO) INRA-Agrocampus Ouest, Rennes, France,

(5) Innovation Research Laboratory, AJINOMOTO. Co. INC, Tokyo, Japan

[Christelle.Guillet@u-clermont1.fr](mailto:Christelle.Guillet@u-clermont1.fr)

Quality of dietary protein affects skeletal muscle protein metabolism. Heated proteins with sugar contributes to elevation of advanced glycation endproducts (AGEs). Chronic exposure of advanced glycation end products (AGEs) is associated with development of insulin resistance in mammals and in L6 skeletal muscle cells. AGEs increase oxidative stress and inflammation through receptor for AGEs (RAGE). Oxidative stress and inflammation impair muscle protein metabolism contributing to muscle loss during aging. We hypothesized that a chronic intake of dietary high AGEs may affect skeletal muscle protein metabolism and muscle mass in aging. To elucidate this hypothesis, phosphorylation of anabolic signaling pathway (Akt, mTOR, p70S6K, 4E-BP1), RAGE expression and oxidized protein (3-nitrotyrosine) were measured by Western-blot in tibialis muscle in young (5month old), adult (13month old) and old (25month old) rats fed a diet containing heated casein (high-AGEs) or non-heated casein (low-AGE) for 3 months. Insulin sensitivity was also evaluated by OGTT. Muscle loss and insulin resistance were observed in aging ( $P < 0.05$ ,  $0.57 \pm 0.08$ ,  $2.66 \pm 1.32$  fold from young, respectively) without any effect of high-AGEs. Phosphorylation of mTOR, p70S6K increased in old rats ( $P < 0.05$ ,  $1.59 \pm 0.06$ ,  $10.59 \pm 2.58$  fold from young rats, respectively) in tibialis and phosphorylation of 4E-BP increased in old rats in soleus ( $P < 0.05$ ,  $3.85 \pm 0.88$  fold from young rats). Phosphorylation of p70S6K and RAGE expression were enhanced by high-AGEs in old rats ( $P < 0.05$ ,  $4.19 \pm 1.02$ ,  $1.86 \pm 0.28$  fold, respectively), however, there was no effect of high-AGEs on phosphorylation of Akt, mTOR, p70S6K and 4E-BP1 and RAGE expression in soleus.

In conclusion, chronic ingestion of dietary glycated proteins is associated with 1) a baseline activation of RAGE expression in type II skeletal muscle with no detectable consequences on oxidative stress; and 2) modification of some anabolic signaling factors for protein translation in type II skeletal muscle, especially in old rats with no change in skeletal muscle mass.

## P2

### **Tibialis anterior muscle atrophy following immobilization in the rat is associated with sustained activation of proteolytic and apoptotic pathways during the early stages of recovery**

**Slimani Lamia<sup>1,3</sup>, Dubost Anabelle<sup>3</sup>, Meunier Bruno<sup>3</sup>, Dardevet Dominique<sup>1,2</sup>,  
Attaix Didier<sup>1,2</sup>, Listrat Anne<sup>3</sup>, Combaret Lydie<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) INRA, UMR 1213, URH, F-63122 SAINT GENES CHAMPANELLE

[lydie.combaret@clermont.inra.fr](mailto:lydie.combaret@clermont.inra.fr)

Muscle atrophy induced by immobilization stabilized in the shortened gastrocnemius muscle (GA), but worsened in the lengthened tibialis anterior muscle (TA) after 10 days of recovery. Thus, important remodeling within the TA following immobilization could condition the initial steps of recovery and may depend on the position of immobilization. The ubiquitin-proteasome system (UPS) and the mitochondria-associated apoptosis being involved in GA atrophy their role in muscle remodeling were studied during the very early stages of recovery in both the TA and GA.

Adult rats were subjected to unilateral hindlimb immobilization and the contralateral non-immobilized leg served as the control. After 8 days of immobilization (I8), casts were removed and animals were allowed to recover for 1 (R1) to 10 (R10) days. UPS-dependent proteolysis and apoptosis were evaluated in both the TA and GA.

Muscle atrophy rapidly worsened after cast removal as soon as R1 and up to R6 in the TA previously immobilized, but stabilized in the GA from R1. In addition, a more pronounced and sustained activation of proteasome and apoptosome activities prevailed in the immobilized TA from I8 until R10, but was normalized at R6 in the previously immobilized GA.

Altogether, the data suggest that UPS-dependent proteolysis and mitochondria-associated apoptosis are involved in the muscle remodeling during recovery and may be responsible for the worsening of muscle atrophy observed in the TA. Alterations of connective tissue being differentially altered upon stretching during immobilization (Mattiello-Sverzut et al. 2006), we hypothesized that this may impact muscle proteolytic signaling pathways.

## P3

### **Une supplémentation en leucine suite à une atrophie induite par une immobilisation par plâtrage chez le rat âgé améliore le métabolisme protéique musculaire mais n'améliore pas la récupération de masse musculaire.**

**Magne H.<sup>1,2</sup>, Savary-Auzeloux I.<sup>1,2</sup>, Sornet C.<sup>1,2</sup>, Migne C.<sup>1,2</sup>, Combaret L.<sup>1,2</sup>, Remond D.<sup>1,2</sup> Et Dardevet D.<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[Hugues.Magne@clermont.inra.fr](mailto:Hugues.Magne@clermont.inra.fr)

Nous avons montré que l'immobilisation chez le rat âgé entraînait une perte de masse musculaire qui n'était pas récupérée, contrairement au rat adulte (Magne et al. 2011). Ceci n'était pas dû au maintien d'une protéolyse musculaire élevée car celle-ci était rapidement normalisée. Cette étude avait pour but d'étudier dans quelle mesure des altérations de la synthèse protéique musculaire étaient impliquées au cours des phases d'immobilisation et de récupération musculaire et comment une supplémentation en leucine pouvait améliorer le gain de masse au cours de la phase de récupération.

Des rats âgés de 23 mois ont été immobilisés pendant 8 jours (I8) puis déplâtrés et laissés en récupération musculaire pendant 40 jours. Au cours de cette phase de récupération, la moitié des rats a reçu un régime contrôle (13% caséine) et l'autre moitié un régime enrichi avec 4,5% de leucine. La protéolyse musculaire (activités protéolytiques du protéasome et FOXO3a) a été étudiée dans les muscles gastrocnemius. La synthèse protéique et la quantité de phospho-S6 ont aussi été mesurées à l'état post-aborptif et à l'état post-prandial (PP).

A I8, les muscles immobilisés étaient atrophiés de 21% et présentaient une augmentation des activités protéolytiques du protéasome (+20 à +80%) mais aussi une importante diminution de la synthèse protéique à l'état PP (-30%). Pendant la récupération, la protéolyse et la protéosynthèse musculaires étaient rapidement normalisées. Dans le lot de rats supplémentés, la protéolyse était normalisée plus vite et la synthèse protéique était 30% plus haute en PP comparativement au rat ayant reçu le régime contrôle. Ces observations étaient corrélées avec une augmentation du rapport phospho-FOXO3a/FOXO3a (+80%) et une augmentation persistante de la quantité de phospho-S6 (+30%). Cependant, malgré son effet anabolique, la leucine n'a pas permis d'initier une récupération de masse musculaire. Après une courte période d'immobilisation au cours du vieillissement, une supplémentation en leucine, malgré son effet bénéfique sur l'anabolisme protéique musculaire ne permet pas de gagner de la masse musculaire. Ce paradoxe et les mécanismes permettant de l'expliquer restent encore à étudier.

## P4

### **Syndrome métabolique et vieillissement : effet sur le muscle squelettique humain**

**Gueugneau M.<sup>1</sup>, Coudy-Gandilhon C.<sup>1</sup>, Meunier B.<sup>1</sup>, Barboiron C.<sup>1</sup>, Listrat A.<sup>1</sup>, Feasson L.<sup>2</sup>, Ravelojaona M.<sup>2</sup>, Barthelemy J.C.<sup>2</sup>, Picard B.<sup>1</sup>, Bechet D.<sup>1</sup>**

(1) INRA, UMR 1019, UNH & URH, Centre de Recherche en Nutrition Humaine, 63122 Saint Genes Champanelle, France

(2) Unité de Recherche PPEH, Service de Physiologie Clinique et de l'Exercice, CHU Nord, 42023 Saint Etienne

[marine.queugneau@clermont.inra.fr](mailto:marine.queugneau@clermont.inra.fr)

Le vieillissement est associé à une perte de la masse et de la fonction musculaire. Ces altérations favorisent l'apparition du syndrome métabolique qui est un facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires. Cependant, les effets de ce syndrome sur le muscle squelettique des personnes âgées restent à préciser. L'objectif de ce travail est donc de décrire les changements liés à l'âge et au syndrome métabolique dans la composition, la morphologie et le métabolisme du muscle squelettique humain. Pour cela, des coupes sériées ont été réalisées à partir de biopsies du muscle vastus lateralis provenant d'individus jeunes (25 ans) et âgés (75 ans) avec ou sans syndrome métabolique. La proportion, l'aire et la forme des fibres ont été caractérisées selon leur type contractile à l'aide d'anticorps spécifiques et par analyse d'image. Le typage métabolique des fibres a également été déterminé via une coloration de l'activité de la cytochrome C oxydase (COX). Les résultats montrent que, lors du vieillissement, la proportion et l'aire sont augmentées pour les fibres de type I et diminuées pour celles de type II, avec une déformation accrue des fibres de type IIA. Chez les personnes âgées atteintes de syndrome métabolique, la proportion des fibres n'est plus significativement différente de celle des autres groupes, mais l'aire des fibres tend à être augmentée par rapport aux personnes âgées contrôles. De plus, les fibres sont déformées de manière importante et plus particulièrement les fibres de type IIX. Une forte diminution de l'activité COX des fibres de type I est également observée. En conclusion, les modifications que nous observons lors du vieillissement musculaire sont en accord avec les données de la littérature. Néanmoins, ce travail souligne des altérations notables de morphologie et de métabolisme des fibres chez les personnes âgées atteintes de syndrome métabolique.

