



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

Pôle Physique des Cézeaux, 18 novembre 2010

Organisation : *Monique Alric, Denis Ardid, Didier Attaix, Yves-Jean Bignon, Noël Cano, Jean-Michel Chardigny, Véronique Coxam, Jean-Marc Lobaccaro, Line Wittrant*



# PROGRAMME

## 8:00 Accueil, installation des posters

## 9:00 Introduction (N Cano)

## 9:15-10 h Tissus osseux et musculaire (D Attaix)

- CO1 Un régime obésogène riche en oléate améliore la sensibilité à l'insuline et restaure la synthèse protéique musculaire postprandiale chez le rat âgé  
Nicolas Tardif, Jérôme Salles, Christelle Guillet, Carole Boue-Vaysse, Jean-François Landrier, Isabelle Mothe-Satney, Christophe Giraudet, Véronique Patrac, Paulette Rousset, Justine Bertrand-Michel, Carole Migné, Yves Boirie, Stéphane Walrand
- CO2 Rôles du récepteur aux acides gras (GPR40) dans la physiopathologie du remodelage osseux  
WAUQUIER Fabien, PHILIPPE Claire, POITOUT Vincent, ALQUIER Thierry, PILET Paul, GUICHEUX Jérôme, MERCIER Sylvie, LEOTOING Laurent, LEBECQUE Patrice, DAVICCO Marie-Jeanne, COXAM Véronique, WITTRANT Yohann
- CO3 Une supplémentation en leucine améliore le métabolisme protéique musculaire mais n'améliore que faiblement la récupération de masse musculaire à la suite d'une immobilisation par plâtrage chez le rat âgé.  
H. Magne, I. Savary-Auzeloux, E. Vazeille, D. Attaix, L. Combaret, D. Dardevet

## 10:00- 10:30 pause

## 10:30-11:15 Pathologie dégénérative cardiovasculaire (C Morand)

- CO4 *Akr1b7*, un nouveau gène anti-adipogénique  
VOLAT F., POINTUD J-C., MORIO B, SION B, GUICAHARDANT M, LEFRANCOIS-MARTINEZ A-M, MARTINEZ A.
- CO5 Caractérisation des effets anti-athérogènes de la naringine chez un modèle animal d'hypercholestérolémie induite par l'alimentation  
Audrey Chanet, Dragan Milenkovic, Christiane Deval, Mylène Potier, Joël Constans, Andrzej Mazur, Catherine Bennetau-Pelissero, Annie M. Bérard, Christine Morand
- CO6 Impact de la qualité des acides gras de la matière grasse laitière sur les facteurs de risque de maladie cardiovasculaire chez l'Homme. Un regard particulier sur les acides gras *trans* des ruminants  
Corinne Malpuech-Brugère, Julien Mouriot, Carole Boue-Vaysse, Nicole Combe, Jean-Louis Peyraud, Pascale LeRuyet, Guillaume Chesneau, Béatrice Morio, Jean-Michel Chardigny

## 11:15 -12:05 Conférence

Lépidémie postprandiale et risque coronaire, apport des études de génétique des populations.  
Jean Dalongeville

## 12:15 – 13 :30 Repas

### 13:30-14:15 Tractus gastro-intestinal (M Alric)

- CO7 Evaluation *in vitro* du comportement des *Escherichia coli* entérohémorragiques O157:H7 dans l'environnement digestif humain  
Lucie Etienne-Mesmin, Stéphanie Blanquet-Diot, Maud Privat, Benoit Chassaing, Jérémy Denizot, Sylvain Denis, Monique Alric, Arlette Darfeuille-Michaud et Valérie Livrelli
- CO8 Abnormal fermentation within the intestinal microbiota of Irritable Bowel Syndrome patients.  
L. Crouzet, C. Del'homme, E. Delmas, C. Chassard, A. Bernalier-Donadille.
- CO9 Développement d'un modèle post-inflammatoire du syndrome de l'Intestin Irritable  
Agathe Gelot, Mathieu Meleine, Amandine Lashermes, Nicolas Barnich, Emilie Muller, Denis Ardid

### 14:15 - 15:45 Posters

### 15:45 - 16:00 Pause

### 16:00-16:45 Cancers hormono-dépendants (MP Vasson)

- CO10 La génistéine et la daidzéine inhibent la méthylation de l'ADN et induisent l'expression des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les cellules MCF-7, MDA-MB-231 et MCF-10a.  
Rémy Bosviel, Elise Dumollard, Nadège Rabiau, Mawussi Adjakly, Pierre Déchelotte, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon
- CO11 leptine et angiogenèse au cours du cancer mammaire : étude *in vitro*.  
V. Dubois, L. Delort, H. Billard, M.-P. Vasson, F. Caldefie-Chézet
- CO12 Intracellular cholesterol overload induced by diet upregulates *ezh2* expression and initiates prostate cancer development  
AJC Pommier, G Alves, J Dufour, E Viennois, C Damon, M Manin, P Arnaud, D Volle, F Caira, JMA Lobaccaro & S Baron.

# POSTERS

## Tissus osseux et musculaire (Y Boirie, D Dardevet)

- P1 Régulation de la différenciation des cellules osseuses et de leur réponse à l'inflammation par la fisétine, un polyphénol alimentaire.  
LEOTOING Laurent, WAUQUIER Fabien, PHILIPPE Claire, MERCIER Sylvie, LEBECQUE Patrice, DAVICCO Marie-Jeanne, WITTRANT Yohann, COXAM Véronique
- P2 Rôles du récepteur aux acides gras (GPR40) dans la modulation du potentiel redox de l'ostéoclaste  
PHILIPPE Claire, WAUQUIER Fabien, MERCIER Sylvie, LEOTOING Laurent, LEBECQUE Patrice, DAVICCO Marie-Jeanne, COXAM Véronique, WITTRANT Yohann
- P3 Nutrition lipidique et stress métabolique lié à l'âge : Impact sur la physiologie du tissu osseux  
WAUQUIER Fabien, BARQUISSAU Valentin, MIOT-NOIRAUULT Elisabeth, DAVICCO Marie-Jeanne, LEBECQUE Patrice, MERCIER Sylvie, PATRAC Véronique, ROUSSET Paulette, JOUVE Christelle, RIGAUDIERE Jean-Paul, RBAH Latifa, CHARDIGNY Jean-Michel, MORIO Béatrice, WITTRANT Yohann, COXAM Véronique
- P4 Rôle des altérations de la protéolyse ubiquitine-protéasome dépendante et de l'apoptose mitochondriale dans les processus de récupération musculaire  
L Slimani, E Vazeille, H Magne, A Claustre, D Taillandier, D Béchet, C Polge, D Dardevet, D Attaix, L Combaret
- P5 Impact de l'obésité induite par un régime hyperlipidique sur le métabolisme protéique musculaire.  
Aurélié Masgrau, Maude Gerbaix, Lore Metz, Hitoshi Murakami, Stéphane Walrand, Christophe Giraudet, Paulette Rousset, Carole Migné, Daniel Courteix, Yves Boirie, Christelle Guillet
- P6 Effet de l'exercice et de la restriction lipidique sur la composition corporelle et le métabolisme protéique de rats rendus obèses  
Aurélié Masgrau, Maude Gerbaix, Lore Metz, Hitoshi Murakami, Stéphane Walrand, Christophe Giraudet, Paulette Rousset, Carole Migné, Daniel Courteix, Yves Boirie, Christelle Guillet.
- P7 L'administration unique de protéines alimentaires glyquées n'affecte pas l'activation post-prandiale des voies de signalisation de l'insuline dans le muscle squelettique.  
H. Murakami, G. Henry, M.-J. Galmier, J. Leonil, J.-M. Chezal, C. Giraudet, A. Masgrau, S. Walrand, Y. Boirie, C. Guillet

