



## 2ème Journée Scientifique du CRNH Auvergne

Pôle Physique des Cézeaux, 3 décembre 2009

Organisation : Denis Ardid, Didier Attaix, Noël Cano, Jean-Michel Chardigny, Véronique Coxam,  
Jean-Marc Lobaccaro, Josyane Moinard, Marie-Paule Vasson



# PROGRAMME

**8:00 Accueil, installation des posters**

**9:00 Introduction (N Cano)**

**9:15-10 h Tissus osseux et musculaire (D Dardevet)**

- CO1 Antioxidant supplementation had positive effects in old rat muscle, but through better oxidative status in other organs.  
L Mosoni, M Balage, E Vazeille, L Combaret, C Morand, I Zagol-Ikapitte, O Boutaud, B Marzani, I Papet, D Dardevet
- CO2 Diminution du transport des acides aminés neutres dans les muscles de la souris âgée. Rôle des métabolites lipidiques.  
J Salles, L Combaret, N Tardif, A Claustre, C Giraudet, C Guillet, Y Boirie, S Walrand
- CO3 La stimulation cérébrale profonde au cours de la maladie de Parkinson module le métabolisme périphérique du glucose chez l'homme.  
M Batisse, I Rieu, C Guillet, B Morio, JJ Lemaire, F Durif, Y Boirie

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

**10:30-11:15 Pathologie dégénérative cardiovasculaire (A Mazur)**

- CO4 How does orange juice consumption affect vascular protection in human – what role for hesperidin?  
C Morand, D Milenkovic, C Deval, D Lioger, JF Martin, C Dubray, A Scalbert, A Mazur
- CO5 Food metabolome : Vers une évaluation des consommations alimentaires par une approche métabolomique.  
J Hubert, S Claude, JF Martin, E Pujos-Guillot, A. Bérard, C Bennetau-Pelissero, A Scalbert, C Morand, C Manach
- CO6 Modulations of hepatic transcriptomes by long chain omega 3 PUFA during atherosclerosis development: are there some dose/response effects?  
C Gladine, N Roy, A Russ, Z Park, B Morio, JM Chardigny, WC McNabb, B Comte

**11:15 -12:05 Conférence**

Intérêt des agonistes PPARs dans les maladies métaboliques.  
Bart Staels

**12:15 – 13 :30 Repas**

### **13:30-14:15 Cancers hormono-dépendants (JM Lobaccaro)**

CO7 "PACThe" : Programme d'Accompagnement & de réhabilitation post-thérapeutique pour les femmes en rémission complète de leur Cancer du sein en stations Thermales. Résultats intermédiaires sur 70 malades.

A Leger-Enreille, JF Béraud, JL Achard, O Bézy, F Bridon, S Cardinaud, R Chapier, M Duclos, T Hahn, F Kwiatkowski, S Jouveny, MA Mouret, E Paul, M Sobkowicz, I Van Praagh, MP Vasson, M Vigier, A Travade, YJ Bignon

CO8 Effet de sérums d'homme ayant reçu des suppléments en tomate sur l'expression de gènes cibles du cancer de la prostate.

Talvas J, Rock E

CO9 Hyperplasie prostatique : régime hyperlipidique et rôle des récepteurs LXR.

Dufour J, Pommier A, Alves G, Viennois E, Communal Y, Caira F, Lobaccaro JM, Baron S

### **14:15 - 15:45 Posters**

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

### **16:00-16:45 Tractus gastro-intestinal (D Ardid)**

CO10 Effets d'une consommation de verveine odorante sur les défenses antioxydantes dans un modèle d'inflammation intestinale induite par le DSS chez le rat.

L Lenoir, A Rossary, O Texier O, J Joubert-Zakeyh, Lamaison JL, Vasson MP, Felgines C

CO11 Dégradation des fibres et système xylanolytique de deux espèces bactériennes du côlon humain : *Bacteroides xylanisolvens* et *Roseburia intestinalis*. C Mirande, E Forano, A Bernalier-Donadille, C Béramillet

CO12 La colonisation du tube digestif par des *Escherichia coli* adhérents et invasifs met en jeu l'expression de CEACAM6 chez les patients atteints de maladie de Crohn.

N Barnich, F Carvalho, A Sivignon, C Darcha, C Chan, C Stanners, A Darfeuille-Michaud

# POSTERS

## Tractus gastro-intestinal (A Bernalier, D Ardid)

- P1 Etude des propriétés antagonistes de *Saccharomyces cerevisiae* vis-à-vis d'*Escherichia coli* entérohémorragiques en conditions digestives simulées  
L Etienne-Mesmin, V Livrelli, M Privat, S Denis, S Chalancon, M Alric, S Blanquet-Diot
- P2 Rôle du di-GMP cyclique dans la virulence des *Escherichia coli* entérohémorragiques O157:H7.  
P Branchu, T Hindre, AP Gobert, C Martin
- P3 Impact of long term glutamine supplementation on maintaining gut integrity in very old female rats.  
AM Beaufrère, P Patureau Mirand, D Meynial-Denis

## Cancers hormono-dépendants (F Caldefie-Chezet, JM Lobaccaro)

- P4 La méthylation des promoteurs des gènes *GSTP1*, *RASSF1A*, *EPHB2* et *BRCA1* est modifiée par les phyto-œstrogènes du soja dans les cellules de cancer de la prostate.  
A Vardi, R Bosviel, L Guy, N Rabiau, L Fontana, P Déchelotte, JP Boiteux, YJ Bignon, D Bernard-Gallon
- P5 Mise au point de la MeDIP avec des cellules de cancer du sein traitées par les phyto-œstrogènes du soja.  
R Bosviel, M Gueugneau, S Mahbouli, E Heinry, L Joumard, N Rabiau, C Aubel, L Fontana, P Déchelotte,  
YJ Bignon, D Bernard-Gallon
- P6 Adaptations génique et fonctionnelle des cellules NK à la disponibilité en arginine.  
B Lamas, J Vergnaud-Gauduchon, P Olivier, N Goncalves-Mendes, S Rougé, MP Vasson, MC Farges
- P7 Les phyto-oestrogènes du soja ont-ils une influence sur l'expression des miARNs dans le cancer de la prostate ?  
H Trraf, N Rabiau, R Bosviel, C Aubel, L Fontana, J Dauplat, YJ Bignon, D Bernard-Gallon
- P8 Physiopathologie de la glande prostatique : un dialogue entre le récepteur des androgènes et les récepteurs des oxystéroïdes (LXR).  
E Viennois, J Dufour, A Pommier, F Caira, S Baron, L Morel, JM Lobaccaro
- P9 Expression des Gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *AR* et *IGF-1* dans le Cancer de la Prostate: Corrélation entre RT-QPCR et Immunohistochimie.  
N Rabiau, P Déchelotte, R Bosviel, C Aubel, JL Kemeny, L Guy, JP Boiteux, L Fontana, J Dauplat, YJ Bignon, D Bernard-Gallon
- P10 La leptine peut-elle moduler l'effet d'une thérapie anti-cancéreuse? Cas du tamoxifène dans le cancer du sein.  
V Dubois, L Delort, H Billard, MP Vasson, F Caldefie-Chézet
- P11 Leptine et angiogenèse au cours du cancer mammaire : étude in vitro.  
V Dubois, L Delort, H Billard, MP Vasson, F Caldefie-Chézet

## Tissus osseux et musculaire (D Attaix, D Dardevet)

- P12 L'absence de récupération musculaire observée chez le rat âgé suite à une atrophie induite par immobilisation n'est pas due à une absence de régulation de l'apoptose mitochondriale ou de la protéolyse ubiquitine-protéasome-dépendante.  
H Magne, I Savary-Auzeloux, E Vazeille, D. Attaix, D Dardevet, L Combaret
- P13 Curcumin treatment blocks increased proteasome and apoptosome activities in immobilized rat skeletal muscle without inhibiting muscle atrophy.  
Vazeille E, Magne H, Dardevet D, Attaix D, Combaret L
- P14 Analyse Protéomique de la Sarcopénie chez le Rat Wistar.  
D Delalande, MP Roux, C Chambon, T Said, D Attaix, L Combaret, D Béchet
- P15 Estimation de la composition corporelle avec un réseau bayésien.  
L Mioche, A Brigand, JB Denis
- P16 Association between cumulative 3-nitrotyrosine and muscle loss during aging.  
H Murakami, C Guillet, N Tardif, J Salles, Y Boirie, S Walrand
- P17 La prévention du développement de l'inflammation à bas bruit restaure l'anabolisme protéique musculaire post-prandial et réduit la sarcopénie chez le vieux rat.  
I Rieu, H Magne, I Savary-Auzeloux, J Averous, C Bos, MA Peyron, L Combaret, D Dardevet
- P18 Relations entre inflammation, vieillissement et nutrition : données de l'étude Compalimage sur 3500 sujets (ANR-05-PNRA-010).  
I Papet, E Kesse-Guyot, N Meunier, I Rozand, L Roszyk, V Coxam, D Dardevet, V Sapin, MP Vasson, P Galan, S Hercberg, N Cano
- P19 Implication des récepteurs aux acides gras dans les mécanismes du remodelage osseux.  
F Wauquier, T Alquier, S Mercier, P Lebecque, J Guicheux, P Pilet, V Coxam, Y Wittrant

## Pathologie dégénérative cardiovasculaire (A Mazur)

- P20 L'invalidation du gène du TNF $\alpha$  augmente les capacités de stockage du tissu adipeux : un effet protecteur contre un régime obésogène ?  
N Tardif, J Salles, C Guillet, C Giraudet, P Rousset, V Patrac, Y Boirie, S Walrand
- P21 Effet d'une consommation quotidienne d'hespéridine, pure ou sous forme de jus d'orange, sur la fonctionnalité des cellules immunocompétentes chez le volontaire sain.  
O Perche, J Vergnaud-Gauduchon, C Morand, C Dubray, A Mazur, MP Vasson
- P22 Polyphenol intake in the SU.VI.MAX cohort, based on Phenol-Explorer composition database.  
M Touvier, J Perez, L Fezeu, V Neveu, P Galan, A Scalbert
- P23 Phenol-Explorer, the first electronic comprehensive database on polyphenol composition in foods.  
V Neveu, J Perez, F Vos, L du Chaffaut, J Cruz, R Eisner, C Knox, D Wishart, L Mennen, N Arnault, P Galan, A Scalbert
- P24 Characterization of antiatherogenic effect of dietary curcumin and its molecular targets – *in vivo* studies.  
D Coban, D Milenkovic, A Chanut, S Thien, A Scalbert, A Mazur, C Morand
- P25 Impact cardiovasculaire et métabolique chez l'adulte d'un stress hyperoxique en période néonatale.  
C Zydorczyk, Y Mivelaz, J Cousineau, A Cloutier, N Germain, AM Nuyt, B Comte

- P26 Bilberry anthocyanins attenuate atherosclerotic lesion development in apo E-deficient mice : a transcriptomic study.  
A Mauray, C Felgines, C Morand, A Mazur, A Scalbert, D Milenkovic
- P27 Impact of citrus flavanone metabolites on human endothelial cells activity.  
A Chanet, J Maier, O Dangles, D Milenkovic, C Manach, A Scalbert, A Mazur, A Bérard, C Bennetau, C Morand
- P28 Do muscle mitochondria fit the size?  
Emilie Chanseaume, Valentin Barquissau, Jérôme Salles, Julien Aucouturier, Véronique Patrac, Christophe Giraudet, Céline Gryson, Pascale Duché, Yves Boirie, Jean-Michel Chardigny, Béatrice Morio

# **COMMUNICATIONS ORALES**

## CO1

### **Antioxidant supplementation had positive effects in old rat muscle, but through better oxidative status in other organs**

**Laurent Mosoni, Michèle Balage, Emilie Vazeille, Lydie Combaret, Christine Morand, Irène Zagol-Ikapitte, Olivier Boutaud, Barbara Marzani, Isabelle Papet, Dominique Dardevet**

*L. Mosoni, UNH, équipe NSP, INRA, Centre de Clermont-Ferrand – Theix  
63122 Theix*

*Laurent.mosoni@clermont.inra.fr*

Aged muscle is characterized by a defect in the ability of leucine to stimulate protein synthesis. We showed previously that antioxidant supplementation improved anabolic response to leucine of old muscle and reduced inflammation. The aim of the present study was to determine if the positive effects observed in muscle could be related to an improvement of local muscle oxidative status.

Two groups of 20 month-old male Wistar rats were supplemented or not with rutin, vitamin E, vitamin A, Zn, and Se during 7 weeks. We measured body weight, food intake, oxidative status in muscle and other tissues, gastrocnemius muscle proteolytic activities and liver glutathione metabolism.

Antioxidant supplementation had no effect on muscle antioxidant capacity, SOD activities, and myofibrillar protein carbonyl content, and induced an increase in muscle cathepsin activities. In other tissues, antioxidant supplementation increased liver glutathione (GSH + GSSG) content, reduced oxidative damage in liver and spleen (as measured by  $\gamma$ - Ketoaldehydes content), and reduced heart TBARs.

Our results showed that the positive effects of antioxidant supplementation observed previously on the anabolic response to leucine of old muscle was not directly related to an improvement of in situ muscle oxidative status. It could results from reduced systemic inflammation / oxidative stress. The dialogue between muscle and other organs should be studied more thoroughly, especially during aging.

## CO2

# Diminution du transport des acides aminés neutres dans les muscles de la souris âgée. Rôle des métabolites lipidiques

**J. Salles, L. Combaret, N. Tardif, A. Claustre, C. Giraudet, C. Guillet,  
Y. Boirie, S. Walrand**

UMR1019, UNH, INRA, Clermont-Universités, Laboratoire de Nutrition Humaine / CRNH 58 rue  
montalembert 63009 Clermont-Ferrand cedex 1

*jerome.salles@clermont.inra.fr*

**Introduction** Nous avons précédemment observé des quantités de céramides (CER) et de triglycérides (TG) plus élevées dans les muscles squelettiques de rats de 25 mois que dans ceux de rats de 6 mois. Or les CER inhibent la synthèse protéique dans un modèle de cellules musculaires via une diminution de l'activité du système A de transport des acides aminés (AA) neutres sodium-dépendant. Le but de notre étude était de rechercher si l'accumulation de métabolites lipidiques dans les muscles glycolytiques avec l'âge pourrait être responsable d'une perturbation de l'activité du système A.

**Matériel & Méthodes** L'activité du système A a été mesurée dans les muscles EDL incubés stimulés ou non par de l'insuline chez des souris mâles âgées de 3 et 20 mois (n=10). Les quantités de TG et CER ont été dosées dans le tibialis anterior (TA). Les niveaux d'expression des transcrits des trois isoformes du système A (SNAT1, 2 et 4) ont été mesurés par qRT-PCR.

**Résultats** Dans les muscles EDL des souris jeunes, l'activité du système A augmente de 135% après stimulation par l'insuline ( $p < 0,05$ ). Cet effet n'est pas retrouvé dans les muscles de souris âgées. Les TA des souris âgées de 20 mois présentent une accumulation de TG (+135%) et une très forte diminution de l'expression des isoformes SNAT1 et 4 (-60%) comparativement aux muscles des souris de 3 mois ( $p < 0,05$ ).