## P5

### **Borage and fish oils supplementation effects on bone health in a murine model of senile osteoporosis.**

**Fabien Wauquier<sup>1,2</sup>, Valentin Barquissau<sup>1,2,3</sup>, Laurent Leotoing<sup>1,2</sup>, Marie-Jeanne Davicco<sup>1,2</sup>, Patrice Lebecque<sup>1,2</sup>, Sylvie Mercier<sup>1,2</sup>, Claire Philippe<sup>1,2</sup>, Elisabeth Miot-Noirault<sup>4,5</sup>, Jean-Michel Chardigny<sup>1,2,3</sup>, Beatrice Morio<sup>1,2</sup>, Yohann Wittrant<sup>1,2</sup>, And Veronique Coxam<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) Equipe Contrôle de l'Homéostasie Lipido-Energétique et Obésité

(4) Clermont Université, Université d'Auvergne, Imagerie moléculaire et thérapie vectorisée, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(5) Inserm, U 990, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[fabien.wauquier@clermont.inra.fr](mailto:fabien.wauquier@clermont.inra.fr)

Fats are prevalent in western diets; they have known deleterious effects on muscle insulin resistance and may contribute to bone loss. However, relationships between fatty acids and locomotor system dysfunctions in elderly population remain controversial. The aim of this study was to analyze the impact of fatty acid quality on the age related evolution of the locomotor system and to understand which aging mechanisms are involved. In order to analyze age related complications, the SAMP8 mouse strain was chosen as a progeria model as compared to the SAMR1 control strain. Then, two months old mice were divided in different groups and subjected to the following diets : (1) standard "growth" diet – (2) "sunflower" diet (high  $\omega 6/\omega 3$  ratio) – (3) "borage" diet (high  $\gamma$ -linolenic acid) – (4) "fish" diet (high in long chain  $\omega 3$ ). Mice were fed ad libitum through the whole protocol. At 12 months old, mice were sacrificed and tissues were harvested for bone studies, fat and muscle mass measures, inflammation parameters and bone cells markers expression. After validation of a senile osteoporosis establishment in our model, we demonstrated that borage and fish diets restored inflammation and bone parameters, therefore encouraging nutritional approaches as relevant and promising strategies for preventing aged-related locomotor dysfunction.

## Implication d'un récepteur membranaire aux acides gras dans les mécanismes du remodelage osseux

**Fabien Wauquier<sup>1,2</sup>, Claire Philippe<sup>1,2</sup>, Laurent Léotoing<sup>1,2</sup>, Sylvie Mercier<sup>1,2</sup>, Patrice Lebecque<sup>1,2</sup>, Thierry Alquier<sup>3</sup>, Vincent Poitout<sup>3</sup>, Marie-Jeanne Davicco<sup>1,2</sup>, Jérôme Guicheux<sup>4</sup>, Elisabeth Miot-Noirault<sup>5,6</sup>, Véronique Coxam<sup>1,2</sup> et Yohann Wittrant<sup>1,2</sup>**

- (1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND
- (2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND
- (3) Montréal Diabetes Research Center, Université de Montréal, Canada
- (4) Inserm, U791, Laboratoire d'Ingénierie Ostéo-Articulaire et Dentaire, Nantes
- (5) Clermont Université, Université d'Auvergne, Imagerie moléculaire et thérapie vectorisée, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand
- (6) Inserm, U 990, F-63000 Clermont-Ferrand

[fabien.wauquier@clermont.inra.fr](mailto:fabien.wauquier@clermont.inra.fr)

Dans le contexte actuel d'allongement de l'espérance de vie, la prévalence des maladies liées à l'âge telle que l'ostéoporose est de plus en plus importante. Alors que la mise en place de stratégies de prévention nutritionnelle adaptées apparaît comme une excellente solution alternative aux traitements habituels, l'étude des activités biologiques des nutriments reste marginale pour certains tissus et certaines catégories de molécules. C'est notamment le cas du tissu osseux et des lipides, en particulier les acides gras, pour lesquels la littérature existante, bien que de taille croissante, contient majoritairement des études descriptives qui ne permettent pas d'expliquer complètement les mécanismes mis en jeu. Récemment, le récepteur membranaire GPR40 (G coupled Protein Receptor 40) a été mis en évidence pour ses interactions avec les acides gras libres à longues chaînes et son expression a été démontrée au niveau des cellules osseuses. Nous avons donc émis l'hypothèse que ce récepteur pourrait jouer un rôle dans la médiation des effets des acides gras sur les paramètres du remodelage osseux. Dans cette étude, l'analyse en  $\mu$ CT ( $\mu$  Computed Tomography) des fémurs de souris invalidées pour le GPR40 révèle un phénotype ostéoporotique marqué qui met en évidence un rôle protecteur de ce récepteur pour la santé osseuse. In vitro, les effets d'un agoniste spécifique du GPR40, le GW9508 ont été analysés. Ce composé inhibe la viabilité de précurseurs ostéoclastiques (Raw 264.7), alors qu'il est sans effet sur la viabilité de la lignée ostéoblastique MC3T3-E1. De plus, ce composé bloque la différenciation par la cytokine RankL des Raw 264.7, en inhibant l'activation des voies ERK et NF- $\kappa$ B. Le GW9508 stimule également les phases précoces de la différenciation ostéoblastique des MC3T3-E1, induisant notamment une augmentation de l'activité ALP (Alcaline phosphatase) et une augmentation de l'expression du transcrit de l'ostéocalcine. Par ailleurs, l'étude d'une lignée Raw264.7 invalidée par interférence ARN (shRNA) supporte l'hypothèse de travail, tandis que l'effet du GW9508, sur une perte osseuse induite par ovariectomie chez des souris « sauvages », est en cours d'analyse. En conclusion, ces travaux permettent de mettre en évidence pour la première fois un rôle protecteur du GPR40 pour l'os qui passerait, au moins pour partie, par son activation directe au niveau des cellules osseuses.

## P7

### **Implication de la qualité des lipides alimentaires dans la réponse inflammatoire postprandiale chez l'homme sain. -Effet de l'âge-**

**Nicolas Tardif, Emilie Gadéa, Jérôme Salles, Carole Boue-Vaysse, Corinne Malpuech-Brugère, Christelle Guillet, Ali Hssain, Julie Léger-Guist'hau, Noël Cano, Christophe Giraudet, Véronique Patrac, Jean-François Landrier, Yves Boirie, Stéphane Walrand**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
UMR1260, Nutriments lipidiques et prévention des maladies métaboliques, Marseille, F-13385, France,

Faculté de Médecine, Univ Méditerranée Aix-Marseille 1 et 2, Marseille, F-13385, France

[stephane.walrand@clermont.inra.fr](mailto:stephane.walrand@clermont.inra.fr)

Etude financée par l'ANR Lip-Age

Contexte : L'altération de la réponse inflammatoire suite à un repas hyperlipidique chez les personnes présentant des anomalies métaboliques est maintenant bien connue. Cependant, l'effet de différents types d'acides gras sur la réponse inflammatoire postprandiale a été peu étudié chez des personnes saines en fonction de l'âge. Objectif : Evaluer les effets des graisses alimentaires, en particulier le palmitate et d'oléate, sur la réponse inflammatoire postprandiale, entre des personnes de poids normal jeunes ou âgées. De plus, les conséquences de l'inflammation postprandiale ont été étudiées au regard de la perte de la force musculaire et de la résistance à l'insuline chez les personnes âgées. Design : Deux groupes de 4 hommes en bonne santé (âge moyen  $26 \pm 1$  et  $69 \pm 3$ ans) ont consommé un repas riche en oléate ou en palmitate séparé par un intervalle de 4 semaines, suivant un plan croisé randomisé. Les deux repas préparés sous forme de purée de pommes de terre (repas test) étaient composés de 12% de protéines, 26% de glucides et 62% de lipides (1 g/kg de poids corporel). Le repas oléate contenait 76% d'acides gras monoinsaturés (75% d'acide oléique) et 8% d'acides gras saturés alors que le repas palmitate contenait 46% d'acides gras monoinsaturés et 40% d'acides gras saturés (33% d'acide palmitique). Après 12h de jeûne, des échantillons de sang ont été prélevés avant le repas et après 1, 2, 4, 6 et 8 heures. Les cytokines plasmatiques (IL-6 et TNF- $\alpha$ ) ont été analysées par ELISA. De plus, une stimulation sur sang total par du LPS a été réalisée en basal puis après 2 et 4h en phase postprandiale. Un test de tolérance au glucose (HGPO), la composition corporelle et la force musculaire ont également été déterminés. Résultats : Les personnes âgées ont montré une plus grande augmentation d'IL-6 plasmatique après le repas palmitate versus oléate et versus jeunes ( $p < 0,05$ ). Une corrélation négative a été établie entre la concentration sanguine d'IL-6 basale ( $r^2 = 0,64$ ,  $p < 0,05$ ) et postprandiale ( $r^2 = 0,47$ ,  $p < 0,05$ ) et la force musculaire. En outre, les personnes âgées présentaient une inflammation de bas grade, ce qui pourrait être liée à la résistance à l'insuline détectée dans ce groupe (glycémie  $> 1,4$  g/L après 120min d'HGPO). Conclusion : La réponse inflammatoire postprandiale suite à un repas hyperlipidique semble être plus prononcée avec le repas riche en palmitate, en particulier chez les personnes âgées. Dans cette population, la réponse inflammatoire post-prandiale semble être associée à des modifications métaboliques (insulino-résistance) et fonctionnelles (force musculaire) liées à l'âge.

## Le patient transplanté rénal présente un hyper métabolisme énergétique

**Montaurier C<sup>1,2</sup>, Heng A E<sup>3</sup>, Caillot N<sup>3</sup>, Blot A<sup>4</sup>, Meunier N<sup>4</sup>, Morio B<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) CHU Clermont-Ferrand, Département Néphrologie, F-63003 CLERMONT-FERRAND

(4) UEN, CRNH d'Auvergne

[Christophe.montaurier@clermont.inra.fr](mailto:Christophe.montaurier@clermont.inra.fr)

Introduction : La prise de poids est une complication fréquente après transplantation rénale. Elle a des effets néfastes tels que l'hypertension, la dyslipidémie et l'insulino-résistance. La prise de poids est incriminée dans l'augmentation du risque vasculaire et dans la perte à long terme de la fonction du greffon. Une perte de poids obtenue par une intervention diététique adaptée, chez ces patients transplantés rénaux, permet de corriger les troubles lipidiques et de faciliter l'équilibre tensionnel. L'identification des mécanismes responsables de la prise de poids permettrait de proposer des stratégies de prévention et de mettre en adéquation les apports caloriques aux besoins énergétiques des transplantés rénaux.