## Pathologie dégénérative cardiovasculaire (P Brachet, C Gladine)

- P8 Identification des mécanismes d'action cellulaires et moléculaires de flavanols et de leurs métabolites au niveau endothélial  
S CLAUDE, D MILENKOVIC, N GERARD, C DEVAL, A MAZUR, C MORAND
- P9 Modifications du protéome myocardique de rats en réponse à une déficience gestationnelle en précurseurs de méthyles  
Martinez E, Gérard N, Moreno-Garcia MA, Guéant-Rodriguez RM, Alberto JM, Mazur A, Guéant JL, Comte B, Brachet P

- P10 Amidon résistant et résistance à l'insuline dans un modèle de régime riche en lipides: étude des mécanismes d'action par une approche intégrative  
Diaz-Rubio, M.E, Dardevet D, Martin J.F, Pujos-Guillot E, Sebedio J.L, Mazur A, Scalbert A., Comte, B.
- P11 Modulations du transcriptome hépatique par l'acide docosahexaénoïque au cours du développement de l'athérosclérose  
C. Gladine, N. Roy, B. Sion, B.Laillet, JP. Rigaudière, B. Morio, JM. Chardigny, B. Comte
- P12 Identification des effets antiathérogènes de la curcumine et de ses mécanismes d'action moléculaire chez la souris déficiente en apolipoprotéine E  
Dilek COBAN, Dragan MILENKOVIC, Audrey CHANET, Antonino NICOLETTI, Linde SABBE, Guy HAEGEMAN, Wim VANDEN BERGHE, André MAZUR et Christine MORAND
- P13 Exploration of the molecular mechanisms involved in the anti-atherogenic effects of polyphenols in experimental mouse models of atherosclerosis by a transcriptomic approach  
D. Milenkovic, C. Deval, D. Coban, A. Chanet, A. Mauray, A. Scalbert A. Mazur, AM Bérard, and C. Morand
- P14 Quel rôle pour l'héspéridine, polyphénol majoritaire de l'orange, dans les effets du jus d'orange sur la protection vasculaire chez l'homme sain  
Christine Morand, Claude Dubray, Dragan Milenkovic, Delphine Lioger, Jean François Martin, Augustin Scalbert, André Mazur

### **Tractus gastro-intestinal (A Bernalier, S Blanquet-Diot)**

- P15 Syndrome de l'Intestin Irritable et Ballonnement  
Emilie Muller, Elisabeth Noireau, Alain Eschaliér, Jean-Michel Chezal, Agathe Gelot Denis Ardid
- P16 Autophagie déficiente et piste infectieuse dans la Maladie de Crohn.  
Pierre Lapaquette, Marie-Agnès Bringer et Arlette Darfeuille-Michaud
- P17 Analyse transcriptomique des *Escherichia coli* entérohémorragiques dans du contenu digestif bovin  
Yolande Bertin, Jean-Pierre Girardeau, Josée Harel, Christine Martin
- P18 Testing of abiotic factors in the "Environmental Regulatory System for the Intestinal Microbiota" simulating the proximal human colon (P-ERSIM)  
David FERIA-GERVASIO, Monique ALRIC and Jean-François BRUGERE.
- P19 3S-ERSIM: a 3-stage continuous model for the assessment of the microbial metabolic behavior in the 3 functional parts of the human colon  
David FERIA-GERVASIO, Estelle PUJOS, Jean-François MARTIN, Jean-Louis SEBEDIO, Monique ALRIC and Jean-François BRUGERE

### **Cancers hormono-dépendants (C Beaudoin, Y-J Bignon)**

- P20 Etude de l'expression du gène *MeCP2* sur des lignées de cellules humaines mammaires par Western blotting après traitement par les phyto-œstrogènes du soja  
Stéphane Garcia, Nicolas Sonnier, Rémy Bosviel, Mawussi Adjakly, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon

- P21 Prévention des Cancers de la Prostate avec Oncodiag: Sa Démarche Marketing en Emergence  
Benoit Mélan, Nadège Rabiau, Mawussi Adjakly, Laurent Guy, Jean-Paul Boiteux, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon
- P22 Les enzymes de restriction sensibles à la méthylation de l'ADN démontrent l'action déméthylante des phyto-œstrogènes du soja dans les lignées continues humaines de cancer de la prostate PC-3 et DU-145  
Mawussi Adjakly, Rémy Bosviel, Nadège Rabiau, Jean-Paul Boiteux, Yves-Jean Bignon, Laurent Guy, Dominique Bernard-Gallon.
- P23 Evaluation du rôle du microenvironnement adipocytaire dans la cancérogenèse mammaire *via* un modèle de culture tridimensionnelle et de co-cultures  
Delort L, Lequeux C, Dubois V, Billard H, Damour O, Vasson MP, Caldefie-Chézet F
- P24 Androgens and Liver-X-receptors interact to maintain prostate integrity  
Viennois E, Pommier A., Alves G, Dufour J, Caira F, Baron S, Morel L, Lobaccaro JM. A
- P25 Impact d'un régime hyper-calorique sur le développement tumoral mammaire : approche expérimentale chez la souris « nude ».  
Lamas B, Rougé S, Rossary A, Garrait G, Delort L, Billard H, Goncalves-Mendes N, Caldefie-Chézet F, Vasson M-P, Farges M-C

# **COMMUNICATIONS ORALES**

## CO1

### Un régime obésogène riche en oléate améliore la sensibilité à l'insuline et restaure la synthèse protéique musculaire postprandiale chez le rat âgé

**Nicolas Tardif, Jérôme Salles, Christelle Guillet, Carole Boue-Vaysse, Jean-François Landrier, Isabelle Mothe-Satney, Christophe Giraudet, Véronique Patrac, Paulette Rousset, Justine Bertrand-Michel, Carole Migné, Yves Boirie, Stéphane Walrand**

Nicolas Tardif, 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)