**Conclusion** L'entrée des AA neutres n'est pas stimulée par l'insuline dans les muscles des souris de 20 mois. Cette perturbation pourrait participer à la diminution de la synthèse protéique observée dans le muscle squelettique avec l'âge notamment en période post-prandiale. Cette absence de stimulation de l'activité du système A pourrait être due à l'accumulation de métabolites lipidiques et/ou à une très forte baisse du niveau d'expression de deux isoformes sur trois du transporteur du système A.

## CO3

### **La stimulation cérébrale profonde au cours de la maladie de Parkinson module le métabolisme périphérique du glucose chez l'homme**

**Marie Batisse, Isabelle Rieu, Christelle Guillet, Béatrice Morio, Jean Jacques Lemaire, Franck Durif , Yves Boirie**

*UMR 1019 INRA/Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, F-63009 , CHU Clermont-Ferrand, Service de Nutrition Clinique, Clermont-Ferrand  
CHU Clermont-Ferrand, Service de Neurologie, Clermont-Ferrand  
CHU Clermont-Ferrand, Service de Neurochirurgie, Clermont-Ferrand  
[Yves.boirie@clermont.inra.fr](mailto:Yves.boirie@clermont.inra.fr)*

De récents travaux réalisés chez l'animal ont mis en évidence l'existence d'un lien entre la sensibilité cérébrale à certains substrats et la production endogène de glucose, suggérant qu'il existe au niveau de l'hypothalamus des neurones capables de réguler le métabolisme périphérique du glucose. La stimulation des noyaux sous thalamiques (NST) est le traitement proposé actuellement dans les formes sévères de la maladie de Parkinson. Les NST étant proches anatomiquement de l'hypothalamus, nous avons fait l'hypothèse que la stimulation cérébrale profonde module l'activité de l'hypothalamus et modifie ainsi la production hépatique de glucose (PHG) chez l'homme. Dans le cadre d'une étude pilote, la PHG a été mesurée à l'aide de D-[6,6-2H<sub>2</sub>]-Glucose perfusé en intra-veineux pendant 5h chez 8 patients atteints de la maladie de Parkinson traités par électrostimulation en situation OFF et ON. Ce paramètre a été comparé à la valeur de PHG de 8 sujets sains (groupe contrôles), ainsi que l'insulinémie, la glucagonémie et les taux d'acides gras libres. Dans les conditions OFF, la PHG est significativement plus élevée que celle du groupe contrôle ( $2.62 \pm 0.09$  vs  $2,27 \pm 0.10$  mg/kg/min,  $P < 0.01$ ). Une diminution significative de la PHG a été constatée chez les patients entre les périodes stim OFF et stim ON ( $2.04 \pm 0.07$  mg/kg.min,  $P < 0.01$ ) sans retentissement sur la glycémie. Par contre, il n'existe plus de différence significative entre la PHG en période stim ON et celle des volontaires sains ( $P = NS$ ). Aucune variation significative des taux d'insuline, de glucagon et d'acides gras libres n'a été constatée entre les périodes stim OFF, stim ON et le groupe contrôle. En conclusion, ces résultats montrent que la stimulation cérébrale profonde peut moduler la production hépatique de glucose et suggèrent l'existence d'un contrôle cérébral de l'homéostasie glucidique chez l'homme. Par ailleurs ces données soulèvent l'hypothèse d'anomalies du métabolisme glucidique chez les patients parkinsoniens, pouvant être expliquées notamment par des dysfonctionnements du système nerveux autonome.

## CO4

### How does orange juice consumption affect vascular protection in human – what role for hesperidin?

<sup>1</sup>**Christine Morand**, <sup>1</sup>**Dragan Milenkovic**, <sup>1</sup>**Christiane Deval**, <sup>1</sup>**Delphine Lioger**,  
<sup>1</sup>**Jean François Martin**, <sup>2</sup>**Claude Dubray**, <sup>1</sup>**Augustin Scalbert**, <sup>1</sup>**André Mazur**

<sup>1</sup>UMR 1019 - Unité de Nutrition Humaine, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand-Theix, 63122 Saint-Genes-Champanelle - <sup>2</sup>Centre Investigation Clinique, Centre Hospitalier Universitaire, 63000 Clermont-Ferrand, [christine.morand@clermont.inra.fr](mailto:christine.morand@clermont.inra.fr)

Epidemiological studies suggest beneficial effects of dietary polyphenols against cardiovascular diseases (CVD) development (Arts & Hollman, 2005; Mink et al, 2007). This evidence is supported by a number of well-designed human intervention studies using some polyphenol-rich foods, which have shown consistent effect on a number of intermediate markers for CVD (Hooper et al, 2008). Although this body of evidence is suggestive for a beneficial effect, it is still a major unresolved question whether isolated polyphenols are causally related to risk of CVD. Recent animal studies revealed that protective effect of these compounds is independent of their capacity to inhibit lipid peroxidation and LDL oxidation but rather associated with their capacity to alter the expression of a wide number of genes.

**Objective:** The goal of the study is to identify, in healthy volunteers, the effect of hesperidin, the major flavonoid of orange juice, on vascular function (endothelial function and blood pressure) and on gene expression in white blood cells (WBCs) that may reflect systemic consequences of CVDs.

**Methods:** Twenty four healthy men with cardiovascular risk factors were included in a controlled cross-over study and daily consumed during 3 one-month periods in a randomized order 500 ml orange juice (naturally containing 292 mg hesperidin), 500 ml of a control drink or the same control drink supplemented with 292 mg hesperidin. The endothelial function was evaluated by non-invasive assessment of microvascular endothelial reactivity using laser Doppler flowmetry. The RNA samples were isolated from leukocytes and hybridised onto a human 30K microarrays to compare the gene expression profiles.

**Results:** An improvement of diastolic blood pressure and a trend towards improvement of endothelial function, as reflected by both decrease in plasma sVCAM-1, increase in plasma NO and endothelium dependant reactivity, after orange juice or hesperidin consumption was observed. Microarray analyses performed on leukocytes revealed 1819 differentially expressed genes after hesperidin consumption and 3422 after orange juice consumption, with 1582 genes in common. These genes are involved in different biological functions linked to cardiovascular diseases, such as lipid transport, chemotaxis, cell adhesion and trans-endothelial migration.

**Conclusion:** This study revealed that a 1 month regular consumption of orange juice improves the diastolic component of blood pressure, an indicator of vessel resistance, and this effect is mimicked by hesperidin. The high similarity between the leukocyte transcriptomic profiles after consumption of orange juice and pure hesperidin, indicates that hesperidin is highly involved in the genomic effects of orange juice.

## CO5

### Food metabolome : Vers une évaluation des consommations alimentaires par une approche métabolomique

J. Hubert<sup>1</sup>, S. Claude<sup>1</sup>, J.F. Martin<sup>2</sup>, E. Pujos-Guillot<sup>2</sup>, A. Bérard<sup>3</sup>, C. Bennetau-Pelissero<sup>4</sup>, A. Scalbert<sup>1</sup>, C. Morand<sup>1</sup> and C. Manach<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR 1019 - Unité de Nutrition Humaine, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand-Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, <sup>2</sup>Plate-forme d'Exploration du Métabolisme, INRA Saint-Genès-Champanelle, <sup>3</sup>CHU de Bordeaux - Université Victor Ségalen Bordeaux 2, France, <sup>4</sup>ENITA de Bordeaux, UMRS, [manach@clermont.inra.fr](mailto:manach@clermont.inra.fr)

Que ce soit pour l'étude des relations entre alimentation et santé dans les études épidémiologiques ou pour suivre l'impact de recommandations nutritionnelles, il est nécessaire de pouvoir caractériser de manière précise les consommations alimentaires des individus. Aujourd'hui les méthodes classiquement utilisées pour évaluer les consommations, en particulier les questionnaires de fréquence alimentaire, présentent des limites bien connues qui peuvent atténuer voire masquer totalement des associations existantes entre alimentation et santé. Les développements récents de la métabolomique basée sur la spectrométrie de masse ont ouvert de nouvelles perspectives de phénotypage plus fin des consommations, par l'analyse des centaines de métabolites de nutriments et micro-constituants retrouvés dans les fluides biologiques après digestion des aliments (fraction « Food metabolome »).

Une première étude financée par l'ANR-PNRA (Agruvasc) a montré que l'analyse du *food metabolome* urinaire par spectrométrie de masse haute résolution (LC-QToF) permettait de distinguer très clairement la consommation de jus d'orange et de jus de pamplemousse, par rapport à une boisson contrôle. Cette discrimination a été observée à la fois dans le cadre d'une alimentation très contrôlée, mais également chez 24 volontaires ayant consommé pendant un mois une dose journalière de jus d'orange dans le cadre d'une alimentation libre. Divers métabolites de phytomicronutriments ont été retrouvés parmi les ions discriminant la consommation de jus d'agrumes, certains étaient attendus alors que d'autres n'auraient jamais été anticipés comme biomarqueurs de consommation potentiels avec des approches classiques. Ces biomarqueurs issus d'une approche ouverte « data-driven » et utilisés en combinaison devraient s'avérer beaucoup plus robustes et spécifiques que les biomarqueurs classiques.

## CO6

### **Modulations of hepatic transcriptomes by long chain omega 3 PUFA during atherosclerosis development: are there some dose/response effects?**

**C. Gladine<sup>1</sup>, N. Roy, A. Russ, Z. Park, B. Morio, J. M. Chardigny, W.C. McNabb and B. Comte<sup>1</sup>**

*INRA, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122, Saint Genès Champanelle, France, Clermont Université, UFR Médecine, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63000, Clermont-Ferrand, [cecile.gladine@clermont.inra.fr](mailto:cecile.gladine@clermont.inra.fr)*

Since the early studies in Greenland Eskimos, many studies have confirmed the association between consumption of long chain omega 3 PUFA (LC- $\omega$ 3PUFA) and decreased risk of cardiovascular diseases<sup>1</sup>. The anti-atherosclerotic effects of LC- $\omega$ 3PUFA mainly contribute to their cardioprotective potential and several studies demonstrated that LC- $\omega$ 3PUFA act as modulators of pro-atherogenic genes and other hepatic genes involved in lipid metabolism and oxidative stress<sup>2</sup>. However, the dose/response effects of LC- $\omega$ 3PUFA on atherosclerosis development and modulations of gene expression as well as their mechanism of action are not well understood.

In the present study, we aimed to investigate the effects of increasing intake of LC- $\omega$ 3PUFA on atherosclerosis development and the associated modulations of the hepatic transcriptome. New Zealand White rabbits (n=24) were fed a high cholesterol diet (5g chol/kg diet, 7wk) and, depending on the group distribution, animals received for the same period and by daily gavages (2 mL): oleic sunflower oil (Control group, n=6); or a mixture of oleic sunflower oil and tuna oil providing 0.05% (LC- $\omega$ 3PUFA-1 group), 0.1% (LC- $\omega$ 3PUFA-2 group) or 1% (LC- $\omega$ 3PUFA-3 group) of daily energy intake as docosahexaenoic acid, as major LC- $\omega$ 3PUFA-3. Atherosclerosis development was determined by measuring the accumulation of cholesterol ester into the arterial wall. Extracted liver RNA was hybridised to Agilent rabbit 44K oligonucleotide arrays using a loop design. Differentially expressed genes in the liver were identified using Bioconductor (Moderated  $p < 0.05$ ,  $FC > 1.20$ ) and clustered into pathways (Ingenuity Pathway Analysis 7.0). Cholesterol content within the aorta tended to be lower in the LC- $\omega$ 3PUFA-1 group than in the Control group (- 32%, NS) but was increased in groups LC- $\omega$ 3PUFA-2 and 3 (+90% and + 130%,  $p = 0.04$  and  $p = 0.005$  respectively). The transcriptomic analysis revealed a weak modification of genes involved in lipid metabolism but major molecules associated with lipoprotein uptake were differently expressed ( $p < 0.05$ ) suggesting a modulation of cholesterol tissue distribution.

1) K. He, Y. et al. *Circulation*, 109 (2004) 2705-111

2) R. De Caterina et al.. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 52 (1995), 1991-195.

## CO7

### "PACThe" : Programme d'Accompagnement & de réhabilitation post-thérapeutique pour les femmes en rémission complète de leur Cancer du sein en stations Thermales

#### *Résultats intermédiaires sur 70 malades*

**A. Leger-Enreille<sup>1</sup>, JF. Béraud<sup>2</sup>, JL. Achard<sup>1</sup>, O. Bézy<sup>1</sup>, F. Bridon<sup>3</sup>, S. Cardinaud<sup>1</sup>, R. Chapier<sup>4</sup>, M. Duclos<sup>5</sup>, T. Hahn<sup>6</sup>, F. Kwiatkowski<sup>1</sup>, S. Jouveny<sup>1</sup>, MA Mouret<sup>1</sup>, E. Paul<sup>7</sup>, M. Sobkowicz<sup>1</sup>, I. Van Praagh<sup>1</sup>, MP. Vasson<sup>1</sup>, M. Vigier<sup>8</sup>, A. Travade<sup>9</sup>, YJ. Bignon<sup>1</sup>,**

<sup>1</sup> Centre Jean Perrin, <sup>2</sup> Thermauvergne, <sup>3</sup> IFMK Vichy, <sup>4</sup> Cabinet médical Châtel Guyon, <sup>5</sup> Service de Médecine du sport CHU G. Montpied, <sup>6</sup> Etablissement thermal Vichy, <sup>7</sup> « 2P Etudes », <sup>8</sup> Cabinet médical Le Mont-Dore, <sup>9</sup> Pôle Santé République Clermont-Fd  
Centre Jean Perrin, BP 392, 63011 Clermont-Ferrand cedex,  
[anne.leger-enreille@cjp.fr](mailto:anne.leger-enreille@cjp.fr)

Plusieurs études montrent que l'augmentation du poids est un facteur de risque de rechute du cancer du sein. Or, plus de la moitié des femmes sous chimiothérapie adjuvante pour cancer du sein présentent une augmentation de leur poids comprise entre 2,5 et 5 kg. De même, l'activité physique diminue le nombre des décès chez les patientes traitées pour un cancer du sein.

Un comportement hygiéno-diététique bien défini associé à une activité physique régulière pourrait donc avoir des effets positifs sur la survie et le pronostic.

Le programme PACThe est une étude clinique multicentrique randomisée en ouvert comparant sur 5 ans, 135 femmes en fin de traitement de cancer du sein avec un suivi simple et 135 femmes en fin de traitement de cancer du sein avec des soins de suite en station thermale associés à un suivi hygiéno-diététique.

#### ➤ Objectifs :

- principal : améliorer la qualité de vie des femmes dans les suites immédiates de cancer du sein mises en RC.

- secondaires : diminuer les coûts des soins de suite du cancer du sein, améliorer le degré de réhabilitation des femmes après leur cancer, réduire la morbidité, prévention tertiaire du risque de rechute ou de 2<sup>ème</sup> cancer du sein, réduire la mortalité par cancer et globale.

➤ Les résultats intermédiaires à 6 mois de suivi sur 35 malades dans chaque groupe font apparaître une reconstruction de l'image corporelle, un renforcement de l'estime de soi, une augmentation du niveau d'activité physique et de la mobilisation, une baisse de poids significative pour le groupe pilote, une amélioration significative de la qualité de vie, stable après le séjour, une amélioration de la dépression, une diminution de l'anxiété significative mais passagère.

## CO8

### Effet de sérums d'homme ayant reçu des supplémentations en tomate sur l'expression de gènes cibles du cancer de la prostate

TALVAS, J & ROCK, E

*INRA Clermont-Ferrand-Theix*

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

**Background:** Des études prospectives suggèrent qu'une forte consommation de tomates et produits dérivés est associée à une diminution du risque relatif du cancer de la prostate. Le lycopène, le pigment anti-oxydant conférant la couleur rouge aux tomates est considéré comme le principal bioactif expliquant ces effets préventifs.