L'objectif est de décrire la dépense énergétique (DE) des patients transplantés rénaux dans le but de poser les bases d'une exploration ultérieure des mécanismes explicatifs de la prise de poids fréquemment rencontrée dans cette population.

Matériel et méthodes : Quinze patients hommes âgés de  $52,8 \pm 1,7$  ans, transplantés rénaux depuis plus d'un an et moins de 6 ans, traités par anticalcineurine, ayant arrêté leur traitement par corticoïdes depuis plus de 3 mois, non diabétiques et présentant une fonction rénale stable définie par une clairance de la créatinine calculée entre 30 et 90 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (IRC stade 3) selon la formule de Cockcroft et Gault, ont été examinés (après consentement éclairé et accord du CPP). Les caractéristiques de ces patients ont été comparées à celles de 9 volontaires sains appariés sur l'âge ( $54,2 \pm 1,9$  ans) et la masse maigre (MM). La composition corporelle, dont la MM, a été déterminée par DEXA. Les mesures de DE ont été effectuées en conditions contrôlées (24h en chambres calorimétriques) au cours des activités suivantes: sommeil, repos, repas, et 2 sessions de 30 min de marche sur tapis roulant (4 et 5 km/h). Les résultats de DE sont exprimés par kg de MM, en moyenne  $\pm$  SEM.

Résultats : La MM des patients et des témoins est respectivement de  $62,0 \pm 2,3$  et  $62,3 \pm 2,7$  kg (P=NS). La DE de sommeil est plus élevée de 15% chez les patients par rapport aux témoins ( $4,37 \pm 0,10$  vs.  $3,80 \pm 0,24$  kJ/h/kgMM ; P<0,05). La DE des 24h tend également à être plus élevée (+8%, P=0,057 ; patients vs. témoins:  $158,31 \pm 3,90$  vs.  $146,13 \pm 4,35$  kJ/j/kgMM). En revanche aucune différence significative n'est observée entre les patients et les témoins pour les activités de la période éveillée (marche à 4 ou 5 km/h, repas et repos).

Conclusion : Le patient transplanté rénal est fréquemment confronté à une prise de poids malgré un hyper-métabolisme de sommeil et une tendance à l'augmentation de la DE des 24h. Il est donc nécessaire de rechercher les causes possibles de la prise de poids dans la modification éventuelle de la prise alimentaire et/ou de l'activité physique spontanée.

## **Exploration of the molecular mechanisms involved in the anti-atherogenic effects of polyphenols in experimental mouse models of atherosclerosis by a transcriptomic approach**

**D. Milenkovic, C. Deval, D. Coban, A. Chanet, A. Mauray, A. Mazur, C. Morand**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[dragan.milenkovic@clermont.inra.fr](mailto:dragan.milenkovic@clermont.inra.fr)

Animal studies revealed that polyphenols, major antioxidants present in fruits and vegetables, are able to prevent the progression of atherosclerosis. Several authors have shown that these effects are independent of their antioxidant capacity or to changes in lipid parameters, suggesting that other mechanisms are involved. Recent studies suggest that polyphenols may act at the genomic level by modulating the expression of genes. The aim of the present work is to explore these molecular mechanisms in both apolipoprotein E deficient mice and C57BL6/J mice fed a high-fat/high-cholesterol diet. Mice were fed for 16 weeks a diet supplemented with one of the following polyphenols: catechin, bilberry anthocyanins, naringin or curcumin. Mice were then sacrificed and the progression of the lesions was estimated by measuring lipid deposition in the aortic root by histomorphometry. A significant decrease in the progression of atherosclerotic lesions was observed for the four polyphenols studied. The anti-atherogenic effects were independent from changes in lipid parameters or antioxidant capacity of plasma. Nutrigenomic studies of aorta using pangenomic oligonucleotides have been carried out. After image analyses and student t-test and Bonferroni correction, bioinformatic analyses have been performed using different databases. This approach revealed that polyphenols modified the expression of a few hundreds genes implicated in cell signalling, cellular adhesion and metabolic processes. Functional analysis of these data led to the identification of a cluster of common pathways related to cell-cell adhesion, cell junctions, focal adhesion, and cell cytoskeleton. These cellular functions control transendothelial migration of monocytes into the intima of blood vessels, the initial step of atherosclerosis development. Immunofluorescence analysis of the aortic sinus from the same mice confirmed a reduction of the number of macrophages in atherosclerotic lesions. Overall, this study shows that dietary polyphenols attenuate lipid deposition in the aortic root of mice possibly by modulating the expression of genes involved in adhesion and transendothelial migration.

## P10

### **Modulation of expression of miRNA by polyphenols: potential new molecular target underlying their health effects**

**Dragan Milenkovic, Christiane Deval, Augustin Scalbert, Christine Morand, Andrzej Mazur**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[dragan.milenkovic@clermont.inra.fr](mailto:dragan.milenkovic@clermont.inra.fr)

Polyphenols are the most abundant antioxidants in the human diet and are widespread constituents of fruits and beverages, such as tea, coffee or wine. Epidemiological, clinical and animal studies support a role of polyphenols in the prevention of various diseases, such as cardiovascular diseases, cancers or neurodegenerative diseases. Recent findings suggest that polyphenols could interact with cellular signaling cascades regulating the activity of transcription factors and consequently affecting the expression of genes. However, the impact of polyphenol on the expression of microRNA, small non-coding RNAs, has not yet been studied. The aim of this study was to investigate the impact of dietary supplementation with polyphenols at nutritional doses on miRNA expression in the livers of apolipoprotein E-deficient mice (apoE<sup>-/-</sup>) jointly with mRNA expression profiling. Using microarrays, we measured the global miRNA expression in the livers of wild-type (C57B6/J) mice or apoE<sup>-/-</sup> mice fed diets supplemented with one of nine different polyphenols or a control diet. This analysis revealed that knock-out of the apoE gene induced significant modulation in the expression of miRNA. Moreover, changes in miRNA expression were observed after polyphenol supplementation, and five miRNAs were identified as being commonly modulated by these polyphenols. We also observed that these polyphenols counteracted the modulation of miRNA expression induced by apoE mutation. Pathway analyses on these five miRNA-target genes revealed common pathways, some of which were also identified from a pathway analysis on mRNA profiles.

This in vivo study demonstrated for the first time that polyphenols at nutritional doses modulate the expression of miRNA in the liver. Even if structurally different, all polyphenols induced a similar miRNA expression profile. Common pathways were identified from both miRNA-target and mRNA analysis, revealing cellular functions that could be regulated by polyphenols at both the miRNA and mRNA level.

## P11

### **Citrus flavanone metabolites decrease monocyte adhesion to endothelial cells and modulation of expression of related gene in vitro**

**Audrey Chanet<sup>1,2</sup>, Dragan Milenkovic<sup>1,2</sup>, Muhammad Khan<sup>3</sup>, Svitlana Shinkaruk-Poix<sup>4</sup>, Annie Bérard<sup>5</sup>, Catherine Bennetau-Pelissero<sup>4</sup>, Andrzej Mazur<sup>1,2</sup>, Christine Morand<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) INRA, UMR 408, Université d'Avignon, F-84000 Avignon, France

(4) Université de Bordeaux - ENITA Bordeaux 1, 33 175 Gradignan cedex, France

(5) ERU « Facteurs de risque vasculaires », CHU-Université de Bordeaux 2, 33076 Bordeaux, France

[christine.morand@clermont.inra.fr](mailto:christine.morand@clermont.inra.fr)

Flavanones are a subclass of flavonoids found specifically and abundantly in citrus fruit. Prospective study, recent clinical trial and animal studies have pointed out their beneficial role on vascular function. However, little is known about the cellular and molecular mechanisms responsible for the protective effects of these bioactive compounds on atherosclerosis development and on endothelial function. The goal of this study was to decipher mechanisms of action of human plasma flavanone metabolites at physiologically-achievable concentrations in endothelial cells. We investigated the impact of naringenin and hesperetin metabolites at 0.5, 2 and 10 $\mu$ M on monocyte adhesion over TNF $\alpha$ -activated human umbilical vein endothelial cells and on expression of atherogenic genes. In this study, except hesperetin-7-glucuronide and naringenin-7-glucuronide, other flavanones metabolites (hesperetin-3'-sulfate, hesperetin-3'-glucuronide and naringenin-4'-glucuronide) at 2 $\mu$ mol/L significantly attenuated monocytes adhesion to TNF $\alpha$ -activated endothelial cells. Exposure of both monocytes and HUVEC to naringenin-4'-glucuronide and naringenin-7-glucuronide at 2 $\mu$ M potentiated the inhibitory effect of these compounds on monocyte adhesion to endothelial cells; suggesting that monocytes may also constitute cellular targets for naringenin metabolites. Gene expression analysis, using low-density arrays, revealed that flavanone circulating metabolites modulated the expression of some atherogenic genes, in particular those coding for proteins involved in docking structures formation and inflammatory processes, such as chemokines and cell adhesion molecules, in a way suggesting a reduction in the recruitment of monocytes. Taken together, our results revealed that flavanone metabolites present in human plasma following citrus consumption retain potency, at physiologically-achievable concentrations, to decrease monocyte adhesion to TNF $\alpha$ -stimulated endothelial cells. This effect could be related to changes in the expression of genes involved in monocyte recruitment during the early stages of atherosclerosis.