A l'inverse des AG insaturés, la consommation de certains AG saturés comme le palmitate provoque une réaction pro-inflammatoire. Cette inflammation métabolique pourrait être impliquée dans la diminution de la sensibilité à l'insuline ( $I_{0S}$ ) mais également dans l'altération de la stimulation postprandiale de la synthèse protéique musculaire observée au cours du vieillissement. L'objectif de cette étude était de mesurer, chez le rat âgé, les conséquences de 2 régimes hyper-lipidiques/hyper-caloriques (HL), de composition différente en AG, sur la sensibilité à l'insuline et la synthèse protéique musculaire (FSR) en réponse à une stimulation anabolique (insuline et acides aminés). Pour cela, 24 rats âgés de 21 mois ont été repartis en 3 groupes et ont reçu durant 16 semaines un régime normo-lipidique (NL) ou un régime HL enrichi soit en oléate (HO) soit en palmitate (HP). L'expression du TNF- $\alpha$  dans le tissu adipeux sous-cutané était diminuée de 66% chez les HO comparativement aux groupes NL et HP. La concentration plasmatique d'Il-1 $\beta$  pour le groupe HO était inférieure à celle des groupes NL et HP, respectivement 69, 190 et 155 pg/ml ( $p < 0,05$ ). L' $I_{0S}$  corps entier était augmentée significativement dans le groupe HO comparativement aux groupes NL et HP. Au niveau musculaire, la phosphorylation d'Akt en réponse à l'insuline était augmentée de 57% dans le groupe HO comparativement aux groupes NL et HP ( $p < 0,05$ ). De même, en réponse à une stimulation par un mélange insuline/acides aminés, la phosphorylation de mTOR ainsi que le FSR étaient augmentés uniquement au sein du groupe HO ( $p < 0,05$ ). **Conclusion** : Un régime HL enrichi en oléate favorise une diminution de l'inflammation chez le rat âgé et permet d'augmenter la sensibilité à l'insuline au niveau corps entier et musculaire. Ce régime entraîne une restauration de la vitesse de synthèse protéique postprandiale chez le rat âgé.



## CO2

### Rôles du Récepteur aux Acides Gras (GPR40) Dans la Physiopathologie du Remodelage Osseux

**WAUQUIER Fabien**<sup>1,2,3,4</sup>, **PHILIPPE Claire**<sup>1,2,3,4</sup>, **POITOUT Vincent**<sup>5</sup>, **ALQUIER Thierry**<sup>5</sup>, **PILET Paul**<sup>6</sup>, **GUICHEUX Jérôme**<sup>6</sup>, **MERCIER Sylvie**<sup>1,2,3,4</sup>, **LEOTOING Laurent**<sup>1,2,3,4</sup>, **LEBECQUE Patrice**<sup>1,2,3,4</sup>, **DAVICCO Marie-Jeanne**<sup>1,2,3,4</sup>, **COXAM Véronique**<sup>1,2,3,4</sup>, **WITTRANT Yohann**<sup>1,2,3,4</sup>

1 Inra, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

2 Clermont Université, UFR Médecine, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63000, Clermont-Ferrand, France

3CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

4 Equipe Alimentation, Squelette et Métabolismes, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

5 Montreal Diabetes Research Center, Montréal, QC, Canada

6 LIOAD / UMR INSERM 791, Nantes, France

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

Dans le contexte actuel d'allongement de l'espérance de vie, la prévalence des maladies liées à l'âge telle que l'ostéoporose est de plus en plus importante. Le coût de la prise en charge de ces pathologies constitue un problème de santé public majeur et la mise en place de stratégies de prévention nutritionnelle adaptées apparaît comme une excellente solution alternative aux traitements habituels.

Pourtant, l'étude des activités biologiques des nutriments reste marginale pour certains tissus et certaines catégories de molécules, c'est notamment le cas du tissu osseux et des lipides, en particulier les acides gras. 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 coupled Protein Receptor 40) a été mis en évidence pour ses interactions avec les acides gras libres à longues chaînes et son expression a été démontrée 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 et notamment la résorption ostéoclastique.

Dans cette étude, l'expression du GPR40 par les précurseurs ostéoclastiques murins a été confirmée par western blot et real-time RT-PCR. L'analyse en  $\mu$ CT ( $\mu$  Computed Tomography) des fémurs de souris invalidées pour le GPR40 révèle, pour la première fois, un phénotype ostéoporotique avec une diminution de l'épaisseur des travées osseuses et du rapport Bone Volume / Tissue Volume en comparaison des souris wild-type control.

*In vitro*, l'agoniste spécifique du GPR40, le GW9508 s'est révélé avoir une action délétère sur la prolifération et la viabilité de précurseurs ostéoclastiques mimant ainsi l'effet de ses ligands naturels : les acides gras à longues chaînes. Cette action du GW9508 implique la mise en œuvre de mécanismes apoptotiques comme en témoigne l'augmentation de l'activité de la caspase 3. A l'inverse le GW9508 n'a pas d'effet sur la viabilité des cellules de la lignée ostéoblastique MC3T3 E1, excluant un effet toxique non spécifique.

Par ailleurs, la différenciation de précurseurs macrophagiques en ostéoclastes matures, induite expérimentalement par la cytokine RANKL (Receptor Activator of NF $\kappa$ B Ligand), est inhibée de manière dose dépendante par la présence de GW9508. A l'inverse, l'étude de l'impact de cet agoniste sur la différenciation ostéoblastique révèle une stimulation des marqueurs spécifiques.

Ces données mettent en évidence l'importance du GPR40 dans la physio-pathologie du remodelage osseux et en font une cible potentielle pour le développement de nouvelles stratégies nutritionnelles ou thérapeutiques dans le traitement de l'ostéoporose.

## CO3

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

**H. Magne, I. Savary-Auzeloux, E. Vazeille, D. Attaix, L. Combaret, D. Dardevet**

INRA, Centre de Clermont/Theix Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019, Equipe Nutrition et Signaux protéiques  
63122 Saint Genès Champanelle

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

*Introduction-But de l'étude* : La sarcopénie peut être en partie expliquée par un défaut de récupération de masse musculaire suite à des épisodes cataboliques. L'altération des processus contrôlant la masse musculaire pourrait expliquer ce défaut de récupération. Cette étude visait chez le rat âgé à : 1/ caractériser ces processus après un épisode catabolique (immobilisation prolongée), 2/ tester l'effet d'une supplémentation en leucine sur la récupération de masse musculaire.

*Matériels-Méthodes* : 200 rats âgés ont été immobilisés 8 j (plâtrage unilatéral de la patte arrière), puis placés en récupération pendant 40 j (après déplâtrage). La moitié des animaux a reçu une supplémentation en leucine pendant la récupération. L'atrophie musculaire, le statut redox et inflammatoire intramusculaires, la protéosynthèse, la protéolyse, l'apoptose, et la régénération ont été mesurés.

*Résultats* : Après plâtrage, les muscles immobilisés se sont atrophiés de 21% et présentaient : 1/ une activation de la protéolyse et de l'apoptose, du statut redox et de l'inflammation, et 2/ une diminution de la régénération cellulaire et de la synthèse protéique. Malgré une normalisation rapide de ces paramètres dès 10 j, la récupération musculaire a été absente chez les rats non supplémentés. Chez les rats supplémentés en leucine, le métabolisme protéique a été amélioré mais seul un très faible gain de masse musculaire a été observé.

*Conclusion*: Avec l'âge, l'immobilisation induit une atrophie musculaire non récupérée, ceci pouvant aggraver la sarcopénie. Cette absence de récupération n'est pas due à un défaut de normalisation de l'apoptose ou de la protéolyse, mais pourrait s'expliquer par une altération de la synthèse protéique. La supplémentation en leucine, malgré ses effets positifs sur la balance protéique musculaire, n'améliore que très faiblement le gain de masse des muscles atrophiés.