**Objectives:** Notre objectif est de différencier l'effet du lycopène de celui de la matrice tomate en utilisant un concept expérimental nouveau.

**Design:** Une approche *ex vivo* a été mise en place avec l'utilisation de tomates rouges et de tomates jaunes dépourvues de lycopène. Un apport de lycopène et de son placebo a été utilisé à des fins de comparaison.

Une étude Clinique randomisée et en simple-aveugle a d'abord été effectuée afin de collecter des sérums humains : deux groupes de 15 hommes sains âgés de 50 à 70 ans ont été supplémentés quotidiennement avec 200 g de purées de tomates jaunes ou 200 g de purée de tomates rouges (0 and 16 mg lycopène/jour, respectivement) pendant une semaine, séparé d'une période de 2 semaines de déplétion totale en source alimentaire de lycopène. Puis, une supplémentation en lycopène purifié (16 mg/j) a été testée sur un groupe de volontaires tandis que le placebo a été testé sur l'autre groupe pour une semaine de plus.

Des cellules issues de cancer de prostate (LNCaP) ont été incubées en présence des sérums récoltés afin de mesurer l'expression de gènes cibles du cancer de la prostate. Pour cela, une carte micro-fluidique Taqman a été customisée avec 45 gènes.

**Resultats:** Nos analyses de variances effectuées entre les conditions Wash-out, Tomates jaunes, Tomates rouges on mises en évidence 6 gènes dont l'abondance était significativement régulée (IGFBP-3, cyclin-D1, Bax:Bcl-2, p53, Nrf-2). Ce sont les sérums des volontaires ayant reçu des supplémentations en purée de tomates rouges qui ont eu le plus d'impact. Les effets des sérums des volontaires ayant reçu des supplémentations en tomates jaunes affectent les mêmes gènes mais avec une moindre intensité. Enfin, la comparaison entre les conditions lycopène purifié et placebo montre un effet inducteur des sérums des volontaires ayant reçu la supplémentation en lycopène sur 3 gènes (IGFBP-3, c-fos, uPAR).

**Conclusions:** Notre approche expérimentale montre que l'effet préventif des tomates sur le cancer de la prostate pourrait être médié par le lycopène par l'induction d'IGFBP-3, connu pour intervenir dans l'arrêt de la croissance cellulaire et l'induction de l'apoptose. Cependant, l'ingestion du lycopène purifié a également conduit à une induction de c-fos et surtout uPAR qui sont des facteurs favorisant la cancérogénèse prostatique. La « matrice » tomate pourrait jouer un rôle « tampon » sur l'induction de ces gènes délétères tout en permettant l'induction d'IGFBP3. Dans le cadre de la prévention du cancer de la prostate, l'apport en lycopène s'avérerait bénéfique dès lors qu'il est apporté au sein de sa matrice alimentaire, la tomate.

## CO9

### Hyperplasie prostatique : régime hyperlipidique et rôle des récepteurs LXR

**Dufour J, Pommier A, Alves G, Viennois E, Communal Y\*, Caira F, Lobaccaro JMA, Baron S**

*UMR GReD CNRS 6247 INSERM U931-Clermont Université et CRNH d'Auvergne*

*24 avenue des Landais, 63177 Aubière Cedex*

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

LXR $\alpha$  et LXR $\beta$  (Liver X Receptor) appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires, sont impliqués dans le contrôle de l'homéostasie lipidique. Plusieurs facteurs de risques sont associés au cancer de la prostate dont une alimentation riche en lipides. L'analyse des lobes prostatiques des souris invalidées pour les deux isoformes de LXR nourries par un régime hyperlipidique révèle une hyperplasie.

Afin de caractériser cette hyperplasie, des expériences d'immunofluorescence ont été réalisées et montrent une hyperprolifération de l'épithélium. Une augmentation de l'expression des gènes codant les CYCLINES D1 et D2 a été identifiée ainsi qu'une diminution de l'expression du gène suppresseur de tumeur nkx3.1, gène clé dans le processus de carcinogenèse prostatique. L'ensemble de ces données indique que les souris Lxr $\alpha\beta$ -/- présentent des lésions de types pré-néoplasiques uniquement sous régime hyperlipidique. En parallèle, des expériences conduites en culture de cellules de prostate murine confirment que les LXR jouent un rôle important sur le contrôle du cycle cellulaire.

Ainsi, nos résultats montrent que i) l'ablation génique des LXR provoque une hyperprolifération épithéliale ii) l'activation de ces récepteurs bloque le cycle cellulaire ; iii) in vivo, les LXR s'opposent à l'effet délétère des lipides. En conclusion, ces données placent les récepteurs nucléaires LXR comme des cibles thérapeutiques de premier ordre dans les stratégies de lutte contre le cancer de la prostate.

Travail financé en partie par : Fondations FRM-BNP-Paribas, Ligue Allier contre le Cancer, Association pour la Recherche sur les Tumeurs de la Prostate, Région Auvergne, Cancéropôle Lyon Auvergne Rhône-Alpes, ProCan Axe III.

## CO10

### Effets d'une consommation de verveine odorante sur les défenses antioxydantes dans un modèle d'inflammation intestinale induite par le DSS chez le rat.

**Lenoir L<sup>(a)</sup>, Rossary A<sup>(b)</sup>, Texier O<sup>(a)</sup>, Joubert-Zakeyh J<sup>(c)</sup>, Lamaison JL<sup>(a)</sup>, Vasson MP<sup>(b,d)</sup>, Felgines C<sup>(a)</sup>**

<sup>a</sup>Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie, EA 4233, UFR de Pharmacie Clermont-Ferrand

<sup>b</sup>Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition, EA 4233, UFR de Pharmacie Clermont-Ferrand

<sup>c</sup>CHU Clermont-Ferrand, Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, Hôtel Dieu

<sup>d</sup>Unité de Nutrition, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand ; CLARA

[loic.lenoir@u-clermont1.fr](mailto:loic.lenoir@u-clermont1.fr)

L'inflammation intestinale chronique est un facteur de risque de développement du cancer colorectal. Celui-ci est en partie du aux altérations oxydatives faisant suite à la colonisation des muqueuses par les cellules immunitaires productrices d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Les polyphénols contenus dans les aliments d'origine végétale sont reconnus pour leurs effets préventifs vis-à-vis des pathologies oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires, syndrome métabolique). L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet protecteur d'une consommation régulière d'infusion de verveine odorante *Aloysia triphylla*, riche en acides phénoliques complexes et en flavones, dans un modèle d'inflammation colique induite chez le rat par la consommation de sulfate de dextran sodique (DSS). Des rats mâles Wistar, nourris *ad libitum*, ont reçu comme boisson soit de l'infusion de verveine (4g.l<sup>-1</sup>) (n = 12), soit de l'eau (n = 12). A partir du 15<sup>ème</sup> jour, 6 rats de chaque groupe ont reçu dans leur boisson du DSS à 4% (groupes inflammés : DSS et Verveine-DSS) et ce pendant 7 jours. L'inflammation intestinale a été évaluée par la mesure des atteintes tissulaires (score histologique) ainsi que par le dosage de l'activité de la myéloperoxydase (MPO) au niveau colique. Les défenses antioxydantes ont été mesurées par le dosage du taux de glutathion (GSH) et des activités de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT) et de la glutathion peroxydase (GPx). La consommation de DSS induit une augmentation significative du score histologique et de l'activité MPO. La consommation d'infusé de verveine ne modifie pas ces deux paramètres. Les dosages enzymatiques montrent une augmentation significative d'activité de la SOD dans le groupe Verveine-DSS vs DSS, et une augmentation significative de l'activité GPx dans le groupe Verveine-DSS vs Verveine. L'activité de la CAT ainsi que les taux de GSH ne sont pas modifiés dans ces conditions expérimentales. Ces premiers résultats montrent que la consommation régulière d'infusé de verveine peut moduler l'activité de certaines enzymes antioxydantes lors d'une inflammation intestinale. Ces travaux sont réalisés en collaboration avec la société Biosphère 99 (Saint-Bonnet-de-Rochefort).

## CO11

### Dégradation des fibres et système xylanolytique de deux espèces bactériennes du côlon humain : *Bacteroides xylanisolvens* et *Roseburia intestinalis*

**Mirande C., Forano E., Bernalier-Donadille A., et Béra-Maillet C.**

INRA, UR454 Unité de Microbiologie, 63122 Saint-Genès-Champanelle.

[Evelyne.forano@clermont.inra.fr](mailto:Evelyne.forano@clermont.inra.fr)

Chez l'Homme, les fibres alimentaires, essentiellement apportées par les fruits, les légumes ou les céréales consommées, ont des effets bénéfiques reconnus sur la santé. Une partie de ces effets bénéfiques est due à leur dégradation et fermentation par l'écosystème microbien du côlon humain. Les principaux polysaccharides des fibres alimentaires qui arrivent au côlon sont l'amidon résistant et le xylane. Des espèces bactériennes du genre *Bacteroides* capables d'utiliser les xylanes ont été isolées de selles humaines depuis de nombreuses années ; cependant, les mécanismes de dégradation des xylanes dans le côlon de l'homme ne sont pas très bien connus. Deux nouvelles espèces bactériennes possédant de fortes activités xylanolytiques, *Bacteroides xylanisolvens* XB1A<sup>T</sup> et *Roseburia intestinalis* XB6B4, récemment isolées de selles humaines, ont été caractérisées. Les activités xylanolytiques de ces espèces vis-à-vis de différents substrats riches en xylanes (blé, maïs, chou, poireau et pois) ont été analysées quantitativement et qualitativement. Ces deux espèces dégradent et fermentent très efficacement ces substrats, mais les colonisent différemment. L'équipement enzymatique de ces souches, comparé par zymogramme, révèle un grand nombre de xylanases dont la masse molaire est comprise entre 37 kDa et 170 kDa. Les activités spécifiques des extraits protéiques des deux bactéries sont très élevées et sont majoritairement associées aux cellules. Les gènes codant pour les xylanases de ces deux espèces bactériennes ont été identifiés. Ils codent pour des xylanases appartenant aux familles 10 et 43 des glycosyl-hydrolases, et sont modulaires. Certaines xylanases ont aussi été identifiées par analyse protéomique. Les conditions d'expression de certains des gènes de xylanases ont été étudiées par PCR quantitative, et montrent une régulation par le xylane. Ces travaux permettent de mieux comprendre les mécanismes de dégradation des xylanes par deux espèces appartenant aux genres majeurs du côlon humain *Bacteroides* et *Roseburia*, et représentent une avancée significative dans la connaissance de leurs rôles respectifs dans cet écosystème.

## CO12

### La colonisation du tube digestif par des *Escherichia coli* adhérents et invasifs met en jeu l'expression de CEACAM6 chez les patients atteints de maladie de Crohn

**Nicolas Barnich<sup>1-2</sup>, Frédéric Carvalho<sup>1</sup>, Adeline Sivignon<sup>1-2</sup>, Claude Darcha<sup>3</sup>, Carlos Chan<sup>4</sup>, Clifford Stanners<sup>4</sup>, Arlette Darfeuille-Michaud<sup>1-2</sup>**

<sup>1</sup>Univ Clermont1, Pathogénie Bactérienne Intestinale, JE2526, USC-INRA 2018, Clermont-Ferrand Fd;

<sup>2</sup>Institut Universitaire de Technologie en Génie Biologique, Aubière F-63172,;

<sup>3</sup>Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU, Clermont-Ferrand F-63001,;

<sup>4</sup>Department of Surgery and Department of Biochemistry and McGill Cancer Centre, McGill University, Montréal, Québec, Canada.

[nicolas.barnich@u-clermont1.fr](mailto:nicolas.barnich@u-clermont1.fr)

Une forte prévalence de *Escherichia coli* adhérents et invasifs (AIEC) associés à la muqueuse iléale a été observée chez les patients atteints de MC. Les bactéries AIEC adhèrent spécifiquement à la bordure en brosse des entérocytes isolés de la muqueuse iléale de patients atteints de MC mais pas de contrôles. Cette adhésion implique des pili de type 1 variants exprimés par les souches AIEC. Une expression importante de résidus mannose libres (ligands de l'adhésine FimH des pili de type 1) a été observée uniquement au niveau de la bordure en brosse des entérocytes isolés de patients. Des études par immuno-histochimie ont révélé une expression anormale de récepteurs de la famille CEACAM au niveau de la muqueuse iléale des patients atteints de MC. L'adhésion des souches AIEC aux entérocytes isolés de patients atteints de MC peut être bloquée par l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre le récepteur CEACAM6. Les souches AIEC ne sont capables de coloniser que le tube digestif de souris transgéniques exprimant le récepteur CEACAM6 humain. Une telle colonisation entraîne une induction d'inflammation et une mortalité élevée. Cet effet n'est plus observé lorsque des souris transgéniques sont infectées par un mutant n'exprimant pas de pili de type 1, ou suite à une administration intrapéritonéale d'anticorps anti-CEACAM6. L'ensemble de ces résultats confirme le rôle du récepteur CEACAM6 dans l'adhésion bactérienne et la reconnaissance entre l'adhésine FimH et le récepteur CEACAM6, pouvant expliquer la colonisation iléale anormale par des souches de *E. coli* observée chez des patients atteints de MC. L'étude de la virulence in vivo des souches AIEC dans le modèle murin exprimant le récepteur CEACAM6 humain a permis de définir quel facteur bactérien doit être ciblé en vue du développement d'outils thérapeutiques pour contrôler les infections à AIEC.

# POSTERS

## P1

# Etude des propriétés antagonistes de *Saccharomyces cerevisiae* vis-à-vis d'*Escherichia coli* entérohémorragiques en conditions digestives simulées

**Etienne-Mesmin Lucie, Livrelli Valérie, Privat Maud, Denis Sylvain, Chalancon Sandrine, Monique Alric et Blanquet-Diot Stéphanie**

*ERT CIDAM et JE 2526, USC INRA 2018 - CBRV, Faculté de Pharmacie  
28, place Henri Dunant - 63001 Clermont-Ferrand  
[lucieem@hotmail.fr](mailto:lucieem@hotmail.fr)*

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (en particulier le sérotype O157:H7) sont des pathogènes émergents responsables de diarrhées souvent hémorragiques qui peuvent évoluer vers des atteintes systémiques mettant en jeu le pronostic vital. La pathogénicité de ces souches est principalement liée 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 de ces bactéries dans l'environnement digestif est importante pour leur virulence mais mal connue par manque de modèles d'étude adaptés.

L'objectif de ce travail était (i) d'évaluer la survie de souches *E. coli* O157:H7 en système *in vitro* statique (milieu Luria Bertani acidifié) et dynamique (TIM1) (ii) d'étudier l'effet d'une souche de levure *Saccharomyces cerevisiae* sur la survie bactérienne.