## P12

### **Impact of circulating cocoa flavanol metabolites on adhesion process in human endothelial cells**

**S. Claude, D. Milenkovic, N. Gerard, A. Mazur and C. Morand**

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[sylvain.claude@clermont.inra.fr](mailto:sylvain.claude@clermont.inra.fr)

Growing evidence suggests that flavonoids could play an important role in the protective effects of plant-derived food and beverages. Based on current studies, a general consensus has been achieved to sustain the hypothesis that the specific intake of foods and beverages rich in flavonoids may participate in reducing cardiovascular diseases risk through an improvement in endothelial function and a modulation of inflammation. Based on human and experimental studies, the demonstration is particularly convincing for flavonoids from cocoa-derived products, namely flavanols.

The study presented is part of the European project FLAVIOLA. The present work aims to determine the impact of the different flavanol metabolites, present in plasma after consumption of cocoa flavanols, on monocyte adhesion to endothelial cells and investigate molecular mechanisms brought into play. The circulating metabolites of flavanols used in this study are: catechin (C), epicatechin (EC), 4'methyl-epicatechin (4'MEC), epicatechin-7-glucuronide (EC7G), 4'methyl-epicatechin-7-glucuronide (4'MEC7G) and epicatechin-4'-sulfate (EC4'S) at physiologically relevant concentrations (0.5µM, 1µM, 2µM as well as 10µM). Among the tested molecules, 4'MEC, 4'MEC7G, EC4'S and EC significantly reduced adhesion at 0.1µM and 2µM. One metabolite, EC7G, significantly reduced adhesion only at 10µM concentration while catechin did not reduce adhesion. First gene expression analysis show that TNFα increased the expression of ICAM1, VCAM1 and E-selectin, while the 3h pre-exposition to 4'MEC seem to decrease expression of gene coding for ICAM1 and E-SEL at 0.5µM.

In conclusion, this study shows that the biological potency of flavanols metabolites to modulate the adhesion is different, and four were identified as effective in reducing adhesion. Their action seems to be associated with their capacity to modulate the expression of genes involved in monocytes recruitment, revealing cellular and molecular targets of flavanol underlying their anti-atherogenic effect. Other experiments are in progress to advance the identification of molecular targets and signaling pathways affected by these metabolites.

## P13

### Influence of $[Mg^{2+}/Ca^{2+}]$ imbalance on non-specific immune response

P. Libako<sup>1</sup>, J. Galli<sup>1</sup>, W. Nowacki<sup>1</sup>, A. Mazur<sup>2,3</sup>

(1) Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Science, Wrocław, Poland

(2) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[andre.mazur@clermont.inra.fr](mailto:andre.mazur@clermont.inra.fr)

Magnesium ( $Mg^{2+}$ ) is highly engaged to a metabolic net so even slight disturbances in  $Mg^{2+}$  homeostasis might lead to multiple pathophysiological events, including altered immune and inflammatory responses. The direct way the  $Mg^{2+}$  affects the inflammation and immune cell' activation still remains unclear.  $Mg^{2+}$  plays as the natural calcium ( $Ca^{2+}$ ) antagonist, so low extracellular  $Mg^{2+}$  concentration leads to an elevation of intracellular  $Ca^{2+}$ . Meanwhile,  $Ca^{2+}$  is an important second messenger in signaling processes in leukocytes, as well as in maintaining normal functions of these cells. The aim of our study was to determine the consequence of  $Mg^{2+}/Ca^{2+}$  imbalance for the proper course of non-specific immune system defense. The results could contribute to better understanding Mg status' role in pathogenesis and treatment of a broad spectrum of diseases with inflammatory background. The direct influence of extracellular  $Mg^{2+}$  (and its interactions with  $Ca^{2+}$ ) on proliferation, reactive oxygen species production, proinflammatory cytokines secretion and antigen uptake by phagocytic cells was evaluated. In vitro studies were performed on macrophage-like continuous cell line J774.E. Cells were cultured in medium with different concentrations of  $Mg^{2+}$ , in the range of 0.1 mmol/L to 5.0 mmol/L. Extracellular (verapamil) and/or intracellular (TMB-8)  $Ca^{2+}$  channel inhibitors were additionally used to assess the role of extra- and intracellular  $Ca^{2+}$ . Low extracellular  $Mg^{2+}$  content affected proliferation and primed J774.E cells for the multifaceted immune response. Pivotal role of intracellular  $Ca^{2+}$  in non-specific immune response was firmly confirmed.

## P14

### **Hesperidin is causally linked to the vascular protective effect of orange juice – implication of nutrigenomic effect**

**Dragan Milenkovic<sup>1,2</sup>, Audray Chanet<sup>1,2</sup>, Christiane Deval<sup>1,2</sup>, Claude Dubray<sup>3</sup>, Andrzej Mazur<sup>1,2</sup>, Christine Morand<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) Inserm, CIC 501, F-63003 Clermont Ferrand

[dragan.milenkovic@clermont.inra.fr](mailto:dragan.milenkovic@clermont.inra.fr)

We have shown, in healthy, middle-aged, moderately overweight men, that orange juice decreases diastolic blood pressure and significantly improves postprandial microvascular endothelial reactivity and that hesperidin could be causally linked to the observed beneficial effect of orange juice (Morand et al., AJCN 2011). The objective of the present study was to determine the effect of chronic consumption of orange juice on the gene expression profile of leukocytes in healthy volunteers and to assess to what extent hesperidin is involved in the genomic effect of orange juice. Volunteers were included in a randomized, controlled, crossover study. Throughout three 4-week periods, volunteers consumed daily: 500 ml orange juice, 500 ml control drink plus hesperidin or 500 ml control drink and placebo. Blood samplings were performed on 10 overnight-fasted subjects after the 4-week treatment period. Global gene expression profiles were determined using human whole genome cDNA microarrays. Both orange juice and hesperidin consumption significantly affected leukocyte gene expression. Orange juice consumption induced changes in expression of 3,422 genes, while hesperidin intake modulated the expression of 1,819 genes. Between the orange juice and hesperidin consumption groups, 1,582 regulated genes were in common. Many of these genes are implicated in chemotaxis, adhesion, infiltration and lipid transport, which is suggestive of lower recruitment and infiltration of circulating cells to vascular wall and lower lipid accumulation. In conclusion, this study shows that regular consumption of orange juice for 4 weeks alters leukocyte gene expression to an anti-inflammatory and anti-atherogenic profile, and that hesperidin displays a relevant role in the genomic effect of this fruit juice.

## P15

### **Fructose-fed rat model of metabolic syndrome and its dietary modulation: a nutrigenomic approach**

**A. Mazur<sup>1,2</sup>, D. Milenkovic<sup>1,2</sup>, R. Llorach<sup>1,2</sup>, M-H. Rault<sup>1,2</sup>, S. Polakof<sup>1,2</sup>, C. Demougeot<sup>3</sup>, D. Bayle<sup>1,2</sup>, B. Lyan<sup>1,2</sup>, J-F. Martin<sup>1,2</sup>, E. Pujos<sup>1,2</sup>, B. Comte<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) EA 4267 Sciences Séparatives, Biologiques et Pharmaceutiques, UFR des Sciences Médicales et Pharmaceutiques, 25030 Besançon, France

[andre.mazur@clermont.inra.fr](mailto:andre.mazur@clermont.inra.fr)

High consumption of simple carbohydrates instead of complex ones is nowadays known to contribute to a cluster of diseases named the metabolic syndrome (MS) leading to type 2 diabetes and cardiovascular diseases. The complex pathways linked to carbohydrate metabolism underlying the development of MS and its consequences are still poorly documented. To better define nutritional strategies aiming to prevent the development of MS, an integrated nutrigenomic approach will contribute to a deeper understanding of the complexity of the diet and nutrients. In the present study, Wistar male rats were fed either a starch-based diet (65 % wt/wt) or a fructose-based diet (65 % wt/wt) for a period of 1 month. Additionally, two other groups received diets in which starch or fructose were partly substituted with inulin-type fructans (10 % wt/wt). Most of the features of the MS were developed in the fructose-fed group, including higher blood pressure and hypertriglyceridemia, accompanied by liver lipid accumulation. In contrast, we observed in rats receiving the fructose-based diet with inulin, that these symptoms were partially corrected. Using untargeted nutrigenomic approaches, namely metabolomics on urine and transcriptomics on aorta, we were able to discriminate the experimental groups which presented distinct metabolic signatures. Identification of the metabolites and genes responsible for such discrimination will further allow specific targets for these dietary carbohydrates.

## P16

### **Dietary curcumin exhibits antiatherogenic effect by modulating the expression of genes involved in leukocyte adhesion and transendothelial migration**

**Dilek COBAN<sup>1,2</sup>, Dragan MILENKOVIC<sup>1,2</sup>, Audrey CHANET<sup>1,2</sup>, Jamila KHALLOU-LASCHET<sup>3</sup>, Linde SABBE<sup>4</sup>, Wim VANDEN BERGHE<sup>4</sup>, Andrzej MAZUR<sup>1,2</sup>,  
Christine MORAND<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) INSERM UMRS698, Team4 «Cardiovascular Immunopathology », GH Bichat-Claude Bernard, 75877 Paris, France

(4) Laboratory for Eukaryotic Gene Expression and Signal Transduction LEGEST, Department Physiology, University Ghent, K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Ghent, Belgium

[christine.morand@clermont.inra.fr](mailto:christine.morand@clermont.inra.fr)

Curcumin, the principal curcuminoid in turmeric, is a spice obtained from the rhizomes of *Curcuma longa* that is commonly consumed in South and South East Asian countries. Curcumin has been shown to exhibit potent antioxidant, anti-inflammatory, immunomodulatory, pro-apoptotic and anti-angiogenic properties. Epidemiological studies and clinical trials have shown an important chemoprotective effect of curcumin on colorectal and pancreatic cancers. So far, no clinical trial had considered the cardiovascular protective effect of curcumin. Nevertheless, several animal studies have reported hypo-cholesterolemic, antioxidant, and antiplatelet activities of this compound; properties which are potentially interesting to prevent atherosclerosis development. Based on the above considerations, the aim of the study was to examine the atheroprotective effect of dietary curcumin in a mouse model of atherosclerosis and to identify, using transcriptomics, its cellular and molecular targets at the vascular level. ApoE<sup>-/-</sup> mice were fed with curcumin at 0.2% (wt/wt) in diet for 4 months. This supplementation, nutritionally achievable, reduced the extent of atherosclerotic lesion by 26% and induced changes in expression of genes implicated in cell adhesion and transendothelial migration or cytoskeleton organization, as revealed by a transcriptomic analysis in the aorta. These changes in gene expression could be related to the observed increased expression of I $\kappa$ B protein as quantified by Western blot. Expression profile of these genes suggests reduction in both leukocyte adhesion and transendothelial migration. In agreement with this hypothesis, we have observed a reduction (-37%) in macrophage infiltration in the plaque, as measured by immunohistochemistry, and, *in vitro*, a lower adhesion of monocytes to TNF $\alpha$ -stimulated endothelial cells (-32%) after exposure to a nutritionally achievable concentration of curcumin. In conclusion, our findings have pointed out that the antiatherogenic effect of dietary curcumin could be linked to its effect on gene networks and cell functions related to leukocyte adhesion and transendothelial migration via NF- $\kappa$ B dependent pathways.