## CO4

### ***Akr1b7*, un nouveau gène anti-adipogénique**

**VOLAT F. ; POINTUD J-C. ; MORIO B. ; SION B. ; GUICAHARDANT M. ;  
LEFRANCOIS-MARTINEZ A-M. ; MARTINEZ A.**

UMR GReD CNRS/INSERM 6247/U931  
24 av des Landais  
63177 Aubière Cedex

[Fanny.Volat@univ-bpclermont.fr](mailto:Fanny.Volat@univ-bpclermont.fr)

Le gène *Akr1b7* code une aldo-céto réductase murine exprimée dans les préadipocytes et dont l'effet anti-adipogénique a été mis en évidence dans des cellules 3T3-L1. Cet effet pourrait être relié à son activité prostaglandine F<sub>2α</sub> synthase récemment caractérisée *in vitro*. Notre objectif est de démontrer *in vivo* l'importance de *Akr1b7* dans l'homéostasie du tissu adipeux par le développement et la caractérisation d'un modèle de souris knockout *akr1b7*<sup>-/-</sup>.

En régime standard, les souris *akr1b7*<sup>-/-</sup> présentent un excès de tissu adipeux blanc et, contrairement aux souris sauvages, elles développent une obésité sous régime hyperlipidique. De plus, indépendamment du régime, les souris *akr1b7*<sup>-/-</sup> présentent des complications métaboliques telles qu'une stéatose hépatique et une résistance à l'insuline.

Le dosage des prostaglandines dans le tissu adipeux de ces souris démontre une corrélation entre la perte d'*Akr1b7* et la chute des taux de la prostaglandine anti-adipogénique F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), alors que la concentration des autres prostaglandines, PGE<sub>2</sub> et PGD<sub>2</sub>, reste inchangée. Chez les souris *akr1b7*<sup>-/-</sup>, une injection chronique de cloprostenol, un agoniste de PGF<sub>2α</sub>, normalise l'expansion de leur tissu adipeux. De plus, le cloprostenol inhibe l'expression de gènes lipogéniques à la fois dans les adipocytes 3T3-L1 et dans le tissu adipeux des souris *akr1b7*<sup>-/-</sup>.

Nos résultats démontrent que, *in vivo*, *Akr1b7* régule le développement excessif du tissu adipeux par l'inhibition de l'adipogenèse et de la lipogenèse, en participant au contrôle des taux d'un facteur paracrine, PGF<sub>2α</sub>.

## CO5

### **Caractérisation des effets anti-athérogènes de la naringine chez un modèle animal d'hypercholestérolémie induite par l'alimentation**

**Audrey Chanet<sup>1</sup>, Dragan Milenkovic<sup>1</sup>, Christiane Deval<sup>1</sup>, Mylène Potier<sup>2</sup>, Joël Constans<sup>3</sup>, Andrzej Mazur<sup>1</sup>, Catherine Bennetau-Pelissero<sup>2</sup>, Annie M. Bérard<sup>3</sup>, Christine Morand<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand ; Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand

<sup>2</sup> Université de Bordeaux - ENITA Bordeaux 1, cours du Général de Gaulle 33 175 Gradignan cedex, France

<sup>3</sup> ERU « Facteurs de risque vasculaires », CHU-Université de Bordeaux, case 49, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France

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

Chez l'homme, la consommation de flavanones, flavonoïdes spécifiques des agrumes, a été associée à une diminution du risque de maladies coronariennes. Le but de cette étude a été d'évaluer les propriétés anti-athérogéniques de la naringine, le principal flavanone du pamplemousse, chez des souris C57Bl/6J sous régime athérogène, et d'identifier ses cibles moléculaires au niveau aortique. Les animaux ont été nourris avec un régime enrichi en graisses (15%) et en cholestérol (1.25%) supplémenté ou non avec 0.02% de naringine. Après 18 semaines, la lipémie, des marqueurs du statut antioxydant, de l'inflammation et de la fonction endothéliale ont été mesurés au niveau plasmatique ou urinaire. La quantification des dépôts lipidiques dans la crosse aortique a été effectuée par histomorphométrie et une analyse transcriptomique a été réalisée au niveau de l'aorte. La supplémentation en naringine a conduit à une diminution significative de la taille des lésions athéromateuses (-41%). Cet effet était associé à une réduction des concentrations de non-HDL-Chol (-20%), sE-sélectine (-39%) et sICAM (-22%). En revanche, aucun changement du statut inflammatoire ou anti-oxydant n'a été observé. Le classement des 1417 gènes différentiellement exprimés dans l'aorte montre leur implication dans des processus tels que : l'adhésion, la communication cellulaire ou encore l'organisation du cytosquelette, autant de voies potentiellement associées à la migration trans-endothéliale des leucocytes. Cette hypothèse a été renforcée par des expérimentations *in vitro*, montrant la capacité de la naringénine et de ses métabolites à réduire l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales. Cette étude met en évidence les effets anti-athérogènes d'une dose nutritionnelle de naringine et montre que ces effets sont associés à des actions multi-cibles au niveau cellulaire et moléculaire.

## CO6

### **Impact de la qualité des acides gras de la matière grasse laitière sur les facteurs de risque de maladie cardiovasculaire chez l'Homme. Un regard particulier sur les acides gras *trans* des ruminants**

**Corinne Malpuech-Brugère<sup>a,b,g</sup>, Julien Mourirot<sup>a,b,c,g</sup>, Carole Boue-Vaysse<sup>d</sup>,  
Nicole Combe<sup>d</sup>, Jean-Louis Peyraud<sup>d</sup>, Pascale LeRuyet<sup>f</sup>, Guillaume Chesneau<sup>c</sup>,  
Béatrice Morio<sup>a,b,g</sup>, Jean-Michel Chardigny<sup>a,b,g</sup>.**

<sup>a</sup>INRA, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122, Saint Genès Champanelle, France; <sup>b</sup>Clermont Université, UFR Médecine, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63000, Clermont-Ferrand, France; <sup>c</sup>S.A.S Valorex, La messayais, F-35210, Combourtille, France; <sup>d</sup>ITERG, Département de Nutrition, F-33000, Bordeaux, France; <sup>e</sup>INRA, UMR 1080 Production du lait, F-35590, Saint Gilles, France; <sup>f</sup>Lactalis, Recherche et Développement, F-53000, Laval, France; <sup>g</sup>CRNH Auvergne, F-63000, Clermont-Ferrand, France

[Corinne.MALPUECH-BRUGERE@u-clermont1.fr](mailto:Corinne.MALPUECH-BRUGERE@u-clermont1.fr)