En système *in vitro* statique, les souches sont très sensibles à l'acidité remettant en question le concept d'acido-résistance largement décrit dans la littérature. En système *in vitro* dynamique, une mortalité bactérienne est observée dans l'estomac et le duodénum du TIM1, confirmant la sensibilité d'*E. coli* O157:H7 à l'acidité gastrique et aux sécrétions digestives. En revanche, la bactérie se divise à nouveau dans les parties basses de l'intestin grêle en fin de digestion. La co-administration de *S. cerevisiae* permet d'inhiber significativement la reprise de croissance d'*E. coli* O157:H7 ( $p < 0,01$ ), suggérant que cette levure pourrait être utilisée pour limiter la charge bactérienne arrivant au côlon (site d'action probable des bactéries). Afin d'appréhender l'ensemble des mécanismes antagonistes de *S. cerevisiae* vis à vis d'*E. coli* O157:H7, il sera indispensable de suivre la production de Shiga-toxines en conditions digestives simulées, en présence ou non de levures.

## P2

# Rôle du di-GMP cyclique dans la virulence des *Escherichia coli* entérohémorragiques O157:H7

**Branchu Priscilla, Hindre Thomas, Gobert Alain P., Martin Christine**

*Unité microbiologie - INRA de Clermont-ferrand THEIX*

*63122 St genès champanelle*

[priscilla.branchu@clermont.inra.fr](mailto:priscilla.branchu@clermont.inra.fr)

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) de sérotype O157:H7 sont des pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires pouvant conduire à des pathologies graves, telles que le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) chez l'adulte, et le syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant. Une connaissance approfondie de la physiopathologie de l'infection est nécessaire pour proposer des mesures thérapeutiques en alternative aux antibiotiques, qui sont contre-indiqués.

Après ingestion, les EHEC survivent à l'acidité gastrique grâce à l'expression de gènes de résistance à l'acidité codés par le locus AFI. Elles adhèrent ensuite à l'épithélium intestinal en créant des lésions dites d'attachement et effacement, grâce à l'expression de gènes codés par le locus LEE. L'expression des gènes de l'AFI et du LEE doit donc être inversement coordonnée pour que l'infection se développe. Le but de mon travail est de déterminer les mécanismes moléculaires qui sous-tendent cette régulation. Le gène *vmpA*, impliqué dans l'adhésion de la souche EHEC EDL933 aux cellules intestinales, a été identifié au laboratoire. Nous avons montré que la protéine VmpA est une phosphodiesterase qui hydrolyse le di-GMP cyclique (di-GMPc). Le di-GMPc est un second messager bactérien ubiquitaire impliqué dans de nombreux processus biologiques, tels que la formation de biofilms, la mobilité, ou la virulence. Nous avons analysé par PCR quantitative en temps réel l'expression des gènes de l'AFI et du locus LEE dans différentes conditions de pH et de croissance, pour différents mutants de la souche EDL933. Nous avons pu ainsi déterminer un modèle de régulation coordonnée de l'expression du LEE et de l'AFI. A pH neutre et en phase exponentielle de croissance, la protéine VmpA dégrade le di-GMPc. Elle réprime ainsi de façon indirecte l'expression d'un régulateur transcriptionnel, GadE, qui à la fois active l'expression de l'AFI et réprime l'expression du LEE. Ainsi, dans les conditions environnementales de l'intestin, l'AFI, inutile, n'est pas exprimé, alors que l'expression du LEE permet aux EHEC d'adhérer aux cellules épithéliales et de coloniser l'intestin. Le di-GMPc semble donc être un régulateur important de la virulence chez les EHEC.

### P3

## Impact of long term glutamine supplementation on maintaining gut integrity in very old female rats

**Anne-Marie Beaufrère<sup>2</sup>; Philippe Patureau Mirand<sup>1</sup>  
and Dominique Meynial-Denis<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> INRA, UMR 1019, Human Nutrition Unit, Ceyrat, F-63122, France; Human Nutrition Research Center, Clermont-Ferrand, F-63000, France; <sup>2</sup>CHU Clermont-Ferrand, Service d'Anatomie Pathologique, Hôtel Dieu, F-63058  
[Dominique.Meynial@clermont.inra.fr](mailto:Dominique.Meynial@clermont.inra.fr)

Glutamine is the preferred fuel for the rat small intestine and promotes the growth of intestinal mucosa, especially in the event of gut injury (1, 2). We demonstrated that intermittent glutamine supplementation for 5 months exerts a positive effect on intestinal villus height in very old rats (3). For this reason, we again orally supplemented very old (27-mo) female rats with glutamine (20% of diet protein) intermittently, during half of their life span to study if the glutamine effect on intestinal villus height could be improved by a longer treatment. Rats were studied after the last glutamine treatment in fed state.

The gut was dissected and weighed. The proximal part of the jejunum (small bowel) was isolated; a 2-cm length was removed for measurements of intestinal histomorphometry. The liver, spleen and kidneys were also dissected and weighed.

Glutamine supplementation maintains the body weight of very old rats in without limiting sarcopenia (3) but rather increases the organ mass of the splanchnic area. Total intestine mass was significantly higher in glutamine supplemented rats than in controls. By measuring the villus height and the crypt depth, we demonstrated that the difference between villus and crypt was significantly improved in glutamine pre-treated rats compared to controls.

In conclusion, the glutamine effect with 5 month treatment on small bowel villus morphology in very old female rats was improved by longer term glutamine treatment. The increase in glutamine requirements observed with very advanced age (3) in rats can be explained by the increased use of glutamine by the gut. Glutamine may play a role in repairing possible gut mucosal deterioration due to aging by increasing mucosal protein synthesis and decreasing ubiquitin-dependent proteolysis, as previously reported in healthy humans(4).

1. Souba et al., *J Parenter Enter Nutr.* 1990, 14:45S-50S.
2. Bouteloup-Demange et al., *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2000, 278:G677-G681.
3. Mignon et al., *J Parenter Enter Nutr.* 2007, 31:456-62.
4. Coeffier M, Claeysens S, Hecketsweiler B, Lavoigne A, Ducrotte P, Dechelotte P. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2003;285:G266-G273.

## La méthylation des promoteurs des gènes GSTP1, RASSF1A, EPHB2 et BRCA1 est modifiée par les phyto-œstrogènes du soja dans les cellules de cancer de la prostate

**Adam Vardi<sup>1,3</sup>, Rémy Bosviel<sup>1,2</sup>, Laurent Guy<sup>3,5</sup>, Nadège Rabiau<sup>1,2,4</sup>, Luc Fontana<sup>5,6</sup>, Pierre Déchelotte<sup>5,7</sup>, Jean-Paul Boiteux<sup>3,5</sup>, Yves-Jean Bignon<sup>1,2,5</sup>, Dominique Bernard-Gallon<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Centre Jean Perrin, Département d'Oncogénétique, EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale », Centre Biomédical de Recherche et de Valorisation, 28 place Henri Dunant, B.P.38, 63001 Clermont-Ferrand,.

<sup>2</sup> CNRH, 58 rue Montalembert, 63000 Clermont-Ferrand Cedex 01,.

<sup>3</sup> CHU Gabriel Montpied, Service d'Urologie, 28 place Henri Dunant, 63003 Clermont-Ferrand,.

<sup>4</sup> Soluscience S.A, Biopôle Clermont-Limagne, 63360 Saint-Beuzire,.

<sup>5</sup> Université Clermont I, Faculté de Médecine, 28 place Henri Dunant, 63001 Clermont-Ferrand,.

<sup>6</sup> CHU Gabriel Montpied, Service de Médecine du Travail et des Risques Professionnels, 28 place Henri Dunant, 63003 Clermont-Ferrand,.

<sup>7</sup> CHU, Hôtel Dieu, Service d'Anatomie Pathologique, Boulevard Charles de Gaulle, 63058 Clermont-

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

Cette étude vise à caractériser les modifications de la méthylation des régions promotrices de certains gènes onco-suppresseurs impliqués dans le cancer de la prostate, après traitement par les phyto-œstrogènes du soja. L'incidence du cancer de la prostate dans les pays asiatiques est trente fois inférieure à celle des pays occidentaux, suggérant un effet protecteur des phyto-œstrogènes du soja, constituant majeur de l'alimentation asiatique.

La technique de PCR méthylation-spécifique (MSP) a été utilisée afin de déterminer l'effet des isoflavones du soja (la génistéine et la daidzéine) et/ou d'un agent déméthylant (la 5-azacytidine) sur la méthylation des promoteurs des gènes GSTP1, RASSF1A, EphB2 et BRCA1 dans trois lignées continues humaines de cancer de la prostate (PC-3, DU-145 et LN-CaP). En parallèle, la technique d'immunohistochimie a été utilisée afin d'observer les effets des traitements par la génistéine, la daidzéine et/ou la 5-azacytidine sur l'expression des protéines correspondantes aux gènes étudiés.

En contrôle (sans traitement), tous les promoteurs étudiés, à l'exception de celui de BRCA1 sont trouvés fortement méthylés par la technique de MSP. Après traitement par les phyto-œstrogènes, une déméthylation des promoteurs de GSTP1 et EphB2 a été observée par MSP et en parallèle, une augmentation de l'expression des protéines correspondantes a été observée par immunohistochimie.

Les modifications épigénétiques de l'ADN, telles que la déméthylation des îlots CpG présents dans les promoteurs de gènes suppresseurs de tumeurs pourraient agir sur l'effet protecteur des phyto-œstrogènes du soja dans le cancer de la prostate

## P5

### Mise au point de la MeDIP avec des cellules de cancer du sein traitées par les phyto-œstrogènes du soja

**Rémy Bosviel<sup>1,2</sup>, Marine Gueugneau<sup>1</sup>, Sinda Mahbouli<sup>1</sup>, Elodie Henry<sup>1</sup>, Laurie Joumard<sup>1</sup>, Nadège Rabiau<sup>1,2,3</sup>, Corinne Aubel<sup>1,2,4</sup>, Luc Fontana<sup>4,5</sup>, Pierre Déchelotte<sup>4,6</sup>, Yves-Jean Bignon<sup>1,2,4</sup>, Dominique Bernard-Gallon<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Centre Jean Perrin, Département d'Oncogénétique, EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale », Centre Biomédical de Recherche et de Valorisation, 28 place Henri Dunant, B.P.38, 63001 Clermont-Ferrand, <sup>2</sup>CNRH, 58 rue Montalembert, 63000 Clermont-Ferrand Cedex 01,.

<sup>4</sup> Université Clermont I, Faculté de Médecine, 28 place Henri Dunant, 63001 Clermont-Ferrand, <sup>5</sup> CHU Gabriel Montpied, Service de Médecine du Travail et des Risques Professionnels, 28 place Henri Dunant, 63003 Clermont-Ferrand, <sup>6</sup> CHU, Hôtel Dieu, Service d'Anatomie Pathologique, Boulevard Charles de Gaulle, 63058 Clermont-Ferrand,.

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

Le cancer du sein touche principalement les pays occidentaux. Les pays ayant une forte consommation de produits dérivés du soja présentent une faible incidence pour ce cancer. Les phyto-œstrogènes pourraient agir via des modifications épigénétiques en particulier sur la méthylation de l'ADN au niveau des îlots CpG. Trois lignées ont été utilisées : MDA-MB-231, MCF-7 et MCF10a. Elles ont été traitées par la génistéine, la daidzéine et la 5-Azacytidine, un agent déméthylant, par comparaison avec des cellules témoins non traitées. L'objectif était d'étudier les éventuelles modifications dues aux phyto-œstrogènes du soja sur la méthylation au niveau des promoteurs des gènes BRCA1 et BRCA2. Les différentes immunoprécipitation de l'ADN méthylé provenant des différentes lignées cellulaires et les inputs correspondants sont étudiés par PCR classique à l'aide d'amorces ciblant l'exon 1 de l'oncosuppresseur BRCA1 et l'exon 2 de l'oncosuppresseur BRCA2. Nos résultats montrent que la génistéine a un effet plus déméthylant sur BRCA1 et BRCA2 dans la lignée MDA-MB-231 que dans la lignée MCF-7. Par contre, la daidzéine a un effet encore plus faible sur la méthylation de ces gènes dans ces deux lignées continues. L'azacytidine, montre un fort pouvoir déméthylant sur les 2 oncosuppresseurs BRCA1 et BRCA2. De plus, nous avons vérifié les variations de l'expression des protéines BRCA1 et BRCA2 par immunohistochimie. Les phyto-œstrogènes et la 5-Azacytidine par leur action déméthylante, entraînent bien une surexpression de ces protéines. Nous avons aussi vérifié par western blotting que ces traitements déméthylants dans les différentes lignées cellulaires entraînaient bien une augmentation de l'expression de ces mêmes protéines.

## P6

### Adaptations génique et fonctionnelle des cellules NK à la disponibilité en arginine

Lamas Bruno<sup>(a)</sup>, Vergnaud-Gauduchon Juliette<sup>(a)</sup>, Perche Olivier<sup>(a)</sup>,  
Goncalves-Mendes Nicolas<sup>(a)</sup>, Rougé Stéphanie<sup>(a)</sup>, Vasson Marie-Paule<sup>(a,b)</sup>,  
Farges Marie-Chantal<sup>(a)</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition, EA4233, UFR de Pharmacie, Université d'Auvergne, CRNH-Auvergne, CLARA

<sup>b</sup>Unité de Nutrition, Centre de Lutte Contre le Cancer Jean Perrin, Clermont-Ferrand

Au niveau de l'environnement tumoral, la libération accrue d'arginase I, consécutive à l'accumulation, l'activation puis la mort des cellules phagocytaires, serait responsable d'une déplétion locale en arginine (Arg). Les cellules Natural Killer (NK), de part leur activité cytotoxique, participent en coopération avec les phagocytes à l'élimination des cellules tumorales. Le but de ce travail a été d'explorer in vitro l'effet d'une déplétion en arginine, d'une part sur les voies métaboliques de cet acide aminé dans un modèle de cellules NK humaines dépendante à l'IL-2 (NK-92), et d'autre part sur la fonctionnalité des cellules NK-92 et des NK circulantes humaines.

Les cellules NK circulantes issues de volontaires sains ont été séparées par gradient de densité et sélectionnées par tri magnétique. Ces cellules et la lignée NK-92 ont été cultivées en présence de concentrations variables d'Arg (0 ; 2,5 ; 5 ; 15 ; et 200 mg/L). La cytotoxicité des 2 types cellulaires et le % de cellules NK-92 exprimant le CD25 (IL-2R $\alpha$ ) et la chaîne  $\xi$  retrouvée dans les récepteurs stimulateurs NKp30 et NKp46 ont été quantifiés par cytométrie en flux. De plus, l'expression génique des transporteurs et des enzymes impliqués dans le métabolisme de l'Arg, à savoir les « cationic amino-acid transporteurs » 1 et 2B, l'arginase I et II, l'ornithine décarboxylase, l'ornithine aminotransférase, l'oxyde nitrique synthase endothéliale et inducible, a été évaluée par RT-qPCR sur les cellules NK-92. (Moyenne  $\pm$  SEM, ANOVA suivie d'un test a posteriori PLSD de Fisher,  $a \neq b \neq c \neq d$   $p < 0,05$ ).

#### Résultats :

Effet d'une déplétion en Arg sur les cellules NK-92 après 48h de culture

[Arg] (mg/L)	% de cytotoxicité	% de cellules CD25 <sup>+</sup>	% de cellules $\xi$ <sup>+</sup>
0	22 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	55 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	35 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>
2,5	80 $\pm$ 7,3 <sup>b</sup>	56 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>	72 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>
5	101 $\pm$ 6,9 <sup>c</sup>	58 $\pm$ 3,6 <sup>a</sup>	76 $\pm$ 1,2 <sup>c</sup>
15	100 $\pm$ 0 <sup>bc</sup>	60 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	86 $\pm$ 0,7 <sup>d</sup>
200	107 $\pm$ 6,1 <sup>c</sup>	59 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	87 $\pm$ 2,1 <sup>d</sup>

En outre, en fonction des concentrations en Arg, l'expression génique des transporteurs et des enzymes impliqués dans le métabolisme de l'Arg des cellules NK-92 semble modulée sans pour autant que les différences ne soient statistiquement significatives. De plus, comme pour les cellules NK-92, la cytotoxicité des cellules NK circulantes est inhibée par une déplétion en Arg et cet effet est dépendant de la concentration jusqu'à 5 mg/L d'Arg.