## P17

### **Naringin, the major grapefruit flavonoid, presents anti-atherogenic property in diet-induced hypercholesterolemia in mice**

**Audrey Chanet<sup>1,2</sup>, Dragan Milenkovic<sup>1,2</sup>, Catherine Bennetau-Pelissero<sup>3</sup>, Annie M. Bérard<sup>4</sup>, Andrzej Mazur<sup>1,2</sup>, Christine Morand<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) Université de Bordeaux - ENITA Bordeaux 1, cours du Général de Gaulle 33 175 Gradignan cedex, France

(4) ERU « Facteurs de risque vasculaires », CHU-Université de Bordeaux, case 49, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France

[christine.morand@clermont.inra.fr](mailto:christine.morand@clermont.inra.fr)

Naringin from grapefruit has exhibited potential protective effects against atherosclerosis development. However, specific mechanisms responsible for such effects are poorly understood. The aimed of this study was to investigate the anti-atherogenic effects of naringin in different mouse models of hypercholesterolemia and decipher its molecular targets in the aorta using transcriptomic approach. Two mouse models of hypercholesterolemia, wild-type mice fed a high-fat/high-cholesterol diet and apolipoprotein E deficient mice fed a semi-synthetic diet, were studied. Mice were fed a respective control diets supplemented or not for 18 weeks with 0.02% of naringin *i.e.* nutritional supplementation. Naringin supplementation reduced plaque progression only in wild-type mice fed the high-fat/high-cholesterol diet (-41%). Consistent with this protective effect, naringin reduced plasma non HDL-cholesterol concentrations as well as biomarkers of endothelial dysfunction. Microarray studies performed on aortas demonstrated differentially expressed genes encoding proteins involved in cell adhesion, actin cytoskeleton organization and cell division. Therefore, the changes in gene expression induced by naringin could suggest a limited atherosclerosis progression by preventing immune cell adhesion and infiltration in the intima of vascular wall, as well as smooth muscle cell proliferation. Furthermore, this hypothesis was strengthened by *in vitro* experiments, which showed the ability of naringenin to reduce monocyte adhesion to endothelial cells and smooth muscle cell proliferation. In conclusion, this study revealed the antiatherogenic effect of naringin supplemented at a nutritionally achievable dose, specifically toward diet-induced atherosclerosis, and depicted its multi-target mode of action at the vascular level.

## P18

### **Effet d'une supplémentation en oméga-3 sur des cardiomyocytes de patients atteints d'athérosclérose coronaire - étude préliminaire**

**Mehdi Farhat<sup>1,3</sup>, Kasra Azarnoush<sup>3</sup>; Brigitte Laillet<sup>1,2</sup>; Jean-Paul Rigaudière<sup>1,2</sup>,  
Valerie Batel<sup>3</sup>; Lionel Camilleri<sup>3</sup>; Beatrice Morio<sup>1,2</sup>; Jean-Michel Chardigny<sup>1,2</sup>,  
Corinne Malpuech-Brugère<sup>1,2</sup>**

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

(3) CHU Clermont-Ferrand, Service Chirurgie Cardiovasculaire, F-63003 CLERMONT-FERRAND

[corinne.malpuech-brugere@u-clermont1.fr](mailto:corinne.malpuech-brugere@u-clermont1.fr)

Les acides gras polyinsaturés à longue chaîne de type oméga-3 (AGPI  $\omega$ -3) ont été rapportés comme ayant de nombreux effets bénéfiques dans la prévention cardiovasculaire. A l'inverse, les études de l'effet de la supplémentation en oméga-3 réalisées en chirurgie cardiaque sont moins importantes et ne permettent pas de trancher sur l'effet préventif de ces acides gras notamment sur la fibrillation atriale (FA) post-opératoire. La diminution de la fréquence de la FA en post-opératoire de chirurgie cardiaque chez les patients ayant bénéficié d'une supplémentation en oméga-3 péri-opératoire est une simple constatation clinique.

L'objectif principal de cette étude a été de montrer l'existence d'une modification membranaire des cardiomyocytes atriales chez les patients atteints d'athérosclérose coronaire bénéficiant d'une supplémentation péri-opératoire de 4 semaines en oméga-3 pouvant expliquer les potentiels effets sur la fibrillation atriale post-opératoire.

Différents marqueurs ont été analysés au niveau clinique (apparition du trouble du rythme), biochimique (dosages des lipides circulants, des acides gras, plasmatique ou du tissu atrial), et métaboliques avec notamment une étude des membranes des cardiomyocytes en polarisation de fluorescence avec du 1,6- diphényl-1,3,5-hexatriène (DPH).

Les premiers résultats de diminution de trouble du rythme supra-ventriculaire post-opératoire, d'enrichissement plasmatique et de fluidité ont confirmé l'effet bénéfique de la supplémentation en oméga-3 en pré-opératoire. En revanche, sur le tissu atrial, il n'a pas été mis en évidence de différence sur le taux membranaire d'AGPI de type oméga-3 des patients supplémentés.

## P19

### **Implication du canal calcique voltage dépendant Cav3.2 dans l'hypersensibilité colique d'origine inflammatoire**

**Boudieu Ludivine, Mathieu Meleine, Emilie Chrétien, Agathe Gelot, Denis Ardid**

Unité INSERM U766, Laboratoire de Pharmacologie fondamentale et Clinique de la douleur, Faculté de Médecine, 28 Place Henri Dunant, BP 38, 63001 Clermont Ferrand, Cedex 1

[lu.boudieu@gmail.com](mailto:lu.boudieu@gmail.com)

#### **Pourquoi s'intéresser à l'hypersensibilité colique (HSC) d'origine inflammatoire**

? Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (maladie de Crohn et la recto colite hémorragique) touchent 2,2 millions de personnes en Europe (Loftus, 2004) dont 70 % souffrent d'HSC (Beattie et al., 2006). Ces pathologies se caractérisent par des lésions inflammatoires chroniques dont l'étiologie reste mal connue. Les traitements actuels visant à limiter cette douleur présentent une efficacité limitée. Il est donc essentiel de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

**Pourquoi étudier la piste des canaux calciques voltage dépendant Cav 3.2 ?** Le rôle pronociceptif de ces canaux calciques Cav 3.2 a déjà été mis en évidence dans des douleurs neuropathiques (Bourinet et al., 2005), et ils pourraient donc représenter une piste intéressante pour le traitement de l'HSC.

**Comment évaluer l'implication de ce canal Cav3.2 dans l'HSC d'origine inflammatoire ?**

Un modèle murin d'HSC d'origine inflammatoire (DSS 1% durant 14 jours) a été mis en place chez des souris Knock Out pour ce canal Cav 3.2 (KO Cav 3.2) –et chez leur littermates correspondantes (WT). La sensibilité a été évaluée par distension colorectale couplée à un enregistrement EMG (réponses viscéromotrices).

**Résultats** Les réponses viscéromotrices sont similaires entre les animaux KO Cav 3.2/DSS1% et WT/DSS1%. Le canal Cav 3.2 ne semble donc pas impliqué dans cette HSC d'origine inflammatoire. Ces résultats ont été confirmés par le marquage immunohistochimique de la protéine Fos au niveau des ganglions de la racine dorsale et de la corne dorsale de la moelle épinière (aucune différence entre les animaux KO Cav 3.2/DSS1% et WT/DSS1%).

**Le canal Cav 3.2 participe t-il néanmoins à la réaction inflammatoire au niveau colique ?**

L'atteinte inflammatoire des côlons à été évaluée par dosage de l'activité enzymatique de la myéloperoxydase, de la concentration plasmatique d'interleukine IL-6 et par l'atteinte histologique des côlons. Ces paramètres montrent que les animaux KO Cav 3.2/DSS 1% ont une atteinte inflammatoire plus faible que les WT/DSS1%, ce qui suggèrent que le canal Cav 3.2 pourrait avoir un rôle pro-inflammatoire au niveau viscéral.

## P20

### Nouveaux biomarqueurs du carcinome hépatocellulaire : premiers résultats de l'analyse métabolomique par spectroscopie RMN-<sup>1</sup>H

Morvan D, Abergel A, Teilhet C, Demidem A

Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND  
INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND

[Aicha.demidem@clermont.inra.fr](mailto:Aicha.demidem@clermont.inra.fr)

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente la 3<sup>ème</sup> cause de mortalité par cancer dans le monde. Le diagnostic de CHC en présence d'un nodule hépatique repose actuellement sur sa prise de contraste en imagerie. En l'absence de ce critère, il n'existe pas de marqueur spécifique du CHC, y compris l'alpha-foeto protéine sérique. La recherche de nouveaux biomarqueurs du CHC s'impose et la métabolomique est un nouvel outil dans cet objectif. Dix patients ayant subi une hépatectomie ont été recrutés. Des prélèvements de tissu tumoral et non-tumoral (> 2 cm de la tumeur) ont été réalisés. Leurs extraits aqueux ont été analysés par Spectroscopie RMN-<sup>1</sup>H. Environ 20 métabolites ont été identifiés et quantifiés. Le tissu tumoral avait une teneur plus importante en lactate, alanine, glutamine, glutamate, glutathion, phosphoéthanolamine et acide ascorbique par rapport au tissu non-tumoral (P<0.05) mais une teneur plus faible en succinate, glucose et glycogène (P<0.05). L'analyse en composantes principales (ACP) des données a été réalisée. La 1<sup>ère</sup> composante de l'ACP opposait le statut différencié du tissu à son statut antioxydant. La 2<sup>ème</sup> composante opposait le statut d'hyperglycolyse à une bioénergétique basée sur la créatine. Les tissus non-tumoraux se caractérisaient par un statut différencié (glucose, glycogène élevés) et une faible activité antioxydante (faible teneur en glutathion et acide ascorbique). Les tissus tumoraux étaient pour la plupart hyperglycolytiques, à faible teneur en glutamine et à haute teneur en antioxydants. **Conclusion** : Dans cette première étude, les empreintes métaboliques obtenues permettaient le diagnostic de CHC avec une sensibilité de 71% et une spécificité de 100%. Les métabolites les plus discriminants pour le diagnostic de CHC étaient : glutathion, phosphoéthanolamine et acide ascorbique.