Parmi les acides gras présents dans l'alimentation humaine, les acides gras *trans* (AGT) sont connus comme entraînant des effets délétères sur les facteurs de risque de maladie cardiovasculaire (MCV). Les AGT C18:1 *trans*-9 et *trans*-10 issus de l'hydrogénation partielle des huiles sont les principaux isomères concernés. Cependant, les AGT sont présents aussi dans les produits issus des ruminants. Dans ce cas, les AGT ont un profil isomérique différent, l'acide vaccénique (AV, *trans*-11-18:1) étant l'isomère majeur. Les effets des AGT d'origine animale ne semblent pas délétères, cependant leurs effets sur les facteurs de risque de MCV<sup>1</sup> seraient dépendant de la quantité ingérée. Il est possible de modifier la teneur en AGT dans la matière grasse laitière modifiant l'alimentation de la vache. Des doses croissantes de graines de lin diminuent les acides gras saturés (AGS) au profit des acides gras insaturés, dont les AGT. L'objectif a été d'évaluer l'impact de la consommation de 3 matières grasses laitières à teneur croissante en AGT sur des facteurs de MCV chez l'Homme. 111 hommes et femmes sains ont consommé 3 produits expérimentaux (beurre, crème dessert, gâteaux) fabriqués avec l'une de ces 3 matières grasses laitières. Ainsi, cette consommation couvrait les 2/3 des besoins quotidiens en lipides (soit 55 g). Pendant la 1<sup>ère</sup> semaine, ils ont consommé quotidiennement des produits fabriqués à partir d'une matière grasse (MG) de référence (72% AGS/2,8% AGT). Puis, durant les 3 semaines suivantes, la MG de référence, la MG intermédiaire (63% AGS/4% AGT), ou la MG contenant 57% AGS/12%. Par rapport à la référence, le régime intermédiaire a significativement diminué le LDL et le cholestérol total, et les rapports des ratios (LDL/HDL) et (total cholestérol/HDL). Ainsi, une augmentation limitée d'AGT (4%) dans les produits laitiers (qui correspond à la qualité d'un lait de printemps), est associée à une amélioration du risque cardiovasculaire.

<sup>1</sup> Motard-Bellanger AJCN, 2008

## CO7

### Evaluation *in vitro* du comportement des *Escherichia coli* entérohémorragiques O157:H7 dans l'environnement digestif humain

**Lucie Etienne-Mesmin<sup>1,2</sup>, Stéphanie Blanquet-Diot<sup>1</sup>, Maud Privat<sup>2</sup>, Benoit Chassaing<sup>2</sup>, Jérémy Denizot<sup>2</sup>, Sylvain Denis<sup>1</sup>, Monique Alric<sup>1</sup>, Arlette Darfeuille-Michaud<sup>2</sup> et Valérie Livrelli<sup>2</sup>**

1. ERT 18, Equipe de Recherche Technologique « Conception Ingénierie et Développement de l'Aliment et du Médicament »
2. JE 2526, Evolution des bactéries pathogènes et susceptibilité génétique de l'hôte  
CBRV - 28, place Henri Dunant - 63001 Clermont-Ferrand

[lucie.etienne-mesmin@u-clermont1.fr](mailto:lucie.etienne-mesmin@u-clermont1.fr)

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) de sérotype O157:H7, sont responsables de toxi-infections alimentaires potentiellement mortelles. La survie, la translocation des EHEC et la production de Shiga-toxines dans le tube digestif humain jouent un rôle clé dans la pathogénicité mais sont mal connues par manque de modèles d'étude adaptés. Par ailleurs, l'absence de traitement spécifique a conduit à s'intéresser à des moyens préventifs alternatifs, comme l'utilisation de probiotiques, dont les levures du genre *Saccharomyces*. Deux approches *in vitro* complémentaires ont été utilisées afin de mieux appréhender le comportement des EHEC dans l'environnement digestif humain.

D'une part, des digestions ont été réalisées dans le système TIM (TNO gastro-Intestinal Tract Model) afin d'évaluer la survie d'*E. coli* O157:H7, en présence ou non de levures *S. cerevisiae* CNCM I-3856. Une forte mortalité bactérienne a été observée dans l'estomac et le duodénum du TIM, montrant la sensibilité des bactéries à l'action conjuguée de l'acidité gastrique et des sécrétions digestives. En revanche, une multiplication bactérienne a été mise en évidence dans les parties distales de l'intestin grêle. La co-administration des levures permet de diminuer significativement cette reprise de la croissance ( $p < 0,01$ ). L'éthanol a été identifié comme l'un des composés antimicrobiens potentiels produits par les levures dans l'environnement digestif. D'autre part, une translocation d'*E. coli* O157:H7 a été mise en évidence à l'aide d'un modèle *in vitro* de cellules M et confirmée *ex vivo* en chambres de Ussing à travers un épithélium iléal murin. Ces données suggèrent que la translocation des EHEC est une étape clé dans la physiopathologie de ces infections.

## CO8

### **Abnormal fermentation within the intestinal microbiota of Irritable Bowel Syndrome patients.**

**L. Crouzet, C. Del'homme, E. Delmas, C. Chassard, A. Bernalier-Donadille**

Unité de Microbiologie, UR 454, Inra, Centre de Recherches de Clermont-Ferrand / Theix, 63 122 Saint Genès Champanelle.

[annick.bernalier@clermont.inra.fr](mailto:annick.bernalier@clermont.inra.fr)

**Background.** Irritable Bowel Syndrome (IBS) is a painful chronic abdominal symptom associated with altered sensory perception and abnormalities of gut function. Intestinal microbiota is thought to play a critical role in IBS genesis. We recently, evidenced that a major functional dysbiosis affecting different microbial metabolisms (H<sub>2</sub>, lactate, butyrate) characterizes the gut microbiota of IBS patients. We thus hypothesized that the intestinal microbiota of IBS patients may lead to abnormal fermentation of carbohydrates. An *in vivo* model (IBS microbiota associated rats) was used for measuring the impact of this IBS microbiota on fermentative process in the colon. **Methods.** IBS-constipated patients were selected according to the Rome III criteria and included in this study. Germ-free (GF) Fischer 344/CRL rats (n = 10 in each group) were inoculated with faeces from healthy (control) or IBS patients and maintained under sterile conditions; animals were fed ad libitum with humanized and sterile food. Microbial colonization of the gut was examined through enumerations of the main functional groups of bacteria. After establishment of the intestinal microbiota, the amount of gas excreted by the animal was measured using respiratory chamber. The production of short chain fatty acids (SCFA) was measured in caecal content by <sup>1</sup>H NMR. Sulphides concentration was also determined using colorimetric test. **Results and conclusion.** The IBS-microbiota associated rats excreted 2 to 4 more hydrogen than healthy ones. The SCFA pattern was also altered in IBS-HM-associated animals as well as sulphide production that was 3 to 5 fold increased compare to healthy-HM rats. The functional dysbiosis of the IBS gut microbiota is responsible for abnormal fermentation of carbohydrates that could affect host health. New strategy to re-equilibre the gut ecosystem through modulation of microbial metabolism is under investigation.