Une déplétion en Arg inhibe la cytotoxicité des cellules NK circulantes et NK-92. Dans ces dernières, cet effet est indépendant de l'action de l'IL-2 sur son récepteur (CD25) et ne passerait pas par des modulations majeures de l'expression génique des enzymes et des transporteurs du métabolisme de l'Arg. Cependant, des modulations post-transcriptionnelles et/ou des variations de l'activité des enzymes pourraient être mises en jeu. Par ailleurs, le % de cellules NK-92 exprimant la chaîne  $\xi$  est modulé par l'Arg, ce qui pourrait expliquer les variations de la cytotoxicité via la modulation des récepteurs activateurs NKp30 et NKp46.

## P7

### Les phyto-oestrogènes du soja ont-ils une influence sur l'expression des miARNs dans le cancer de la prostate ?

**H. Trraf<sup>2</sup>, N. Rabiau<sup>1,2,4,5</sup>, R. Bosviel<sup>2,5</sup>, C. Aubel<sup>2,4,5</sup>, L. Fontana<sup>3,5,6</sup>, J. Dauplat<sup>2,3,4</sup>, Y-J. Bignon<sup>2,3,4,5</sup>, D. Bernard-Gallon<sup>2,4,5</sup>**

<sup>1</sup>Soluscience, Biopôle Clermont Limagne, 63360 Saint-Beauzire, - <sup>2</sup>Département d'Oncogénétique du Centre Jean Perrin, CBRV, 28 place Henri Dunant, B.P. 38, 63001 Clermont-Ferrand, Cedex 01,.

<sup>3</sup>Univ Clermont 1, 28 place Henri Dunant, 63001 Clermont-Ferrand Cedex, . <sup>4</sup>CRNH, 58 rue Montalembert, 63009 Clermont-Ferrand Cedex 01, . <sup>5</sup>EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale » <sup>6</sup>Service de Médecine du travail et des Risques Professionnels, CBRV, 28 place Henri Dunant, 63001 Clermont-Ferrand, Cedex 01,

[rabiau@soluscience.fr](mailto:rabiau@soluscience.fr)

Le cancer de la prostate est la deuxième cause de cancer chez les hommes dans le monde. Des données épidémiologiques révèlent que l'incidence du cancer de la prostate est plus faible dans les pays asiatiques que dans les pays occidentaux. Ces résultats seraient attribuables à une forte consommation de soja dans les pays asiatiques. Plus particulièrement, l'effet protecteur du soja serait dû à deux composés, la génistéine et la daidzéine, deux phyto-œstrogènes de la famille des isoflavones. Par ailleurs, de nombreuses études s'intéressent actuellement aux miARNs et à leur implication dans les pathologies tumorales. Ces petits nucléotides non codants agiraient en tant que suppresseurs de tumeurs ou d'oncogènes, et leur expression semble être dérégulée lors des cancers.

Notre étude a tenté de corréler ces deux données sur le cancer de la prostate. Elle a visé à déterminer si les phyto-œstrogènes du soja avaient un effet sur l'expression des miARNs.

Pour ce faire, nous avons étudié l'expression de 365 miARNs dans 3 lignées continues prostatiques humaines après traitement par 40µM de génistéine, 110µM de daidzéine, et 2µM de 5-azacytidine pendant 48 heures grâce à la technique de RTq-PCR sur plaques microfluidiques.

Il apparaît que les effets des phyto-œstrogènes et de la 5-azacytidine sont différents suivant les lignées étudiées. En effet, les traitements semblent avoir une action pro-tumorale sur la lignée PC-3, alors que l'étude de la lignée DU-145 révèle un effet protecteur des mêmes traitements. Quant à la lignée LNCaP, les phyto-œstrogènes et l'azacytidine ont une action discutable, bien qu'elle semble être plutôt protectrice.

## **Physiopathologie de la glande prostatique : un dialogue entre le récepteur des androgènes et les récepteurs des oxystéroïdes (LXR)**

**Viennois E, Dufour J, Pommier A, Caira F, Baron S, Morel L, Lobaccaro JMA**

*UMR GReD CNRS 6247 INSERM U931-Clermont Université et CRNH d'Auvergne*

*24 avenue des Landais, 63177 Aubière Cedex*

*[Emilie.viennois@univ-bpclermont.fr](mailto:Emilie.viennois@univ-bpclermont.fr)*

Les LXR (liver-X-receptor) sont des récepteurs nucléaires clés du contrôle de l'homéostasie lipidique. L'analyse des souris déficientes en LXR révèle une dilatation anormale des lobes prostatiques ventraux par accumulation excessive de sécrétions dans les acini. Ce phénotype résulte en partie d'une altération de l'expression de gènes codant des protéines sécrétées dans le fluide prostatique. En effet une analyse conduite par qPCR a permis d'identifier une expression anormale des gènes *sbp* (spermine binding protein), *acpp* (acid prostatic phosphatase), *svs2* (seminal vesicle secretion 2) ou *spp1* (secreted phosphoprotein 1). Ces gènes étant sous le contrôle des androgènes, nos études se sont concentrées sur l'activité de AR (récepteur des androgènes) au sein du compartiment épithélial. Les cellules épithéliales de prostate murine déficientes en LXR $\alpha$  présentent un niveau d'accumulation plus élevé de AR par rapport à des cellules sauvages. De plus, nous avons mesuré des taux de testostérone plasmatique plus élevés chez les souris LXR $^{-/-}$  que chez les souris sauvages. L'ensemble de ces données indiquent qu'une perturbation de l'expression et/ou de l'activité du récepteur des androgènes pourrait être à l'origine du phénotype observé chez les souris *lxr* $^{-/-}$ .

Les données obtenues à partir du modèle de souris *lxr* $^{-/-}$  se rapprochent des signes cliniques observés dans les cas d'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP) chez l'homme. Au vu du rôle prépondérant des LXR dans le contrôle de l'homéostasie lipidique intracellulaire, les souris *lxr* $^{-/-}$  apparaissent donc comme un modèle pertinent pour comprendre les liens qu'il existe entre cette pathologie et les apports nutritionnels en lipides.

Travail financé en partie par : Région Auvergne, Fondation FRM-BNP-Paribas, Ligue contre le Cancer, Association pour la Recherche sur les Tumeurs de la Prostate, Cancéropôle Lyon Auvergne Rhône-Alpes, ProCan Axe III.

## P9

### Expression des Gènes BRCA1, BRCA2, AR et IGF-I dans le Cancer de la Prostate: Corrélation entre RT-QPCR et Immunohistochimie

**Nadège Rabiau**<sup>1,4,5</sup>, **Pierre Déchelotte**<sup>3,6</sup>, **Rémy Bosviel**<sup>1,4</sup>, **Corinne Aubel**<sup>1,4</sup>,  
**Jean-Louis Kemeny**<sup>2,3</sup>, **Laurent Guy**<sup>8</sup>, **Jean-Paul Boiteux**<sup>2,8</sup>, **Luc Fontana**<sup>3,7</sup>,  
**Jacques Dauplat**<sup>1,3</sup>, **Yves-Jean Bignon**<sup>1,3,4\*</sup>, **Dominique Bernard-Gallon**<sup>1,4</sup>.

<sup>1</sup> Centre Jean Perrin, Département d'Oncogénétique, EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale », Centre Biomédical de Recherche et de Valorisation, 28 place Henri Dunant, B.P.38, 63001 Clermont-Ferrand, <sup>2</sup> CHU Gabriel Montpied, Service d'Anatomie Pathologique, 58 rue Montalembert, B.P. 392, 63003 Clermont-Ferrand, <sup>3</sup> Université Clermont I, Faculté de Médecine, 28 place Henri Dunant, 63001 Clermont-Ferrand, <sup>4</sup> CNRH, 58 rue Montalembert, 63000 Clermont-Ferrand Cedex 01, <sup>5</sup> Soluscience S.A, Biopôle Clermont-Limagne, 63360 Saint-Beauzire, <sup>6</sup> CHU, Hôtel Dieu, Service d'Anatomie Pathologique, Boulevard Charles de Gaulle, 63058 Clermont-Ferrand, <sup>7</sup> CHU Gabriel Montpied, Service de Médecine du Travail et des Risques Professionnels, 28 place Henri Dunant, 63003 Clermont-Ferrand, <sup>8</sup> CHU Gabriel Montpied, Service d'Urologie, 28 place Henri Dunant, 63003 Clermont-Ferrand,.

[rabiau@soluscience.fr](mailto:rabiau@soluscience.fr)

L'identification et la caractérisation de biomarqueurs du cancer de la prostate restent importantes pour l'amélioration de diagnostic de cette maladie. La technique de RT-qPCR pour la détection des ARN messagers et leur quantification n'est actuellement pas assez exploitée dans la recherche sur le cancer de la prostate. Afin de mieux adapter les outils thérapeutiques, une meilleure compréhension de la définition de ces anomalies génétiques et moléculaires des tumeurs à risque élevé est nécessaire pour identifier des biomarqueurs plus précis .

L'objectif de cette étude était de déterminer les différences dans l'expression des gènes BRCA1, BRCA2, RA et IGF1 en fonction du stade d'un cancer de la prostate. Nous avons analysé une cohorte de 98 biopsies de la prostate et nous sommes intéressés en particulier à l'expression de ces 4 gènes. Nous avons utilisé la technique de RT-QPCR et la corrélation a été réalisée avec les protéines correspondantes par immunohistochimie.

Parmi les 98 biopsies de la prostate étudiées, une grande hétérogénéité d'expression des ARNs de ces 4 gènes par RT-QPCR a été détectée au sein des différents types histologiques. Cependant, une sous-expression des gènes BRCA1 et BRCA2 a été détectée, en particulier dans les tissus sains. L'expression du RA et celle de l'IGF-1 dépendraient du degré de malignité de l'échantillon.

L'immunohistochimie a permis de confirmer les résultats de RT-QPCR puisque les protéines BRCA1 et BRCA2 s'expriment peu, et la protéine RA s'exprime plus dans les tissus sains que malins. L'expression d'IGF1 est corrélée au degré de malignité de la biopsie.

Les gènes BRCA1, BRCA2, RA et IGF1 semblent être de bons candidats comme biomarqueurs de malignité du cancer de la prostate.

## P10

### La leptine peut-elle moduler l'effet d'une thérapie anti-cancéreuse? Cas du tamoxifène dans le cancer du sein.

**Dubois V.**<sup>1,2</sup>, **Delort L.**<sup>1,2</sup>, **Billard H.**<sup>1,2</sup>, **Vasson MP.**<sup>2,3,4</sup>, **Caldefie-Chézet F.**<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire SVFp ; <sup>2</sup>EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale », CRNH-Auvergne, UFR Pharmacie, IFR Santé 79, Université d'Auvergne;

<sup>3</sup>Unité de Nutrition, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand ;  
[Virginie.DUBOIS@u-clermont1.fr](mailto:Virginie.DUBOIS@u-clermont1.fr)

**Introduction** : L'obésité est actuellement considérée comme un facteur de risque de développement de tumeurs mammaires chez la femme ménopausée. Dans cette situation, le tissu adipeux excédentaire peut d'une part, augmenter la production d'œstrogènes potentiellement carcinogènes et, d'autre part, accroître la synthèse et sécrétion d'une adipokine majeure : la leptine. De plus, nous avons préalablement établi des relations étroites entre voies oestrogénique et leptinique avec notamment un effet stimulateur de la leptine sur l'expression de l'aromatase au niveau tumoral<sup>1</sup>. Dans ce contexte, nous nous sommes interrogés sur les interactions susceptibles d'exister entre un traitement anticancéreux, le Tamoxifène, qui réduit la prolifération cellulaire via un effet anti-oestrogénique, et la leptine, qui la stimule<sup>1</sup>.

**Matériels et Méthodes** : Les cellules cancéreuses mammaires en lignée continue MCF7 ont été traitées avec ou sans leptine [0 ; 10 ng/ml (situation physiologique) ; 100 ng/ml (situation d'obésité) et 1000 ng/ml (concentration pharmacologique) ; n=6], en présence ou non de Tamoxifène (0,75 µM, n=6). La mesure de la prolifération cellulaire a été réalisée par un test de fluorescence à la résazurine (25 µg/ml ; 590 nm) à différents temps : 24, 48, 72 et 96h d'incubation, à l'aide d'un lecteur de microplaques (Fluoroskan Ascent FL, Thermoelectron corporation, France).

**Résultats** : La leptine, à 100 et 1000 ng/ml, induit une augmentation de la prolifération des cellules MCF7 de 10 et 9% respectivement après 72h d'incubation. Dans les mêmes conditions expérimentales, le Tamoxifène utilisé seul, inhibe la croissance des cellules cancéreuses de 18% à 72h. En présence de leptine (10, 100 ou 1000 ng/ml), l'inhibition de la prolifération cellulaire par le Tamoxifène est diminuée (+8,8%, +8,4% et +17,4% respectivement après 72h d'incubation).

**Conclusion** : Ces résultats préliminaires suggèrent que la leptine semble diminuer l'effet du Tamoxifène sur la prolifération des cellules MCF-7. En effet, l'efficacité du Tamoxifène pourrait être modifiée par des taux circulants élevés de leptine, notamment en cas d'obésité, et/ou par une augmentation d'expression de la leptine au sein du micro-environnement tumoral.

<sup>1</sup>Jardé T, Proc Nutr Soc, 2008

## P11

### Leptine et angiogenèse au cours du cancer mammaire : étude in vitro

**Dubois V.**<sup>1,2</sup>, **Delort L.**<sup>1,2</sup>, **Billard H.**<sup>1,2</sup>, **Vasson MP.**<sup>2,3,4</sup>  
**, Caldefie-Chézet F.**<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire SVFp ; <sup>2</sup>EA 4233 « Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale », CRNH-Auvergne, UFR Pharmacie, IFR Santé 79, Université d'Auvergne ; <sup>3</sup>Unité de Nutrition, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand  
[Virginie.DUBOIS@u-clermont1.fr](mailto:Virginie.DUBOIS@u-clermont1.fr)

L'obésité est actuellement considérée comme un facteur de risque de développement du cancer mammaire, notamment chez la femme en post-ménopause. Les sécrétions adipocytaires (i.e. les adipokines), dont les taux sont modulés en situation d'obésité, peuvent jouer un rôle dans le développement des processus de cancérogenèse mammaire. Nous avons déjà montré que deux adipokines majeures, la leptine et l'adiponectine, exercent respectivement un effet stimulant et inhibiteur sur la prolifération de lignées de cellules cancéreuses mammaires et qu'elles sont exprimées au niveau de biopsies d'adénocarcinomes mammaires<sup>1,2</sup>. Le processus d'angiogenèse, favorisé par le microenvironnement tumoral, est impliqué dans la prolifération et la propagation de tumeurs agressives à potentiel métastatiques. Dans ce contexte, il apparaît fondamental de mieux comprendre le rôle tenu par ces biomolécules sur le processus d'angiogenèse, et en particulier celui de la leptine considérée comme un facteur pro-cancérigène.