## P21

### High fat diet modulates gut microbiota composition, favors aiec colonization and promotes inflammation in ceabac10 mice

Margarita Martinez-Medina, Jérémy Denizot, Elisabeth Billard, Arlette Darfeuille- Michaud, Nicolas Barnich

Nicolas Barnich JE2526 Université d'Auvergne, USC-INRA 2018, Clermont-Ferrand, France

[Nicolas.Barnich@u-clermont1.fr](mailto:Nicolas.Barnich@u-clermont1.fr)

**Background.** Host genotype, environmental factors and intestinal microbiota play a role in Crohn's disease (CD). Abnormal expression of CEACAM6 by ileal epithelium in CD patients allows Adherent-Invasive *Escherichia coli* (AIEC) to colonize gut mucosa, leading to inflammation. Epidemiologic evidence incriminate increased fat intake as risk factor for inflammatory bowel disease.

**Aims and methods.** Our aim was to evaluate the effects of lipid rich diet in terms of gut microbiota composition, AIEC colonization, intestinal permeability and inflammation using CEABAC10 C57BL/6 mice expressing human CEACAM6. Ten weeks old CEABAC10 and WT mice were treated with conventional or high-fat diet for 7 to 11 weeks. A subset of each condition was infected with AIEC strain LF82.

**Results.** High fat diet during a 7 week period significantly increased intestinal permeability in CEABAC10 mice, but not in WT mice. In addition, global fecal microbial composition was changed after high fat diet treatment in both mouse genotypes with increased number of *Escherichia coli*. Orally AIEC-infected high fat-treated CEABAC10 mice showed increased persistence of LF82 bacteria in stools compared to CEABAC10 receiving conventional food or WT mice irrespectively of diet type. High fat diet in AIEC-infected CEABAC10 mice led to increased inflammation as observed with higher release of TNF- $\alpha$  and IL-12 and increased histological scores. Moreover, altered colonic microbiota was observed in AIEC-infected CEABAC10 mice fed with high fat compared to conventional food, with increased abundance of not only of *E. coli* but also of *Bacteroides* spp. In addition, high decrease in mucosa-associated bacteria from the *Clostridium leptum* group was observed.

**Conclusion.** These results strongly support the multifactorial theory of CD aetiology and gives weight to fat intake combined with AIEC infection and abnormal expression of CEACAM6 as risk factors for CD

## P22

### **Etude en conditions coliques simulées des propriétés antagonistes de levures du genre *Saccharomyces* vis-à-vis des *Escherichia coli* entérohémorragiques O157:H7**

**Jonathan Thévenot, Valérie Livrelli, Lucie Etienne-Mesmin, Sylvain Denis, Sandrine Chalancon, Monique Alric, Stéphanie Blanquet-Diot**

ERT CIDAM Faculté de Pharmacie 28, place Henri Dunant 63001 Clermont-Ferrand

[Stephanie.BLANQUET@u-clermont1.fr](mailto:Stephanie.BLANQUET@u-clermont1.fr)

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC), en particulier le sérotype O157:H7, sont des pathogènes émergents responsables de toxi-infections alimentaires, à l'origine de diarrhées hémorragiques pouvant évoluer vers des atteintes systémiques potentiellement mortelles chez l'homme. La pathogénicité de ces bactéries est principalement due à la production de Shiga-toxines. L'absence de traitement spécifique a conduit à s'intéresser à des moyens préventifs et/ou curatifs alternatifs comme l'utilisation de probiotiques. La survie des EHEC dans l'environnement colique humain est importante pour leur virulence mais mal connue par manque de modèles d'études adaptés.

Les objectifs de ce travail sont (i) d'évaluer en système *in vitro* colique dynamique (fermenteur semi-continu) la survie d'*E. coli* O157:H7 et l'effet antagoniste potentiel de deux souches de levures probiotiques du genre *Saccharomyces*, *S. boulardii* et *S. cerevisiae* CNCM I-3856 et (ii) de déterminer l'influence des bactéries pathogènes et des levures sur le microbiote colique humain inoculé dans le système *in vitro* et son activité métabolique.

Le pathogène est progressivement éliminé du milieu fermentaire (moins de 5% des bactéries sont retrouvés 36 h après inoculation), probablement en raison d'un effet barrière du microbiote intestinal, et sa survie n'est pas modifiée par la co-administration des levures. Les principales populations cultivables du microbiote colique et leur activité métabolique ne sont que très peu influencées par l'ajout d'*E. coli* O157:H7 et par celui des levures probiotiques.

Afin d'appréhender l'ensemble des mécanismes antagonistes de *S. boulardii* et *S. cerevisiae* CNCM I-3856 vis-à-vis d'*E. coli* O157:H7, l'influence des levures sur la production de Shiga-toxines sera prochainement évaluée en conditions coliques humaines simulées.

## P23

### Etude de l'influence du régime alimentaire dans le développement d'une inflammation colique chez le rat.

**Boussenna A<sup>1</sup>, Joubert-Zakeyh J<sup>2</sup>, Rossary A<sup>3</sup>, Fraisse D<sup>1</sup>, Texier O<sup>1</sup>, Vasson MP<sup>3</sup>, Felgines C<sup>1</sup>**

(1) Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie, EA 4233, UFR de Pharmacie  
Clermont-Ferrand

(2) Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Estaing Clermont-Ferrand

(3) Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition, EA 4233, UFR de Pharmacie  
Clermont-Ferrand

[ahlem.boussenna@u-clermont1.fr](mailto:ahlem.boussenna@u-clermont1.fr)

L'inflammation intestinale chronique est un facteur de risque de développement d'un cancer colorectal. Au cours de celle-ci, une dysrégulation du système immunitaire est associée à une augmentation du stress oxydant. Différents facteurs nutritionnels peuvent moduler cette inflammation. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence du régime alimentaire dans le développement d'une inflammation colique induite par l'administration de sulfate de dextran sodique (DSS) chez le rat. Pour cela, des rats Wistar (n=32) ont été nourris *ad libitum* durant 28 jours avec soit un régime standard du commerce (Harlan, Gannat), soit un régime semi-synthétique purifié (UPAE, INRA Jouy-en-Josas). Durant les 7 derniers jours, la moitié des animaux de chaque groupe (n=8) a reçu du DSS (4%) dans l'eau de boisson. L'effet de ces deux régimes sur l'inflammation colique a été évalué par la détermination de différents paramètres cliniques (Disease Activity Index : DAI) et histologiques, de marqueurs biologiques de l'inflammation (activité de la myéloperoxydase MPO) et du stress oxydant (activités de la superoxyde dismutase SOD et de la catalase CAT, peroxydation lipidique évaluée par dosage du malondialdéhyde MDA). La consommation de DSS induit un état inflammatoire plus marqué chez les animaux ayant reçu le régime purifié, ce qui se traduit par un DAI plus élevé et une augmentation plus marquée du score histologique et de l'activité de la MPO. Une diminution significative de l'activité de la SOD et de la CAT est également observée chez les rats nourris avec le régime purifié. Ces résultats montrent qu'un régime purifié favorise le développement d'une inflammation colique plus sévère qu'un régime standard et soulignent l'influence du régime alimentaire. Ces travaux sont réalisés en collaboration avec la société Biosphère 99 (Saint-Bonnet-de-Rochefort).

## P24

### **La consommation de saumon au cours de la grossesse modifie-t-elle la disponibilité en acides aminés pour la mère et le fœtus ?**

**Adrien Rossary<sup>1</sup>, Marie-Chantal Farges<sup>1</sup>, Stéphanie Rougé<sup>1</sup>, Bjorn Liaset<sup>3</sup>, Livar Froyland<sup>3</sup>, Philip C. Calder<sup>2</sup>, Marie-Paule Vasson<sup>1,4</sup>.**

(1) EA 4233, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand,  
(2) University of Southampton, United Kingdom,  
(3) NIFES, Bergen, Norway, 4 Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand

[adrien.rossary@u-clermont1.fr](mailto:adrien.rossary@u-clermont1.fr)

L'étude SiPS (Salmon in Pregnancy Study, FOOD-CT-2006-16249) avait pour objectif d'étudier au cours de la grossesse l'effet de la consommation de saumon, poisson riche en acides gras poly-insaturés  $\omega$ -3, sur les défenses immunitaires et le métabolisme, en particulier sur la disponibilité des acides aminés (AA) pour la mère et l'enfant à naître.

Cent vingt et une (121) femmes enceintes (age =  $28,4 \pm 4,7$  ans, IMC =  $25,9 \pm 5,1$  kg/m<sup>2</sup>) ont été réparties en un groupe contrôle (CG n = 59) recevant son régime alimentaire habituel et un groupe saumon (SG n = 62) recevant deux portions de 150 g de saumon par semaine de la 20<sup>ème</sup> semaine de grossesse à l'accouchement. Une évaluation clinique a été réalisée à la 20<sup>ème</sup> et 34<sup>ème</sup> semaines et à l'accouchement (s38), avec un prélèvement sanguin et un questionnaire alimentaire. La concentration plasmatique en acides aminés a été déterminée par HPLC avec dérivation post colonne à la ninhydrine.