## CO9

### Développement d'un modèle post-inflammatoire du syndrome de l'Intestin Irritable

**Agathe Gelot, Mathieu Meleine, Amandine Lashermes, Nicolas Barnich, Emilie Muller, Denis Ardid**

UMR 766 INSERM/UdA – Pharmacologie Fondamentale et Clinique de la Douleur  
Faculté de Médecine – Bat. Extension 3e  
28 Place Henri Dunant – 63000 Clermont-Ferrand

[agathe.gelot@u-clermont1.fr](mailto:agathe.gelot@u-clermont1.fr)

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) est un trouble fonctionnel intestinal qui implique des douleurs abdominales mises en évidence par une hypersensibilité colique, une perturbation de la motricité intestinale et des troubles de la défécation. Le SII peut notamment se développer au cours de la phase de rémission de certaines maladies inflammatoires du côlon telle que la maladie de Cröhn, ce qui présuppose un continuum entre ces deux pathologies. Par ailleurs, environ 30% des cas de SII sont mis en évidence à la suite d'un épisode infectieux impliquant alors directement la sphère colique dans son étiologie. L'origine multifactorielle de ce syndrome rend difficile le développement de traitements curatifs, c'est pourquoi il est important de mettre au point de nouveaux modèles animaux permettant d'étudier l'hypersensibilité colique afin de proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques. C'est dans ce contexte que nous avons développé un nouveau modèle d'hypersensibilité colique post-infectieuse/post-inflammatoire, induite par l'administration combinée dans l'eau de boisson et pendant 14 jours d'une souche adhérente et invasive d'*Escherichia coli* LF82 et de dextran sulfate sodium. Pour valider ce modèle, nous avons mesuré les paramètres inflammatoires en parallèle de l'hypersensibilité colique. En plus du suivi macroscopique de l'animal, l'inflammation a été déterminée par des mesures de l'activité myeloperoxydase, des dosages de cytokines pro-inflammatoires ainsi qu'une étude histologique. Enfin, nous avons utilisé le test de Von Frey pour mesurer l'allodynie abdominale. Nous avons observé une augmentation de l'inflammation pendant les 14 premiers jours d'expérimentation, puis une diminution de tous les paramètres inflammatoires. L'hypersensibilité colique détectée dès la fin du traitement (phase inflammatoire) est restée stable jusqu'à 3 semaines après la fin du traitement (phase post-inflammatoire). Nos résultats suggèrent la pertinence de ce modèle inflammatoire et post-inflammatoire pour l'étude de la sensibilité colique.



## CO10

### **La génistéine et la daidzéine inhibent la méthylation de l'ADN et induisent l'expression des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les cellules MCF-7, MDA-MB-231 et MCF-10a.**

**Rémy Bosviel, Elise Dumollard, Nadège Rabiau, Mawussi Adjakly, Pierre Déchelotte, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon**

Centre Jean Perrin – Département d'Oncogénétique – EA 4233 « Nutrition, Cancérogénèse et Thérapie anti-tumorale » – Centre Biomédical de Recherche et de Valorisation 1er étage – 28 place Henri Dunant, B.P.38 – 63001 Clermont-Ferrand, France.

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

Le cancer du sein est le cancer le plus diagnostiqué chez la femme à travers le monde et constitue la première cause de mortalité par cancer en France. Dans les pays asiatiques où l'alimentation à base de soja est importante, le risque de développer un cancer du sein reste plus faible. Les phyto-œstrogènes du soja pourraient exercer un effet protecteur vis-à-vis du cancer du sein. D'autre part, dans de nombreux cas de cancer du sein, des études ont montré des variations dans l'expression de gènes, résultant de modifications épigénétiques. Une hyperméthylation des oncosuppresseurs *BRCA1* et *BRCA2* s'est révélée être une marque épigénétique qui expliquerait certains cancers. Trois lignées ont été utilisées : MDA-MB-231, MCF-7 et MCF 10a. Elles ont été traitées par la génistéine, la daidzéine et la 5-Azacytidine, un agent déméthylant, par comparaison avec des cellules non traitées. Dans un premier temps, une technique d'immunoprécipitation de l'ADN méthylé (MeDIP) couplée à la PCR a permis d'étudier les éventuelles modifications dues aux phyto-œstrogènes du soja sur la méthylation au niveau des promoteurs des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Nous avons retrouvé, dans les trois lignées, un effet déméthylant des phyto-œstrogènes du soja par comparaison avec la 5-azacytidine. De plus, nous avons vérifié les variations de l'expression des protéines BRCA1 et BRCA2 dans ces cellules par immunohistochimie, par western blotting, ainsi que par marquage nucléaire étudié par microscopie confocale suivie d'une quantification. Les phyto-œstrogènes et la 5-Azacytidine par leur action déméthylante, entraînent une surexpression de ces protéines. L'étude de deux marqueurs de la méthylation de l'ADN (5-méthylcytosine et MeCP2) par imagerie cellulaire a également montré une diminution de méthylation au niveau l'ADN, suite aux traitements par les deux phyto-œstrogènes.

## CO11

### leptine et angiogenèse au cours du cancer mammaire : étude *in vitro*.

**V. Dubois**<sup>1,2</sup>, **L. Delort**<sup>1,2</sup>, **H. Billard**<sup>1,2</sup>, **M.-P. Vasson**<sup>2,3,4</sup>, **F. Caldefie-Chézet**<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, Université d'Auvergne, <sup>3</sup>Unité de Nutrition, Centre Jean-Perrin,

<sup>4</sup>Cancéropole Lyon Auvergne Rhône-Alpes (CLARA), Clermont-Ferrand, France  
Laboratoire SVFp, Faculté de Pharmacie - 28 place Henri-Dunant - 63000 Clermont-Fd

[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 du sein en post-ménopause. Les sécrétions adipocytaires (*i.e.* adipokines), dont les taux sont modulés en situation d'obésité, peuvent jouer un rôle au cours de ce cancer. Ainsi, nous avons déjà montré qu'une adipokine majeure, la leptine (Lep) exerce un effet stimulant sur la prolifération de cellules cancéreuses mammaires<sup>1</sup>. L'angiogenèse étant impliquée dans la prolifération et la propagation de tumeurs agressives à potentiel métastatique, il apparaît fondamental de mieux comprendre le rôle tenu par la Lep sur ce processus. Pour cela, l'expression du récepteur à la Lep (OB-R) au niveau des cellules endothéliales (HUVEC) a été recherchée (immunohistochimie). Après traitement par la Lep [0; 10 (physiologie), 100 (obésité), 1000ng/mL (concentration pharmacologique)], ont été évalués sur les HUVEC: 1) leur apoptose globale par cytométrie en flux (Annexine V/ Iodure de Propidium), 2) leur prolifération par fluorescence (résazurine), 3) leur migration par un test de comblement de lésion, 4) le nombre de tubes endothéliaux formés sur Matrigel® et leur aire moyenne (logiciel Image J), 5) l'expression de VEGF par les cellules mammaires cancéreuses MCF7 et MDA-MB-31 par ELISA. Concernant les HUVEC, qui expriment OB-R, la Lep entraîne une diminution de leur apoptose (-35%, 1000 ng/mL), une augmentation de leur prolifération (+75%, 1000ng/mL) et de leur migration (+32%, 100 ng/mL), et, favorise la formation de tubes endothéliaux (+38%, 100 ng/mL). La Lep augmente aussi l'expression de VEGF par les cellules MCF7 (+28%, 100 ng/mL) et MDA-MB-231 (+13%, 100 ng/mL). Ces résultats suggèrent que la Lep, utilisée *in vitro*, aux concentrations physiologiques et de façon plus prononcée à celles utilisées en situation d'obésité, semble influencer l'angiogenèse dans le cadre du cancer mammaire, et pourrait jouer ainsi un rôle non négligeable, notamment chez les patientes obèses, pour lesquelles une hyperleptinémie et une augmentation du potentiel métastatique sont décrites.