La migration cellulaire a été évaluée sur culture primaire de cellules endothéliales (HUVEC) par le test de comblement de lésion mécanique effectuée sur une monocouche de cellules confluentes [oculaire micrométrique (Leica) et microscope (x 200, Astral)] après 22 heures d'incubation (5% CO<sub>2</sub>, 37°C). Pour ce test, les cellules HUVEC (n=8) ont été mises en présence de différentes concentrations de leptine [0 ; 0,1 ; 1 ; 10 (valeurs physiologiques) et 100 ng/mL (situation d'obésité)] ou de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) servant de témoin positif (10 et 100 ng/mL). En parallèle, la néovascularisation des tumeurs a été évaluée par la technique de formation de tubes endothéliaux sur Matrigel®, après 16h d'incubation. Pour cela, après pré-traitement ou non des cellules HUVEC (n=1) par de la leptine (0 ; 1 ; 10 et 100 ng/mL) et du VEGF (10 et 100 ng/mL). Les résultats sont exprimés en aire moyenne et périmètre moyen de tubes formés à l'aide du logiciel Image J.

Le comblement des lésions est augmenté respectivement de 24%, 45%, 54% et 66% en présence de leptine à 0,1 ; 1 ; 10 et 100 ng/mL par rapport au témoin (leptine 0 ng/mL). De même, le VEGF à 100 ng/mL augmente le pourcentage de comblement de 81%. La leptine à 10 et 100 ng/mL semble favoriser la formation de tubes endothéliaux puisque l'aire moyenne (respectivement x 1,04 et x 1,49) et le périmètre moyen (respectivement x 1,10 et x 1,20) des tubes formés sont augmentés par rapport au témoin.

Ces résultats préliminaires montrent que la leptine utilisée in vitro aux concentrations physiologique ou correspondant à celles en situation d'obésité, favoriserait à la fois la migration des cellules endothéliales et la formation de tubes endothéliaux. Cette adipokine pourrait donc influencer le processus d'angiogenèse en lien avec la cancérogenèse mammaire, notamment chez les patientes obèses pour lesquelles une hyperleptinémie et une augmentation du potentiel métastatique sont décrites.

<sup>1</sup> Caldefie-Chézet F, *Biochem Biophys Res Commun*, 2005 ; <sup>2</sup> Jardé T, *Proc Nutr Soc*, 2008.

## P12

# **L'absence de récupération musculaire observée chez le rat âgé suite à une atrophie induite par immobilisation n'est pas due à une absence de régulation de l'apoptose mitochondriale ou de la protéolyse ubiquitine-protéasome-dépendante**

**Magne Hugues, Savary-Auzeloux Isabelle, Vazeille Emilie, Attaix Didier, Dardevet Dominique et Combaret Lydie**

*INRA, UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine, Equipe Nutrition et Signaux Protéiques,  
63122 Saint Genès Champanelle  
[hugues.magne@clermont.inra.fr](mailto:hugues.magne@clermont.inra.fr)*

La sarcopénie s'expliquerait en partie par des pertes de masse musculaire non récupérées. Les périodes d'immobilisation, qui augmentent avec l'âge (convalescence, alitement), contribuent elles-mêmes à la fonte musculaire. Les fontes protéiques impliquent un déséquilibre entre la protéolyse et la protéosynthèse et entre l'apoptose et la régénération/différenciation cellulaire. Notre objectif a été de déterminer les mécanismes responsables de l'atrophie musculaire au cours de l'immobilisation et de la récupération chez le rat âgé. Quarante-huit rats âgés de 24 mois ont été soumis à 8 jours d'une immobilisation unilatérale des pattes arrière par plâtrage (I8) puis laissés en récupération pendant 10 à 40 jours (R10 à R40). L'apoptose mitochondriale (activités des caspases et de l'apoptosome), la protéolyse ubiquitine-protéasome-dépendante (UPS) (activité chymotrypsine-like du protéasome (CT-like)) et la régénération cellulaire (myf-5) ont été évaluées dans les patte non-immobilisées (NI) ou immobilisées (I) d'un même rat. Les muscles gastrocnemius I se sont atrophiés de 21% ( $P < 0,05$ , vs NI) à I8 et présentent une augmentation de l'index apoptotique, des activités de la caspases-3, de l'apoptosome, et de l'activité CT-like du protéasome (+250%, 48%, 60% et 39%,  $P < 0,05$  vs. NI, respectivement), ainsi qu'une diminution des teneurs protéiques de myf-5 (-50%,  $P < 0,05$  vs. NI). Aucune récupération musculaire n'est observée, même à R40, alors que les voies protéolytiques et apoptotiques sont normalisées dès R10. En conclusion, l'absence de récupération musculaire suite à l'immobilisation n'est pas due à un défaut de régulation des voies apoptotique mitochondriale et UPS. Nos travaux suggèrent donc que d'autres mécanismes, tel que la synthèse protéique, joueraient un rôle crucial dans le défaut d'accrétion protéique chez l'animal âgé.

## P13

### **Curcumin treatment blocks increased proteasome and apoptosome activities in immobilized rat skeletal muscle without inhibiting muscle atrophy**

**Vazeille E, Magne H, Dardevet D, Attaix D, Combaret L**

*INRA, UMR1019 Nutrition Humaine, Saint Genes Champanelle, France  
Clermont Universités, UMR1019 Nutrition Humaine, Clermont-Ferrand, France  
CRNH Auvergne, UMR1019 Nutrition Humaine, Clermont-Ferrand, France  
[lydie.combaret@clermont.inra.fr](mailto:lydie.combaret@clermont.inra.fr)*

Sustained muscle wasting ultimately leads to bed rest and immobilization. Designing new strategies that prevent muscle wasting following immobilization is of major importance to maintain autonomy and to reduce public health care costs. Immobilization is characterized by a concomitant activation of the ubiquitin(Ub)-proteasome-dependent proteolytic system and of the mitochondria-associated apoptotic pathway. Increased oxidative stress and inflammatory response also occur in immobilized skeletal muscle.

We evaluated the role of curcumin on muscle atrophy in immobilized animals. This compound exhibits anti-oxidant and anti-inflammatory properties and has been reported to block proteasome activation in intact animals.

Wistar rats were subjected to unilateral hindlimb immobilization for 8 days, and the contralateral muscle of the non-casted leg was used as a control. Half of the animals received a daily administration of curcumin (1 mg/kg, i.p.). Proteolytic and apoptotic pathways were studied in gastrocnemius muscles.

Curcumin did not reduce immobilization-induced muscle atrophy. Similarly, the increase amount of ubiquitinated conjugates and the increased caspase 3 activity that both prevail in immobilized muscles were unchanged in curcumin-treated rats. By contrast, curcumin suppressed the increased chymotrypsin-like activity of the proteasome and apoptosome activities in the immobilized muscles.

The lack of effect of curcumin on muscle wasting in immobilized muscles suggests that curcumin does not inhibit rate limiting steps for muscle atrophy. Alternatively, the data may suggest that the i.p. mode of administration of curcumin does not provide enough biologically active metabolites on the signaling pathways of muscle proteolysis.

## P14

### Analyse Protéomique de la Sarcopénie chez le Rat Wistar

**Didier Delalande, Marie-Paule Roux, Christophe Chambon, Thierry Said,  
Didier Attaix, Lydie Combaret, Daniel Béchet**

*UMR1019, Unité de Nutrition Humaine, INRA de Theix, 63122 Saint Genès Champanelle  
[daniel.bechet@clermont.inra.fr](mailto:daniel.bechet@clermont.inra.fr)*

L'altération graduelle de la fonction musculaire (sarcopénie) est une composante critique du vieillissement. Elle conduit inéluctablement à une perte d'autonomie fonctionnelle, et à une moindre capacité à lutter contre les agressions métaboliques. Les mécanismes de la sarcopénie sont complexes et restent relativement méconnus. La sarcopénie est caractérisée par des altérations (nombre, taille et type) des fibres musculaires, par la réorganisation des jonctions neuromusculaires, par une fibrose du tissu conjonctif, ainsi que par des proportions différentes de cellules non-musculaires. Les perturbations des fibres musculaires concernent tant le métabolisme énergétique, le stress cellulaire, que le renouvellement protéique et donc l'appareil contractile. Notre projet privilégie une technique de biologie à haut débit, la protéomique, afin d'apporter une vision globale à ce phénomène complexe. Des électrophorèses 2D ont été réalisées sur le gastrocnemius de rats Wistar (3, 8 et 24 mois). Nous avons, d'une part, travaillé sur des extraits musculaires totaux et sur 2 intervalles d'analyse (gels 2D en pH 4-7 et 6-11). D'autre part, afin d'augmenter la résolution et la sensibilité des analyses, nous avons également préparé et étudié (gels 2D en pH 5-8) des extraits sarcoplasmiques. L'analyse des gels (SameSpots) a permis de mettre en évidence plus de 300 biomarqueurs, qui sont/seront identifiés par spectrométrie de masse MALDI-ToF. Certains des biomarqueurs identifiés n'avaient pas été mentionnés auparavant, et ils représentent de nouveaux indices pour élucider les mécanismes du vieillissement musculaire. Ainsi, nos études suggèrent que des phénomènes tels que inflammation chronique, réinervation, perturbation du métabolisme énergétique, des systèmes antioxydants, et de l'appareil contractile caractérisent la physiopathologie du muscle âgé.

## P15

### Estimation de la composition corporelle avec un réseau bayésien

**Laurence Mioche, Alain Brigand, Jean-Baptiste Denis**

*INRA, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint Genès Champanelle*

[Laurence.mioche@clermont.inra.fr](mailto:Laurence.mioche@clermont.inra.fr)

La composition corporelle renseigne sur l'état nutritionnel et physio-pathologique des individus. La connaissance fine de la composition corporelle et de son évolution au cours de la vie peut permettre des interventions préventives mieux ciblées sur les individus à risque. Nous avons développé un modèle probabiliste bayésien permettant de caractériser précisément la composition corporelle à partir de covariables facilement accessibles (sexe, âge, taille, poids). Ainsi construit, le modèle permet d'estimer la composition la composition corporelle d'un individu dont on connaît les caractéristiques anthropométriques ou d'une population d'intérêt caractérisée par des distributions de variables (en fonction de l'âge, du BMI...). La présentation s'attachera à montrer la précision et la résistance du modèle en comparant les estimations obtenues pour la masse maigre (FFM) et le pourcentage de masse grasse (BF%) avec 1) des mesures de compositions corporelles obtenues par absorptiométrie biphotonique (DEXA) sur 760 sujets, 2) des valeurs publiées dans la littérature et présentées sous forme agrégée (moyenne, écart-type) pour différentes populations cibles (en terme de sexe, d'âge, d'éthnicité...). Comparée aux mesures expérimentales, l'estimation des masses maigre et grasse calculée le modèle est excellente (pour FFM :  $R^2=0.95$ ,  $p<0.001$ ,  $SEE = 2.66$  kg ; pour BF% :  $R^2=0.83$ ,  $p<0.001$ ,  $SEE = 3.73\%$ ). Par ailleurs, les estimations sont stables dans des contextes assez différents de population. En conclusion, la qualité prédictive du modèle en fait un outil intéressant pour caractériser avec précision de la composition corporelle de populations à risque.

## P16

### **Association between cumulative 3-nitrotyrosine and muscle loss during aging**

**Hitoshi Murakami, Christelle Guillet, Nicolas Tardif, Jerome Salles, Yves Boirie, Stephane Walrand**

*Laboratoire de Nutrition Humaine  
58 rue Montalembert BP321 63009 Clermont-Ferrand  
[hitoshi.murakami@clermont.inra.fr](mailto:hitoshi.murakami@clermont.inra.fr)*

Muscle weight loss during aging is a result of change in protein turnover. But, protein turnover is differently affected sarcoplasmic, myofibril and mitochondrial proteins. In addition, oxidative modifications of proteins are increased in aged tissues. However, there is no information about the relationship between oxidative protein modifications and protein turnover in various fractions of skeletal muscle during aging. Difference in cumulative post translational protein modifications may be associated with the change in protein synthesis and with muscle weight loss in aging. To elucidate this hypothesis, 3-nitrotyrosine, which is one of the main oxidative modifications in proteins was measured by Western Blot in various fractions of quadriceps in 6 months (n=7) and 24 months (n=7) old rats (Adult and old). Protein synthesis rate (%/h) was evaluated in two groups of rats by measuring incorporation of  $^{13}\text{C}$ -Valine in protein. 3-nitrotyrosine was significantly increased in every fraction in old rats compared to adult rats (1.9 ( $p<0.001$ ), 1.4 ( $p<0.001$ ), and 2.9 ( $p<0.01$ ) fold in myofibril, sarcoplasm and mitochondria, respectively). In addition, protein synthesis rate significantly increased in old rats (old vs adult;  $3.5\pm 0.5$  vs  $1.7\pm 0.1$  ( $p<0.01$ ) in total protein). Interestingly, cumulative 3-nitrotyrosin was significantly negatively correlated with skeletal muscle mass ( $r^2=-0.791$  ( $p<0.001$ ),  $-0.765$  ( $p<0.01$ ) and  $-0.707$  ( $p<0.01$ ) in sarcoplasm, myofibril and mitochondria, respectively) and was significantly positively correlated with protein synthesis ( $r^2=0.837$  ( $p<0.001$ ),  $0.614$  ( $p<0.05$ ) and  $0.684$  ( $p<0.01$ ) in sarcoplasm, myofibril and mitochondria, respectively). In conclusion, these data indicate that cumulative 3-nitrotyrosine is associated with muscle weight loss and change in protein synthesis during aging.

## P17

### **La prévention du développement de l'inflammation à bas bruit restaure l'anabolisme protéique musculaire post-prandial et réduit la sarcopénie chez le vieux rat.**

**Rieu Isabelle, Magne, Hugues, Savary-Auzeloux Isabelle, Averous, Julien, Bos Cécile, Peyron MA, Combaret, Lydie and Dardevet Dominique**

*INRA UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine 63122 Ceyrat  
dominique.dardevet@clermont.inra.fr*

La sarcopénie peut être expliquée en partie par un défaut de la régulation post-prandiale du métabolisme protéique musculaire. En effet, avec l'âge et après le repas, la synthèse protéique et la protéolyse deviennent moins sensibles et cela se traduit par un moindre anabolisme. Le vieillissement est également caractérisé par le développement d'une inflammation dite « à bas bruit » (LGI) avec une augmentation modérée des protéines de la réaction inflammatoire (fibrinogène et  $\alpha$ 2-macroglobuline) et des cytokines IL6, IL1. Ces dernières peuvent modifier les voies de signalisation induites par la prise alimentaire et donc être responsables de l'insensibilité du muscle à l'état post prandial. Cette hypothèse a été vérifiée en bloquant le développement de cette LGI avec un anti inflammatoire non stéroïdien (NSAID), l'ibuprofène. Des rats de 18-20 mois ont été divisés en deux groupes: un groupe contrôle (C) et un groupe traité avec NSAID (IBU à 30mg/kg/d). Après 5 mois, les rats ont été étudiés soit à jeun (PA) soit après un repas (PP). La protéosynthèse musculaire a été mesurée par large dose ( $^{13}C$  phenylalanine); la protéolyse par technique d'incubation in vitro. L'activité de la voie mTOR et de Foxo3a a été mesurée par western blot (formes phosphorylées). Avant le traitement, les rats C et IBU n'étaient pas différents en terme de poids et concentrations de fibrinogène (F) et  $\alpha$ 2-macroglobuline (A2M). Après 5 mois, ces dernières ont été significativement augmentées in C vs IBU (F:4.47 $\pm$ 0.19 vs 3.47 $\pm$  0.19 g/l, A2M: 294.0 $\pm$  60.8 vs 134.6 $\pm$  58.9 mg/l) ainsi que IL6 et IL1 (+59.6% and +45.9%, respectivement;  $p < 0.05$ ). Contrairement aux rats IBU, les rats C ont donc développés en 5 mois une LGI. Le poids des muscles de la patte arrière était significativement plus élevé de 6 à 10% chez les rats IBU. Comme attendu, la protéosynthèse et la protéolyse musculaires sont insensibles à la prise du repas chez les rats C alors qu'elles restent respectivement stimulée et inhibée significativement à l'état post prandial chez les rats IBU. Avec LGI, le défaut de stimulation de la protéosynthèse ne semble pas s'expliquer par une altération de la voie mTOR (S6p, S6K1, 4EBP1) alors qu'un défaut de phosphorylation de Foxo3a pourrait expliquer le défaut de régulation de la protéolyse. En conclusion, toutes stratégies et notamment les stratégies nutritionnelles basées sur les propriétés anti inflammatoires de certains nutriments pourraient être bénéfiques pour préserver la masse musculaire au cours du vieillissement.