Au cours de la grossesse, les concentrations plasmatiques en acides aminés essentiels (AAE) augmentent significativement dans le groupe SG (s38 : CG  $579 \pm 114$   $\mu$ mol/l, SG  $634 \pm 88$   $\mu$ mol/l,  $p < 0,05$ ). Cette augmentation porte sur la thréonine (s38 : CG  $190 \pm 46$   $\mu$ mol/l, SG  $214 \pm 42$   $\mu$ mol/l,  $p < 0,05$ ). Les concentrations en lysine et en acides aminés à chaîne ramifiée (AACR) sont maintenues dans le groupe SG alors qu'elles diminuent dans le groupe CG (s38 : CG  $123 \pm 30$   $\mu$ mol/l, SG  $138 \pm 24$   $\mu$ mol/l pour la lysine,  $p < 0,05$  ; CG  $212 \pm 42$   $\mu$ mol/l, SG  $227 \pm 35$   $\mu$ mol/l pour les AACR,  $p < 0,05$ ).

A la naissance les nouveaux-nés présentent des concentrations en AA similaires entre les deux groupes mais significativement augmentés par rapport aux teneurs de leurs mères ( $p < 0,05$ ). L'enrichissement en AAE observé chez les mères n'a pas de répercussion sur la concentration plasmatique en AAE des nourrissons (CG  $1212 \pm 169$   $\mu$ mol/l, SG  $1191 \pm 179$   $\mu$ mol/l). Cela est probablement lié à la fine régulation du transport fœto-placentaire des AA.

Ainsi la consommation de saumon deux fois par semaine au cours de la grossesse induit un enrichissement en AAE du sang maternel indiquant un bénéfice potentiel pour la santé. Néanmoins, le régime alimentaire ne modifie pas les concentrations en acides aminés des nouveaux-nés remarquablement plus élevées que les concentrations maternelles.

## P25

### OBESITE ET CANCEROGENESE MAMMAIRE : IMPLICATION DU MICROENVIRONNEMENT TUMORAL ADIPOCYTAIRE.

**DUBOIS V.**<sup>1,2</sup>; **DELORT L.**<sup>1,2</sup>; **BILLARD H.**<sup>1,2</sup>; **JARDE T.**<sup>1,2</sup>; **PERRIER S.**<sup>1,2</sup>;  
**VASSON MP.**<sup>2,3,4</sup> **CALDEFIE-CHEZET F.**<sup>1,2,4</sup>

(1) Laboratoire SVFp,

(2) EA4233 « Nutrition, Cancérogénèse et Thérapie Antitumorale », CRNH-Auvergne, UFR Pharmacie, IFR Santé 79,

(3) Unité de Nutrition, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand,

(4) Cancéropôle Lyon Auvergne Rhône-Alpes.

[Virginie.dubois@u-clermont1.fr](mailto:Virginie.dubois@u-clermont1.fr)

L'obésité est considérée comme un facteur de risque de développement du cancer du sein en post-ménopause. Les sécrétions adipocytaires (i.e. les adipokines), dont les taux sont modulés en cas d'obésité, peuvent jouer un rôle au cours de la cancérogénèse mammaire. Afin de mieux comprendre le rôle du microenvironnement adipocytaire dans le développement tumoral, nous avons recherché l'implication des adipokines dans le cancer du sein par deux approches complémentaires : Une étude pré-clinique dans laquelle, a été mis en évidence l'expression d'adipokines (leptine, adiponectine, ZAG) et leurs récepteurs (immunohistochimie) sur des biopsies, saines ou tumorales, et les corrélations existantes avec divers marqueurs (apoptose, voie des oestrogènes...). Des études in vitro où nous avons évalué l'influence d'adipokines sur la prolifération (fluorescence à la résazurine), l'apoptose et le cycle cellulaire (cytométrie en flux), ainsi que sur différents événements de l'angiogenèse (prolifération, migration et formation de tubes endothéliaux, sécrétion de VEGF).

Etudes pré-clinique : Au niveau du cancer canalaire, ainsi que du tissu normal avoisinant la tumeur, on retrouve une expression forte de la leptine et de la ZAG et faible d'adiponectine alors que ces deux premières adipokines ne sont pas exprimées au niveau du tissu sain chez les femmes non porteuses de tumeur.

Etudes in vitro : la leptine entraîne une augmentation de la prolifération des cellules MCF7 et une diminution de l'apoptose, alors que l'adiponectine a un effet antiprolifératif. Sur le processus d'angiogenèse, la leptine stimule la prolifération, la migration et la formation de tubes endothéliaux ainsi que la sécrétion de VEGF par les cellules cancéreuses, alors que l'adiponectine a un effet opposé.

Ces résultats montrent que la leptine a un effet pro-cancérogène et pro-angiogénique, alors que l'adiponectine aurait des effets opposés. Ces études vont être poursuivies notamment en étudiant l'impact des sécrétions globales sur les cellules cancéreuses mais aussi en suivant l'évolution de l'expression des adipokines chez des patientes avant et après apparition du cancer.

## P26

### **Variation de poids et mécanismes impliqués, au cours du traitement par chimiothérapie des patientes atteintes d'un cancer du sein non métastatique**

**Emilie Gadéa, Emilie Thivat, Béatrice Morio, Xavier Durando**

Centre Jean Perrin, Service de recherche clinique  
58 rue Montalembert  
63011 Clermont-Ferrand

[emilie.GADEA@cjp.fr](mailto:emilie.GADEA@cjp.fr)

Outre les facteurs pronostiques reconnus du cancer du sein (l'âge, la taille de la tumeur, l'envahissement ganglionnaire axillaire, le type histologique, le grade), un indice de masse corporelle (IMC) élevé au moment du diagnostic semble également être un facteur de mauvais pronostic. De même, la valeur péjorative de la variation de poids durant la chimiothérapie adjuvante a été observée dans plusieurs études. Une étude rétrospective sur 111 patientes atteintes d'un cancer du sein non métastatique a récemment été réalisée au Centre Jean Perrin. Il a été montré qu'une variation de poids supérieure à 5% (perte ou prise de poids) au cours du traitement de chimiothérapie augmentait le risque de rechute (RR 2.24; IC 95% [1.29-3.87]) et de décès (RR 1.99; IC 95% [1.17-3.39]) et ceci de manière indépendante de l'IMC initial.

C'est pourquoi le Centre Jean Perrin, en collaboration avec l'Unité de Nutrition Humaine (INRA), a mis en place une étude clinique prospective dans le but de caractériser cette variation de poids en terme de composition corporelle (masse grasse/masse maigre) et d'identifier les mécanismes et facteurs biologiques associés à cette variation de poids.

Différentes mesures sont effectuées avant et après la chimiothérapie puis six mois après, à savoir : la composition corporelle (masse maigre, grasse), la balance énergétique (apports alimentaires vs. métabolisme de base et dépense énergétique liée à l'activité physique), et des facteurs biologiques plasmatiques potentiellement associés à la variation de composition corporelle (insulino-résistance, adipokines, hormones sexuelles et thyroïdiennes, facteurs inflammatoires et de croissance). Pour cela, un recrutement de 100 patientes est attendu sur une période de deux ans.

Cette étude permettra d'évaluer l'impact de la chimiothérapie sur la composition corporelle des patientes atteintes d'un cancer du sein et d'identifier des pistes quant aux causes de la variation de poids et aux facteurs métaboliques associés.

La compréhension de ces mécanismes est essentielle afin d'élaborer des stratégies de prévention individuelle (nutrition et activité physique) dans le but d'améliorer le pronostic des patientes atteintes d'un cancer du sein et bénéficiant d'une chimiothérapie.

## P27

### **Limiter les complications de la radiochimiothérapie (rct) des cancers de la tête et du cou : effet d'une immunonutrition**

**C. Bouteloup, J. Talvas, A-F. Dillies, P. Bachmann, A-C. Achim, D. Pezet, P. Pommier, S. Racadot, M. Ramdani. M-P. Vasson**

EA4233, Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition, UFR Pharmacie, Clermont-Ferrand

[jeremie\\_talvas@u-clermont1.fr](mailto:jeremie_talvas@u-clermont1.fr)

L'objectif de cette étude était d'évaluer si une nutrition entérale enrichie en pharmanutriments (arginine, acide gras omega-3, nucléotides) administrée au cours de la RCT modifie le statut nutritionnel et oxydatif ainsi que les performances fonctionnelles de patients atteints de cancer de la tête et du cou.

L'étude multicentrique randomisée en double aveugle a comparé 28 patients répartis en deux bras : un groupe recevant la Nutrition Entérale Enrichie (Impact®, Nestlé) (groupe NEE, n=15) et un groupe recevant la Nutrition Entérale Standard iso-énergétique, iso-azotée, (groupe NES, n=13). L'efficacité de l'intervention a été évaluée par quantification de l'argininémie, de l'EPA et du DHA plasmatique, et de l'uricémie au début (Ji) et à la fin (Jf) de la RCT. Le statut nutritionnel et oxydatif des patients a été évalué respectivement par le NRI et le TEAC, et leurs capacités fonctionnelles à l'aide de l'indice de Karnofsky.

Pour le groupe NEE, l'immunonutrition a permis de maintenir l'argininémie a contrario du groupe NES ( $62.2 \pm 19.3$  vs  $40.5 \pm 17.2 \mu\text{mol/l}$ , NES, Ji vs Jf,  $p < 0.05$ ). Les concentrations plasmatiques d'EPA et DHA ont été fortement augmentées par la NEE entre Ji et Jf (EPA :  $0.81 \pm 0.6$  vs  $6.51 \pm 2.9$  ; DHA :  $1.87 \pm 0.3$  vs  $3.92 \pm 0.7$ , % des acides gras totaux, NEE, Ji vs Jf,  $p < 0.05$ ) ainsi que l'acide urique, reflet du métabolisme des nucléotides, ( $259 \pm 93$  vs  $349 \pm 96 \mu\text{mol/l}$ , NEE, Ji vs Jf,  $p < 0.05$ ).