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

## C012

### **Intracellular cholesterol overload induced by diet upregulates *ezh2* expression and initiates prostate cancer development**

**AJC Pommier, G Alves, J Dufour, E Viennois, C Damon, M Manin, P Arnaud, D Volle, F Caira, JMA Lobaccaro & S Baron**

Laboratoire GReD

UMR CNRS 6247-Clermont Université-INSERM U931 et Centre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne  
24 avenue des Landais - F-63177 Aubière Cedex

[aurelien.pommier@unicv-bpclermont.fr](mailto:aurelien.pommier@unicv-bpclermont.fr)

Prostate cancer progression is correlated with various metabolic homeostasis deregulations associated inter alia to cholesterol accumulation within the tumor cells. Several evidences, performed to date only on tumor cell models, strongly suggest that cholesterol could promote prostate cancer progression but whether cholesterol is able to initiate prostate cancer remains however unknown. Deregulated pathways leading to cholesterol accumulation within the cells involve several enzymes controlled by the nuclear receptors LXR (liver X receptors). Thus, given this key regulator action of LXRs in cholesterol homeostasis, we analyzed effect of cholesterol enriched diet on the non tumoral prostate of *lxr*<sup>-/-</sup> mice. *lxr*<sup>-/-</sup> mouse fed a high cholesterol diet accumulate cholesterol in prostatic cells leads to a neoplastic phenotype associated to: 1) high proliferation level of prostate epithelial cells, 2) gene expression pattern similar to prostate cancer cells, 3) overexpression of the histone methyltransferase EZH2 and 4) repression expression of its downstream target *nkx3.1* and *msmb* tumor suppressor genes,. In addition, human prostate cancer PC3 cells reveal an increase of *ezh2* expression level and proliferation rate when exposed to LDL cholesterol. These data demonstrate for the first time that cholesterol is able to induce prostate cancer initiation in vivo and promote prostate cancer progression in vitro through mechanisms involving epigenetic modifications. Thus, high amount of intracellular cholesterol observed in solid human tumors could be an early event in carcinogenesis by stimulation of *ezh2* expression, found highly overexpressed in human prostate cancer.

**Key words:** Cholesterol, LXR, EZH2, prostate, cancer, tumor suppressor, epigenetic.

# POSTERS

## P1

### **Régulation de la différenciation des cellules osseuses et de leur réponse à l'inflammation par la fisétine, un polyphénol alimentaire.**

**LEOTOING Laurent, WAQUIER Fabien, PHILIPPE Claire, MERCIER Sylvie, LEBECQUE Patrice, DAVICCO Marie-Jeanne, WITTRANT Yohann, COXAM Véronique**

INRA, UMR 1019 Nutrition Humaine, Equipe Alimentation, Squelette et Métabolismes, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

[laurent.leotoing@clermont.inra.fr](mailto:laurent.leotoing@clermont.inra.fr)

Chez la femme, le déclin de la fonction ovarienne lors de la ménopause est associé à une induction des cytokines inflammatoires ( $TNF\alpha$ ,  $IL1\beta$ ,  $IL6$ ). A cela s'ajoute une inflammation chronique à bas bruit liée au vieillissement. Or, il est clairement établi que ces cytokines présentent des effets néfastes pour la structure osseuse, en favorisant d'une part la résorption osseuse par les ostéoclastes, et d'autre part, en inhibant la formation osseuse par les ostéoblastes. L'action des cytokines porte sur la différenciation et l'activité de chacun de ces deux types cellulaires.

Il est clairement admis qu'une alimentation équilibrée durant toute la vie est fondamentale pour l'optimisation du capital osseux et sa conservation ultérieure. En effet, notre alimentation fournit non seulement les nutriments essentiels à la couverture des besoins métaboliques, mais aussi un panel de molécules actives présentes dans le règne végétal pouvant contribuer au maintien d'un état de santé optimal. Parmi ces molécules, les polyphénols présentent une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique : certains sont connus pour leurs propriétés anti-oxydantes, d'autres agissent comme des hormones (phytoestrogènes), certains démontrent une activité anti-inflammatoire. Des recherches novatrices et prometteuses portent sur la capacité des polyphénols à moduler l'activité d'histones acétyl transférase (HAT) et d'histones déacétylases (HDAC). En effet, plusieurs rapports font état d'une activation de SIRT1 par des polyphénols tels que le resvératrol, la fisétine ou la butéine. SIRT1 est une déacétylase dépendante du  $NAD^+$  de la famille des sirtuines, orthologue de Sir2 chez la levure, dont les substrats sont des histones, des facteurs de transcription ou encore des co-régulateurs de ces facteurs. Plusieurs arguments laissent entrevoir un rôle clef de la protéine SIRT1 dans la régulation des processus inflammatoires.

Aussi, nous nous sommes intéressés à la capacité de polyphénols activateurs de SIRT1 à prévenir l'action de cytokines pro-inflammatoires sur la différenciation et l'activité des cellules osseuses

## P2

### Rôles du Récepteur aux Acides Gras (GPR40) Dans la Modulation du Potentiel Redox de l'Ostéoclaste

**PHILIPPE Claire**<sup>1,2,3,4</sup>, **WAUQUIER Fabien**<sup>1,2,3,4</sup>, **MERCIER Sylvie**<sup>1,2,3,4</sup>,  
**LEOTOING Laurent**<sup>1,2,3,4</sup>, **LEBECQUE Patrice**<sup>1,2,3,4</sup>, **DAVICCO Marie-Jeanne**<sup>1,2,3,4</sup>,  
**COXAM Véronique**<sup>1,2,3,4</sup>, **WITTRANT Yohann**<sup>1,2,3,4</sup>

1 Inra, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

2 Clermont Université, UFR Médecine, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63000, Clermont-Ferrand, France

3CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

4 Equipe Alimentation, Squelette et Métabolismes, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

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

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

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

Lors de cette étude, les cellules RAW264.7 ont été cultivées en présence ou non de RANKL afin d'induire leur différenciation en ostéoclastes. Les cellules en différenciation ou non-différenciées ont été traitées avec du GW9508, un agoniste du récepteur GPR40 pour des concentrations (0 à 100µM) et des temps d'incubation croissants (0 à 24h). La viabilité cellulaire a été analysée par XTT et la différenciation par le niveau d'expression du récepteur à la calcitonine. La production d'espèces radicalaires de l'oxygène (ROS) a été déterminée par cytométrie de flux grâce à la sonde fluorescente DCF-DA. En raison de leur importance dans la résorption ostéoclastique, les mesures de la production d'anion superoxyde dépendent de l'activité NADPH oxydases et de NO ont été ciblées. En outre, la modulation de la capacité antioxydante totale du milieu de culture a été évaluée.