## P18

### Relations entre inflammation, vieillissement et nutrition : données de l'étude Compalimage sur 3500 sujets (ANR-05-PNRA-010).

**Papet**<sup>1</sup>, **E. Kesse-Guyot**<sup>2</sup>, **N. Meunier**<sup>1</sup>, **I. Rozand**<sup>3</sup>, **L. Roszyk**<sup>3</sup>, **V. Coxam**<sup>1</sup>,  
**D. Dardevet**<sup>1</sup>, **V. Sapin**<sup>3</sup>, **M.P. Vasson**<sup>4</sup>, **P. Galan**<sup>1</sup>, **S. Hercberg**<sup>1</sup>, **N. Cano**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, Centre Clermont-Ferrand – Theix, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint-Genès-Champagnelle, Clermont Université, UFR Médecine, UMR1019 Nutrition Humaine, F-63000, Clermont-Ferrand, France ; CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand,

<sup>2</sup> UMR U557 INSERM, U1125 INRA, CNAM, SMBH, PARIS 13; CRNH Ile de France,

<sup>3</sup> Biochimie Médicale, Centre de Biologie, CHU Clermont-Ferrand, F-63000 Clermont-Ferrand,

<sup>4</sup> Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire, Faculté de Pharmacie Université d'Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand,  
[Isabelle.Papet@clermont.inra.fr](mailto:Isabelle.Papet@clermont.inra.fr)

L'objectif de l'étude était d'analyser la relation entre inflammation et vieillissement ainsi que l'impact à long terme de la nutrition sur l'inflammation associée au vieillissement.

Les volontaires étaient issus de l'étude SU.VI.MAX (1994-2002) des régions Auvergne, Rhône-Alpes et PACA). Le score d'adéquation aux recommandations du PNNS (PNNS-GS, score maximal 15) a été calculé à l'inclusion. Un examen clinique et biologique a été réalisé 12 ans plus tard. Le score de vieillissement (SV) évaluait les performances physiques et mentales (score 24 : vieillissement le mieux réussi). Les concentrations plasmatiques de l'albumine, de la CRP (Protéine réactive C) et de l'orosomucoïde ont été quantifiées par immunoturbidimétrie. Les concentrations de l'albumine et de l'orosomucoïde observées pour les quartiles du PNNS-GS et du SV ont été analysées par covariance avec ajustement sur l'âge, le sexe et le tabac. Pour la CRP les odd ratio correspondant à des valeurs >1 g/l ont été analysés par régression logistique.

CRP, orosomucoïde et albumine ont été quantifiées chez 1551 hommes (64,6 ± 4,6 ans) et 1925 femmes (61,1 ± 6,3 ans), le PNNS-GS chez 1120 hommes et 1249 femmes et le SV chez 1480 hommes et 1818 femmes. Le PNNS-GS (hommes : 7,6 ± 1,8 ; femmes : 8,0 ± 1,8) et le SV (hommes : 11,3 ± 4,0 ; femmes : 11,7 ± 4,0) étaient plus élevés chez les femmes que les hommes ( $P < 0,05$ ). L'orosomucoïde était dépendante du PNNS-GS ( $P = 0.0041$ ) et du SV ( $P = 0.0001$ ). La probabilité pour que la concentration en CRP soit > 1 g/l était dépendante du SV mais pas du PNNS-GS.

Ainsi, CRP et orosomucoïde étaient négativement associées à la qualité du vieillissement. L'orosomucoïde était également associée négativement à la qualité de la nutrition à l'inclusion.

## P19

### Implication des récepteurs aux acides gras dans les mécanismes du remodelage osseux

**Fabien Wauquier, Thierry Alquier, Sylvie Mercier, Patrice Lebecque, Jérôme Guicheux, Paul Pilet, Véronique Coxam, Yohann Wittrant**

*Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 - Centre de Recherche en Nutrition Humaine*

*Equipe Alimentation Squelette et Métabolismes*

*INRA Theix, 63122 Saint-Genès Champanelle*

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

Il existe une littérature discrète mais de taille croissante relatant les effets de régimes enrichis en acides gras n-6, n-3 ou saturés sur les paramètres macroscopiques du tissu osseux, cependant ces études sont le plus souvent descriptives et ne permettent pas d'expliquer complètement les mécanismes mis en jeu.

Récemment, le récepteur membranaire GPR40 (G Protein-coupled Receptor 40) a été mis en évidence pour ses interactions avec les acides gras libres à longues chaînes et son expression a été démontrée dans les monocytes et les précurseurs ostéoclastiques. 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'expression du GPR40 dans des modèles murins de cultures de cellules osseuses a été confirmée par Western blot et real-time RT-PCR. L'analyse en  $\mu$ CT des fémurs de souris GPR40  $-/-$  révèle une altération de la micro-architecture osseuse avec une diminution significative du volume osseux et de l'épaisseur des travées. En parallèle, une analyse des transcrits au niveau osseux révèle une diminution de l'expression des marqueurs ostéoblastiques (ostéocalcine, runX2) alors que l'expression du récepteur à la calcitonine (CTR, marqueur ostéoclastique) n'est pas modifiée, suggérant peut-être une altération majoritaire des fonctions de l'ostéoblaste. Dans leur ensemble, ces résultats ont permis de mettre en évidence l'importance du GPR40 dans la physio-pathologie du remodelage osseux. Ces données nécessitent d'être approfondies néanmoins, elles renforcent l'intérêt de l'étude des structures membranaires dans la médiation des effets des acides gras. Ainsi les acides gras pourraient être considérés comme des éléments de communication inter-cellulaire à part entière et leurs récepteurs, tel que le GPR40 pourrait devenir une cible potentielle pour le développement de nouvelles stratégies nutritionnelles ou thérapeutiques du traitement de l'ostéoporose.

## P20

# L'invalidation du gène du TNF $\alpha$ augmente les capacités de stockage du tissu adipeux : un effet protecteur contre un régime obésogène ?

**N. Tardif, J. Salles, C. Guillet, C. Giraudet, P. Rousset, V. Patrac, Y. Boirie, S. Walrand**

UMR1019, UNH, INRA, Clermont-Universités, Laboratoire de Nutrition Humaine /  
CRNH 58 rue montalembert 63009 Clermont-Ferrand cedex 1  
[nicolas.tardif@clermont.inra.fr](mailto:nicolas.tardif@clermont.inra.fr)

**Introduction:** L'obésité correspond à un état inflammatoire à bas bruit, due à une augmentation de la sécrétion des cytokines par le tissu adipeux. Le TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha) semble être une molécule clef dans cette physiopathologie. Uysal et coll. (1997) ont ainsi montré que l'invalidation du gène codant pour le TNF $\alpha$  protégeait contre l'insulinorésistance induite par un régime hyperlipidique/hypercalorique (HL). Le but de cette étude était d'évaluer le rôle de l'inflammation, induite par un régime HL, sur l'insulino-sensibilité ( $I_oS$ ) et le métabolisme hépatique.

**Matériel et Méthodes:** 20 souris de même lignée, C57BL/6 sauvages (WHF) et C57BL/6 n'exprimant pas le gène du TNF $\alpha$  (KOHF) âgées de 6 mois ont été soumises à un régime HL durant 8 semaines. Un test de tolérance au glucose a été réalisé. L'imprégnation lipidique ainsi que des marqueurs de fibrose ont été mesurés dans le foie.

**Résultats:** L' $I_oS$  à la fin du régime n'était pas différente entre les groupes ( $p=0,07$ ). Le poids des tissus adipeux épидидymaux et perirenaux des WHF étaient respectivement inférieurs de 31% ( $p=0,03$ ) et 33% ( $p=0,04$ ) à celui des KOHF. A l'inverse, le poids du foie était en moyenne de 1,12 g chez les WHF et 0,95 g chez les KOHF ( $p=0,004$ ). Les concentrations en céramides et triglycérides hépatiques étaient significativement plus fortes chez les WHF, respectivement +35% et +54% comparativement aux KOHF. Le procollagène A, marqueur de fibrose, était plus exprimé chez les WHF que chez les KOHF (+57%;  $p=0,005$ ).

**Conclusions:** Les résultats de Uysal et coll. n'ont pas été confirmés. Néanmoins, cette étude montre qu'au cours d'un régime HL, l'absence de production de TNF $\alpha$  évite l'augmentation de la masse hépatique en maintenant les capacités de stockage du tissu adipeux limitant ainsi l'imprégnation lipidique et la fibrose hépatique.

## P21

# Effet d'une consommation quotidienne d'héspéridine, pure ou sous forme de jus d'orange, sur la fonctionnalité des cellules immunocompétentes chez le volontaire sain

Olivier Perche<sup>1</sup>, Juliette Vergnaud-Gauduchon<sup>1</sup>, Christine Morand<sup>2</sup>, Claude Dubray<sup>3</sup>, André Mazur<sup>2</sup> and Marie-Paule Vasson<sup>1,4</sup>

Laboratoire de Biochimie, Biologie moléculaire et Nutrition  
UFR Pharmacie, 28 place Henri Dunant, 63001 Clermont-Ferrand cedex 1  
[Juliette.vergnaud@u-clermont1.fr](mailto:Juliette.vergnaud@u-clermont1.fr)

**Introduction et but de l'étude.** Les polyphénols sont des molécules d'origine végétale présentant des propriétés anti-oxydantes, anti-génotoxiques et immunomodulatrices. Chez des volontaires sains, la consommation de polyphénols sous forme de liqueur de cacao provoque une inhibition de la réponse oxydative des granulocytes et une alimentation fermentée riche en polyphénols améliore l'activité lytique des cellules Natural Killer (NK) en réponse à l'IL-2. L'objectif de notre étude, réalisée chez le volontaire sain, a été de caractériser l'impact de l'héspéridine, polyphénol majeur de l'orange, administrée sous forme purifiée ou via sa matrice naturelle, le jus d'orange, sur les fonctions leucocytaires, en explorant la production de cytokines, l'activité lytique des NK et la réponse oxydative des polynucléaires neutrophiles (PNN).

**Matériel et méthodes.** Vingt-quatre volontaires sains (56±3 ans, IMC moyen 27±1) ont reçu, de façon randomisée en crossover, pendant 3 périodes de 4 semaines séparées par 3 semaines de washout, 500 ml/jour soit de jus d'orange, soit d'une boisson isocalorique associée à 2 capsules d'héspéridine (292 mg, dose identique à celle apportée par le jus) ou à 2 capsules placebo (amidon). Des prélèvements sanguins ont été effectués en début et fin de chaque période de consommation : la production cytokinique (IL-2 et IL-4) a été analysée par méthode ELISA, la cytotoxicité des cellules NK et la production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs) des PNN par cytométrie en flux. L'analyse statistique a comparé les variations individuelles entre le début et la fin de chaque période (ANOVA 1 voie).

**Résultats.** Dans nos conditions, la production d'IL-2 et d'IL-4 n'est pas significativement modifiée mais tend à diminuer après la prise d'héspéridine ou de jus d'orange en comparaison avec la boisson placebo. L'activité lytique des cellules NK reste similaire quel que soit l'apport en polyphénols (33,0±2,8% : héspéridine, 33,1±2,7% : jus d'orange, 31,9±3,1% : placebo). De même, la capacité de production d'EROs des PNN n'est pas modulée par la consommation de polyphénols : les médianes des intensités de fluorescence sont similaires pour les trois diètes (52,4 : héspéridine, 55,4 : jus d'orange, 53,7 : placebo).

**Conclusion.** Ces données suggèrent que, dans nos conditions expérimentales et chez des sujets en bonne santé, une consommation quotidienne d'héspéridine pure ou bien sous forme de jus d'orange ne modifie pas la fonctionnalité des cellules immunocompétentes.

## P22

### Polyphenol intake in the SU.VI.MAX cohort, based on Phenol-Explorer composition database

**Mathilde Touvier<sup>1</sup>, Jara Perez<sup>2</sup>, Léopold Fezeu<sup>1</sup>, Vanessa Neveu<sup>2</sup>,  
Pilar Galan<sup>1</sup>, Augustin Scalbert<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Univ Paris 13, CRNH IdF, Cnam, INSERM, U1125 Inra, UMR U557, F-93017 Bobigny,  
[m.touvier@uren.smbh.univ-paris13.fr](mailto:m.touvier@uren.smbh.univ-paris13.fr)

<sup>2</sup>UMR 1019 - Unité de Nutrition Humaine, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand-Theix,  
63122 Saint-Genes-Champanelle,  
[scalbert@clermont.inra.fr](mailto:scalbert@clermont.inra.fr)

Increasing literature suggests a potential protective effect of dietary-derived plant polyphenols against several chronic diseases such as cancers and cardiovascular diseases. Detailed information about polyphenol intake is needed to characterize associations with health and disease outcomes. These data are largely limited so far to a limited number of flavonoid aglycones. Our aim was to assess, in a large sample of French adults, polyphenol intake for 498 phenolic compounds using the new Phenol-Explorer database on polyphenol content in foods.

Dietary intake was assessed using at least six 24-h dietary records collected during a 2-year period from 5434 subjects (3078 men and 2375 women) aged 45-60 who participated in the SU.VI.MAX cohort study in 1995-1997. An instruction guide for codification of foods and beverages, including photographs to facilitate estimating portion sizes, was mailed to each subject. French recipes validated by food and nutrition professionals were used to assess the amounts consumed from composite foods. Polyphenol composition for 498 flavonoids, phenolic acids, lignans and stilbenes in 429 foods was provided by Phenol Explorer, (<http://www.phenol-explorer.eu/>).

We assessed mean, median and quintiles of daily intake for the main individual phenolic compounds and for total polyphenols in each class, as well as the contribution of the different food groups to polyphenol intake. Analyses were stratified on gender, age, education level and occupational category.

This data will be useful for further prospective analyses investigating the relationship between polyphenol intake and incidence of several pathologies in the SU.VI.MAX cohort.