La variation de la capacité anti-oxydante plasmatique a été significativement différente entre les 2 groupes, avec une diminution dans le groupe NES et une augmentation dans le groupe NEE ( $-118 \pm 191$  vs  $+97 \pm 89$  Eq.Trolox, NES vs NEE,  $p < 0.05$ ). Le statut nutritionnel a été amélioré dans le groupe NEE vs NES, particulièrement chez les patients dénutris à Ji (NRI :  $89.4 \pm 4.3$  vs  $93.8 \pm 3.8$ , NEE, Ji vs Jf,  $p < 0.05$ ).

L'indice de Karnofsky a été maintenu pour le groupe NEE, à la différence du groupe NES pour lequel il s'est effondré ( $85.4 \pm 10.5$  vs  $72.5 \pm 12.9$ , NES, Ji vs Jf,  $p < 0.05$ ).

Ces résultats démontrent qu'une nutrition entérale enrichie en pharmanutriments permet d'améliorer le statut anti-oxydant et nutritionnel et de limiter l'altération des performances fonctionnelles des patients cancéreux soumis à une radiochimiothérapie.

## P28

### **Comparaison du Taux de Méthylation du Promoteur de BRCA2 dans l'ADN du Sang Périphérique dans une Etude Cas-Témoins de Cancer Sporadique du Sein en Auvergne**

**Nicolas Sonnier, Rémy Bosviel, Julie Durif, Mourad Mebrek, Jiaoli Guo, Fabrice Kwiatkowski, Yves-Jean Bignon, Dominique J. Bernard-Gallon**

Département d'Oncogénétique du Centre Jean Perrin, CBRV, 28 place Henri Dunant, BP 38, 63001 Clermont-Ferrand

[nicolas.sonnier@cjp.fr](mailto:nicolas.sonnier@cjp.fr)

Nous avons fait une étude comparative du taux de méthylation des résidus cytosines au niveau des îlots CpG présents dans le promoteur du gène BRCA2 dans une population de femmes atteintes de cancer du sein (population COSA) par rapport à une population témoin, afin d'en étudier la validité du test clinique à travers la courbe ROC (Receiver Operating Characteristics). Pour cela, une technique appelée QAMA (Quantitative analysis of methylated alleles) a été utilisée. Elle repose sur une étape de modification au bisulfite de sodium suivie d'une PCR quantitative en temps réel.

Les échantillons utilisés pour cette étude sont l'ADN extrait des prélèvements sanguins périphériques provenant des populations du programme COSA (873 cas de cancers du sein) et 980 échantillons provenant de femmes témoins.

L'analyse des données a permis de constater une légère augmentation non significative ( $p=0,10$ ) du pourcentage de méthylation au niveau du promoteur de BRCA2 chez les patientes COSA (16,9%) par rapport aux patientes témoins (16,2%).

La réalisation d'une courbe ROC a permis de mettre en évidence un seuil optimal pour la validité du test clinique à 16,21%. Les personnes présentant un taux de méthylation supérieur à ce seuil possèdent un risque plus élevé de développer un cancer du sein.

De plus, des différences ont été observées entre les deux populations lors de l'analyse en sous groupes. Les patientes âgées de plus de 70 ans, avec une ménopause précoce (avant 48 ans), avec IMC (Indice de Masse Corporelle) normal et une répartition androïde du tissu adipeux présentaient un taux de méthylation du promoteur de BRCA2 plus important.

## P29

### Méthylation de l'ADN, Phyto-œstrogènes et Cancer du Sein et de l'Ovaire

Rémy Bosviel, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon

Département d'Oncogénétique du Centre Jean Perrin  
EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie Anti-tumorale »  
Centre Biomédical de Recherche et Valorisation 1er étage  
28 Place Henri Dunant, BP 38  
63001 Clermont-Ferrand cedex 01

[remy.bosviel@u-clermont1.fr](mailto:remy.bosviel@u-clermont1.fr)

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent et la principale cause de mortalité par cancer chez la femme. Il s'agit d'un cancer hormono-dépendant, tout comme le cancer des ovaires. Ce dernier est le huitième au rang des cancers et le septième concernant la mortalité par cancer chez la femme. Environ 5% des cas héréditaires de cancer du sein ou de l'ovaire seraient liés à des mutations dans les oncosuppresseurs BRCA1 et BRCA2. Dans les cas sporadiques, une diminution de l'expression de ces deux gènes pourrait être due à des mécanismes épigénétiques telle que la méthylation de l'ADN. Des études ont révélé que les cancers du sein sont plus rares dans les pays asiatiques, où la consommation de soja est élevée. L'objectif de mon travail a été d'analyser la méthylation des promoteurs de BRCA1 et BRCA2 dans les cancers du sein ou de l'ovaire et son association avec différents facteurs de risque in vivo. Les effets des principaux phyto-œstrogènes du soja sur cette méthylation, ont également été étudiés in vitro.

Une méthylation moins importante du promoteur de BRCA1 a été observée dans le sang périphérique de patientes ayant développé un cancer de l'ovaire par rapport à une population témoin, tandis qu'une méthylation plus importante de BRCA1 et BRCA2 est observée dans des sous-populations de patientes ayant développé un cancer du sein.

In vitro, les phyto-œstrogènes du soja ont eu un effet déméthylant, associé à une augmentation de protéines pour les oncosuppresseurs BRCA1 et BRCA2.

Ces résultats démontrent que l'effet protecteur des phyto-œstrogènes du soja peut passer par une action déméthylante au niveau du promoteur d'oncosuppresseurs.

## P30

### **Phyto-œstrogènes du soja et modification de la méthylation de l'ADN : Etude quantitative dans 2 lignées continues de cancer de la prostate, DU-145 et PC-3.**

**Mawussi Adjakly, Rémy Bosviel, Nadège Rabiau, Marjolaine N'N'Gollo, Jean-Paul Boiteux, Yves-Jean Bignon, Laurent Guy, Dominique Bernard-Gallon**

Departement d'Oncogénétique du Centre Jean Perrin, CBRV, 28 Place Henri Dunant 63001 Clermont-Ferrand, France

[madjakly@yahoo.fr](mailto:madjakly@yahoo.fr)

L'hyperméthylation de l'ADN est un mécanisme épigénétique qui induit l'inhibition des oncosuppresseurs dans le cancer de la prostate. Il a été démontré que la génistéine et la daidzéine, les deux principaux phyto-œstrogènes, avaient la capacité de réverser la méthylation de l'ADN dans les cellules cancéreuses.

L'objectif de cette étude était d'analyser le potentiel déméthylant de ces deux phyto-œstrogènes sur le promoteur des gènes BRCA1, GSTP1, EPHB2 and BRCA2.

Les cellules ont été traitées pendant 48H avec la génistéine, la daidzéine, la 5 azacytidine, un agent déméthylant et la budésonide, un agent méthylant, par comparaison avec des cellules témoins non traitées. Nous avons ensuite étudié la méthylation de l'ADN pour les oncosuppresseurs GSTP1, EphB2, BRCA2 et BRCA1. L'étude de la méthylation s'est faite grâce à la technique de Methyl-Profiler-DNA methylation (SABiosciences) (sans modification au bisulfite).

Nous avons montré une action déméthylante de la génistéine et de la daidzéine sur les promoteurs des gènes GSTP1, EPHB2, et BRCA1 sur les lignées continues humaines DU-145 et PC-3. La quantification du gène BRCA2 n'a pas permis de mettre en évidence une méthylation de ces gènes dans nos cellules.

## P31

### **Approche fonctionnelle et moléculaire des systèmes de réparation de l'ADN de type BER chez la drosophile : 1ère étape vers l'analyse globale de ces systèmes dans des cellules prostatiques cancéreuses**

**Luis Cruz-Rodriguez<sup>1</sup>, Pascal Dubessay<sup>1</sup>, Isabelle Balandier<sup>1</sup>, Mathilde Chéron<sup>1</sup>, Sophie Jacquard<sup>2</sup>, Sylvain Caillat<sup>2</sup>, Virginie Agier<sup>1</sup>, Frédéric Morel<sup>1</sup>, Philippe Lachaume<sup>1</sup>, Serge Alziari<sup>1</sup>, Sylvie Sauvaigo<sup>2</sup> et Patrick Vernet<sup>1</sup>**

(1) Laboratoire GReD, UMR CNRS 6247, INSERM U931, équipe Réparation du Génome Mitochondrial, Université Blaise Pascal, 63171 Aubière

(2) Laboratoire Lésion des Acides Nucléiques, CEA, INAC, 38054 Grenoble

[luis.cruz\\_rodriguez@univ-bpclermont.fr](mailto:luis.cruz_rodriguez@univ-bpclermont.fr)

Dans de très nombreux cancers, les perturbations génomiques sont importantes et conduisent fréquemment à des dérégulations de l'expression génique. Ces perturbations ne touchent pas seulement le génome nucléaire mais aussi le génome mitochondrial. Ces altérations au niveau mitochondrial contribuent grandement au caractère agressif de la tumeur dans le cas de la prostate. Leur accumulation dans la mitochondrie dans le cas de tumeurs est soit la conséquence d'une augmentation des stress cellulaires, soit un défaut des systèmes de réparation. Ce dernier aspect est très peu étudié par manque d'outils d'analyse puissants. Nous présentons ici une approche originale d'analyse moyen débit des systèmes de réparation de l'ADN mitochondrial (ADNmt). Nous avons réalisé cette approche dans un premier temps chez la drosophile en se focalisant sur la Réparation par Excision de Base (BER) qui est une voie importante dans la gestion des bases modifiées de l'ADN, bien connue au niveau nucléaire. L'étude de mutants chez la drosophile pour certains gènes du BER nous a permis d'analyser dans un deuxième temps, le profil transcriptionnel de gènes impliqués dans ce système de réparation dans les contextes mutants.

La faisabilité d'une telle approche couplée à une analyse transcriptionnelle ayant été démontrée, nous allons maintenant poursuivre ces études sur le modèle des cellules cancéreuses prostatiques afin de déterminer l'évolutions des activités du système BER mitochondrial lors des processus de tumorigénèse.