## P23

### Phenol-Explorer, the first electronic comprehensive database on polyphenol composition in foods

**Vanessa Neveu<sup>1</sup>, Jara Perez<sup>1</sup>, Femke Vos<sup>1</sup>, Laure du Chaffaut<sup>2</sup>, Joseph Cruz<sup>3</sup>, Roman Eisner<sup>3</sup>, Craig Knox<sup>3</sup>, David Wishart<sup>3</sup>, Louise Mennen<sup>4</sup>, Nathalie Arnault<sup>4</sup>, Pilar Galan<sup>4</sup>, Augustin Scalbert<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UMR 1019 - Unité de Nutrition Humaine, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand-Theix, 63122 Saint-Genes-Champagnelle.)

<sup>2</sup>Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), 94701 Maisons Alfort,.

<sup>3</sup>Department of Computing Science, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada T6G 2E8

<sup>4</sup>Univ Paris 13, CRNH IdF, Cnam, INSERM, U1125 INRA, UMR U557, 93017 Bobigny, [scalbert@clermont.inra.fr](mailto:scalbert@clermont.inra.fr)

Complete tables of polyphenol content in foods and beverages are needed by epidemiologists, biologists and the agricultural and food industry. These tables are not easily obtained due the considerable diversity of polyphenols in foods, the large variability of their contents (depending on plant varieties, growth conditions, food handling and processing) and the lack of standardized analytical methods. Food composition databases so far available for polyphenols are largely focused on a limited number of flavonoid aglycones.

We have built a comprehensive database, Phenol-Explorer, gathering content values of all flavonoids, phenolic acids, lignans and stilbenes known in foods, including their glycosides and esters. 63,291 polyphenol content values have been collected by a systematic search of the scientific literature in over 1,000 peer-reviewed scientific papers. A Microsoft Access<sup>®</sup> database was built, including content values, original references, a food description and the analytical method used for their determination. Data were evaluated (sampling, number of samples, polyphenol extraction and analytical method, disclosure of experimental details). Only those values filling specified minimal requirements were selected to produce representative mean values. 35,837 content values originating from 608 publications were finally selected to produce mean content values for 498 phenolic compounds in 429 foods and beverages.

These data are available using an open-source user-friendly web interface (<http://www.phenol-explorer.eu/>) to allow any user to retrieve content values obtained by a given analytical method, for the different compounds in the different foods. The web server also allows to trace original content values and references used to calculate a given mean content value, to display polyphenol structures and other chemical information, and to generate various tables and graphs.

## P24

### Characterization of antiatherogenic effect of dietary curcumin and its molecular targets – in vivo studies

**Dilek COBAN, Dragan MILENKOVIC, Audrey CHANET, Séverine THIEN, Augustin SCALBERT, André MAZUR and Christine MORAND**

*INRA de Clermont-Ferrand/Theix  
UNH UMR1019, Equipe Micronutriments, Métabolisme et Santé  
63122 Saint-Genès Champanelle  
[dcoban@clermont.inra.fr](mailto:dcoban@clermont.inra.fr)*

Atherosclerosis is currently considered as a chronic and progressive disease arising from the inflammatory processes and oxidative stress within vessel wall. Macrophage uptake of lipoproteins, especially ox-LDL, is considered a critical process in the development of atherosclerosis, causing transformation of the macrophages into foam cells, thus promoting cholesterol accumulation and inflammation in the atherosclerotic plaque. Curcumin, a polyphenolic natural compound extracted from the plant *Curcuma longa* has been reported to possess anti-inflammatory and anti-oxidant actions. Curcumin modulates numerous targets including the transcription factor NF- $\kappa$ B and subsequently NF- $\kappa$ B-regulated gene products such as adhesion molecules, inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases. Therefore, little is known about curcumin's cardioprotective effects and in particular on the development of atherosclerosis.

We hypothesized that curcumin could inhibit the development of atherosclerosis in the atherosclerosis prone apo E-knockout mice. Curcumin was given in the diet at a dose of 0.2 % for 4 months. We showed that curcumin inhibited both atherosclerotic lesion, measured by "cross-section" method ( $p=0.02$ ) and macrophages infiltration in the lesion ( $p=0.01$ ). This anti-atherosclerotic effect of curcumin was not related to changes in lipemia. Transcriptomic analyses of aortas by microarrays permitted the identification of 2,263 genes differentially expressed by dietary curcumin. These genes, as classified according to their cellular function, belong to numerous biological processes and particularly cellular adherence, chemotactism, cytoskeleton organization, phagocytosis or cell communication. In conclusion, this study shows an anti-atherogenic effect of dietary curcumin in vivo, that seems to be mediated by a lower infiltration of macrophages and it points out potential molecular targets of curcumin associated to molecular pathways involved in the development of atherosclerosis.

## Impact cardiovasculaire et métabolique chez l'adulte d'un stress hyperoxique en période néonatale

**Yzydorczyk C<sup>1,2</sup>, Mivelaz Y<sup>2</sup>, Cousineau J<sup>2</sup>, Cloutier A<sup>2</sup>, Germain N<sup>2</sup>,  
Nuyt AM<sup>2</sup> et Comte B<sup>1</sup>**

*1-INRA –CRNH, Unité de Nutrition Humaine, Centre de Clermont-Ferrand/Theix –  
F63122 St Genès Champanelle;*

*2-Centre de recherche-CHU Ste Justine, Université de Montréal, Montréal (Qc), Canada  
[Blandine.Comte@clermont.inra.fr](mailto:Blandine.Comte@clermont.inra.fr)*

**Introduction:** Le développement à l'âge adulte du diabète de type 2 et des conséquences cardiovasculaires sont en partie associés à l'environnement pré- et néonatal. Par ailleurs, les prématurés ont des défenses antioxydantes diminuées et sont plus susceptibles aux dommages oxydatifs tissulaires. Les conséquences cardiovasculaires et métaboliques à long terme d'un stress oxydant néonatal sont méconnues.

**Méthodes:** Des rats Sprague Dawley sont maintenus à 80% O<sub>2</sub> (HY) vs air ambiant (AA) du 3<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour de vie. La tension artérielle (TA) a été prise au cours du développement, et à l'âge adulte, la réactivité vasculaire (ex vivo), la densité microvasculaire (muscle), la vitesse d'onde pulsée, des indices de stress oxydant (malondialdéhyde plasmatique (MDA), espèces réactives de l'O<sub>2</sub> (ERO)), la composition corporelle et la sensibilité au glucose ont été étudiés.

**Résultats:** Chez les rats adultes HY vs AA (n=6-8/grpe), i) la TA est augmentée (sys.: 154±1 vs 139±1; dias.: 121±1 vs 105±1 mmHg); ii) la réactivité vasculaire à l'AngII est augmentée (E<sub>max</sub> (% KCl 80 mM)=180±5 vs 135±5%) et celle au Carbachol est diminuée (E<sub>min</sub> (% U46619 0.3 µM)=64±5 vs 46±7%) iii) la densité microvasculaire est moindre (963±47 vs 1405±55/mm<sup>2</sup>); iv) la vitesse d'onde pulsée est augmentée (505±18 vs 421±17 cm/s); v) les niveaux de MDA et d'ERO vasculaires, en basal et en réponse à l'AngII, sont augmentés; vi) la tolérance au glucose est diminuée; vii) la composition corporelle, le poids sont semblables.

**Conclusion:** Un stress hyperoxique néonatal conduit chez le rat adulte, à une dysfonction vasculaire avec une augmentation de la TA et de la vitesse d'onde pulsée, une raréfaction microvasculaire, une élévation des indices de stress oxydant avec une réduction de la tolérance au glucose. Ces résultats supportent l'hypothèse d'une programmation développementale des maladies cardiovasculaires et métaboliques à l'âge adulte.

## **Bilberry anthocyanins attenuate atherosclerotic lesion development in apo e-deficient mice: a transcriptomic study**

**Mauray A<sup>1,2</sup>, Felgines C<sup>2</sup>, Morand C<sup>1</sup>, Mazur A<sup>1</sup>, Scalbert A<sup>1</sup> et Milenkovic D<sup>1</sup>**

*1-INRA, Unité de Nutrition Humaine, Centre de Clermont-Ferrand/Theix - F63122 St Genès Champanelle; 2-Université Clermont 1, Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie, F63000 Clermont-Ferrand*

[aurelie.mauray@clermont.inra.fr](mailto:aurelie.mauray@clermont.inra.fr)

**Objectives:** The aim of the study was to explore the mechanisms involved in the anti-atherosclerotic action of a bilberry anthocyanin-rich extract in apo E-deficient (apo E<sup>-/-</sup>) mice by a high-throughput transcriptomic approach, measuring gene expression in the aorta and liver.

**Methods:** A bilberry extract (Antho 50®, Ferlux), containing 52% anthocyanins, was administered during 2 or 16 weeks at a nutritional dose (0.02% into the diet). A first group of animals were sacrificed at 16 weeks to measure the development of atherosclerotic lesions in the aortic sinus. A second group was sacrificed after two weeks of diet to analyse global gene expression. Transcriptomic analyses were performed on aorta and liver using a pangenomic oligonucleotide microarray (Operon). ImaGene<sup>®</sup> software was used for calculation of the expression ratios between anthocyanin-fed mice and control ones ( $|FC| > 1.2$ ). Total plasma antioxidant status and plasma and hepatic lipid profiles were also evaluated.

**Results:** Bilberry anthocyanin supplementation attenuated atherosclerotic lesion development by 15%. Anthocyanins significantly reduced plasmatic total cholesterol and hepatic triglyceride levels after 2 weeks of diet, but total plasma antioxidant capacity remained unchanged. Anthocyanin supplementation modified the expression of 1261 aortic genes and 2289 hepatic genes. In aorta, major processes affected included oxidative stress, inflammation, transendothelial migration and angiogenesis. In the liver, anthocyanins modulated the expression of genes involved in cholesterol metabolism and in inflammatory responses.

**Conclusion:** These effects of bilberry anthocyanins on gene expression may explain the protection against atherosclerosis. This study allows formulating new hypotheses on their mechanisms of action. Acknowledgments: This work was supported by Ferlux-Mediolanum SA, Cournon d'Auvergne.

## P27

### Impact of citrus flavanone metabolites on human endothelial cells activity

**A. Chanet<sup>1</sup>, J. Maier<sup>2</sup>, O. Dangles<sup>3</sup>, D. Milenkovic<sup>1</sup>, C. Manach<sup>1</sup>, A. Scalbert<sup>1</sup>, A. Mazur<sup>1</sup>, A. Bérard<sup>4</sup>, C. Bennetau<sup>5</sup>, C. Morand<sup>1</sup>.**

(1) INRA, Centre Clermont-Ferrand - Theix, UMR1019, Unité Nutrition Humaine, 63122 St Genès Champanelle,.

(2) Department of Preclinical Sciences, Università di Milano Medical School, 20157 Milan, Italy.

(3) Unité Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, UMR408- INRA/Université Avignon, 84914 Avignon,.

(4) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, EA 3670, Université Bordeaux 2, 33076 Bordeaux,.

(5) Unité Micronutriments Reproduction Santé, ENITAB-1, 33175 Gradignan, [achanet@clermont.inra.fr](mailto:achanet@clermont.inra.fr)

Epidemiological studies suggest an inverse association between flavonoid consumption and cardiovascular diseases risk (Arts & Hollman, 2005). Recently, dietary intakes of flavanones and of flavanone rich foods have been associated with reduced risk of coronary heart disease (Mink et al, 2007). Flavanones are polyphenolic compounds found specifically and abundantly in Citrus fruits, which have been shown to exhibit antihypertensive and hypolipemic actions potentially relevant to exert atheroprotective effects. The impact of these compounds on the vascular endothelial dysfunction is one of the most relevant mechanisms of action to be studied to improve our understanding of their role in the prevention of the first steps of atherosclerosis development.

Flavanones occur in Citrus as glycosidic forms of hesperetin (orange) and naringenin (grapefruit). These glycosides are hydrolysed in the digestive tract and the released aglycones are then absorbed and submitted to intestinal and hepatic conjugation processes (Manach et al, 2005). The resulting circulating metabolites are mainly glucurono- and sulfo- conjugates. The present study proposes to investigate the impact of physiological concentrations of these flavanone metabolites on the activity of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC).

The first step was to identify, by mass spectrometry (LC MS/MS) the flavanone metabolites occurring in human plasma after consumption of orange or grapefruit juice. Once identified, these compounds have been chemically synthesized. Experiments aiming at characterizing the impact of flavanones metabolites on HUVEC viability, proliferation, migration, production of vaso-active molecules and on monocyte adhesion are currently in progress. Expression of genes involved in endothelial function will also be analysed to decipher the molecular mechanisms underlying flavanone metabolites effects on HUVEC.

## P28

### Do muscle mitochondria fit the size?

**Emilie Chansaume, Valentin Barquissau, Jérôme Salles, Julien Aucouturier, Véronique Patrac, Christophe Giraudet, Céline Gryson, Pascale Duché, Yves Boirie, Jean-Michel Chardigny, Béatrice Morio**

*UMR 1019 Nutrition Humaine, 58 rue Montalembert, 63009 Clermont-Ferrand cedex 1*  
[beatrice.morio@clermont.inra.fr](mailto:beatrice.morio@clermont.inra.fr)

Abdominal obesity is tightly linked to muscle insulin resistance, but the mechanisms involved in this recurrent observation remain to be fully elucidated. Within skeletal muscle, an upstanding hypothesis has proposed that insulin resistance is induced by the accumulation of fatty acid metabolites (e.g. diacylglycerols and ceramides) known to alter the insulin signalling transduction pathway. This situation can be promoted when mitochondrial fat oxidation is decreased consecutive to a reduced mitochondrial biogenesis and oxidative and phosphorylative (OXPHOS) activity. Another hypothesis proposed that mitochondrial overproduction of superoxide rapidly causes insulin resistance. The theory linking insulin resistance to mitochondrial dysfunction has been supported by several cross-sectional studies in obese-insulin resistant and type 2 diabetic patients compared to healthy individuals, but it has been recently deeply questioned. Our research team confronted these controversies by examining whether abdominal obesity, a major risk factor for insulin resistance, could be associated to alterations in muscle mitochondrial content and OXPHOS activity. Sixty healthy sedentary men ( $41.4 \pm 4$  years) were recruited and divided into 4 groups according to waist circumference:  $\leq 87$ cm, 88-93cm, 94-101cm,  $\geq 102$ cm. Plasma metabolic check up was performed and insulin sensitivity index (ISI) was calculated from glucose and insulin responses to a 3h-oral glucose tolerance test. Muscle biopsies were obtained from 10 to 12 volunteers in each group for the assessment of mitochondrial content, OXPHOS activity and superoxide production. Results confirmed that abdominal obesity is negatively correlated with ISI, the group with the highest waist circumference being insulin resistant. Original findings evidenced that abdominal obesity is not associated with changes in muscle mitochondrial biogenesis, whereas mitochondrial intrinsic functioning (ADP-stimulated respiration, ATP and superoxide production) is significantly affected. Muscle mitochondrial respiration is significantly higher in overweight individuals compared to lean and obese subjects. By contrast, although muscle mitochondrial respiration is similar between lean and obese individuals, mitochondrial ATP and superoxide production rates are significantly reduced in obesity. These combined observations suggest that muscle mitochondrial OXPHOS activity and coupling adapt to body size, supporting on the one hand, an increased substrate oxidation and on the other, a reduced superoxide production. These adaptations may be considered as defence mechanisms against energy excess and metabolic disorders associated to obesity