Les résultats montrent que le GW9508 induit une diminution de la viabilité cellulaire et une inhibition de la différenciation ostéoclastique dépendante de RANKL. L'analyse en DCF-DA montre que la diminution de la viabilité cellulaire est corrélée à une augmentation de la production d'espèces radicalaires de l'oxygène (ROS) et suggère un rôle pro-apoptotique via l'établissement d'un stress oxydant. Cependant, cette augmentation contraste avec l'absence de modification de la production de NO et de modulation de la capacité antioxydante totale et l'inhibition partielle de l'activité NADPH Oxydase.

## Nutrition lipidique et stress métabolique lié à l'âge : Impact sur la physiologie du tissu osseux

**WAUQUIER Fabien<sup>1,2,3,4</sup>, BARQUISSAU Valentin<sup>1,2,3,4</sup>, MIOT-NOIRALT Elisabeth<sup>5</sup>, DAVICCO Marie-Jeanne<sup>1,2,3,4</sup>, LEBECQUE Patrice<sup>1,2,3,4</sup>, MERCIER Sylvie<sup>1,2,3,4</sup>, PATRAC Véronique<sup>1,2,3,4</sup>, ROUSSET Paulette<sup>1,2,3,4</sup>, JOUVE Christelle<sup>1,2,3,4</sup>, RIGAUDIERE Jean-Paul<sup>1,2,3,4</sup>, RBAH Latifa<sup>5</sup>, CHARDIGNY Jean-Michel<sup>1,2,3,4</sup>, MORIO Béatrice<sup>1,2,3,4</sup>, WITTRANT Yohann<sup>1,2,3,4</sup>, COXAM Véronique<sup>1,2,3,4</sup>**

<sup>1</sup> 1 Inra, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

<sup>2</sup> 2 Clermont Université, UFR Médecine, UMR 1019 Nutrition Humaine, F-63000, Clermont-Ferrand, France

<sup>3</sup> 3CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

<sup>4</sup> 4 Equipe Alimentation, Squelette et Métabolismes, F-63122 Saint Genès Champanelle, France

<sup>5</sup> 5 Imagerie Moléculaire et Thérapie Vectorisée, UMR 990 INSERM / Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

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

Le vieillissement de l'organisme est associé au développement de désordres métaboliques (maladies cardio-vasculaires, diabète de type 2, ostéoporose) qui peuvent trouver leur origine dans une prise importante de masse grasse et l'apparition d'une inflammation à bas bruit. Le squelette est métaboliquement intimement lié au tissu adipeux par le biais des cellules souches mésenchymateuses (précurseurs communs des cellules ostéoformatrices et des adipocytes) et via la sécrétion d'adipokines susceptibles de moduler le remodelage osseux. Dans un tel contexte, il est important de mieux appréhender les interactions tissulaires et moléculaires impliquées dans les processus de perte osseuse liée à l'âge, afin de pouvoir proposer une prise en charge nutritionnelle adaptée.

Notre hypothèse de travail est que les Acides Gras Poly-Insaturés (AGPI) à propriétés anti-inflammatoires peuvent éventuellement limiter l'inflammation associée au vieillissement et contribuer à préserver le capital osseux.

La souris SamP8 est un modèle de *progeria*. Ces animaux sont connus pour présenter, dès l'âge de 12 mois, un phénotype ostéoporotique qui n'est pas retrouvé chez la souris SamR1 contrôle, et constituent donc un bon modèle d'ostéoporose sénile. Dans cette étude, les souris SamP8 âgées de deux mois ont été réparties en plusieurs groupes soumis à différents régimes administrés *ad libitum* tout au long de la vie de l'animal. Ces régimes diffèrent essentiellement par la composition de leur fraction lipidique, et notamment par la qualité des acides gras présents majoritairement.

A douze mois, après sacrifice des animaux, la densité minérale osseuse fémorale a été estimée par DEXA. Cette analyse a permis de valider le phénotype ostéoporotique des souris SamP8 vs SamR1 et de démontrer la capacité de régimes à forte teneur en AGPI à propriétés anti-inflammatoires de prévenir partiellement ou complètement, la perte osseuse observée chez les souris SamP8.

Afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu, une analyse TLDA (Taqman Low Density Array) est en cours de réalisation sur les tibias issus de ces souris. En conclusion, cette étude permet de démontrer le rôle protecteur des AGPI à propriétés anti-inflammatoires pour l'os. Pour la première fois, cet effet est caractérisé dans un modèle d'ostéoporose sénile et les analyses en TLDA devraient permettre d'élucider une partie des mécanismes mis en jeu.

## P4

### **Rôle des altérations de la protéolyse ubiquitine-protéasome dépendante et de l'apoptose mitochondriale dans les processus de récupération musculaire**

**L Slimani, E Vazeille, H Magne, A Claustre, D Taillandier, D Béchet, C Polge, D Dardevet, D Attaix, L Combaret**

Centre de Recherches INRA de Clermont-Ferrand-Theix  
63122 Saint Genès Champanelle, France

[Lamia.Slimani@clermont.inra.fr](mailto:Lamia.Slimani@clermont.inra.fr)

L'atrophie musculaire induite par l'immobilisation se stabilise après déplâtrement dans le gastrocnemius (GA), alors qu'elle s'aggrave dans le tibialis anterior (TA). Les voies apoptotique mitochondriale et protéolytique ubiquitine-protéasome-dépendante (UPS) sont activées par l'immobilisation, puis rapidement normalisées après déplâtrement dans le GA. L'objectif a été d'étudier la régulation de ces 2 voies dans le TA afin de comprendre l'aggravation de l'atrophie observée dans ce muscle pendant la récupération. Des rats adultes ont été soumis à une immobilisation unilatérale d'une patte arrière par plâtre pendant 8 jours (I8), l'autre patte servant de contrôle. A I8, les rats ont été déplâtrés et placés en récupération pendant 10 jours (R1, R3, R6, R8 et R10). A chaque temps, les muscles GA et TA ont été prélevés et pesés. La protéolyse UPS et l'apoptose mitochondriale ont été évaluées en mesurant respectivement les activités « chymotrypsin-like » du protéasome et de la caspase-9 associée à l'apoptosome. L'atrophie induite par l'immobilisation dans les muscles GA et TA à I8, s'est stabilisée dès R1 pour le GA, mais s'est aggravée jusqu'à R6 pour le TA. Dans le GA, les activités du protéasome et de l'apoptosome ne sont pas modifiées à I8, augmentent à R1 et R3, puis ne sont plus différentes à partir de R6 entre les muscles immobilisés et témoins. Dans le TA, ces activités sont augmentées à I8 et restent élevées jusqu'à R10 entre les muscles immobilisés et témoins, sauf pour l'activité de l'apoptosome qui est inchangée à R1. Ainsi, l'élévation constante de ces deux voies pourrait être à l'origine de l'aggravation de l'atrophie observée dans le TA pendant la récupération. La matrice extracellulaire pourrait être modifiée de façon plus considérable dans le TA, immobilisé en position étirée, ce qui pourrait générer un remodelage plus important de ce muscle pendant la récupération.



## P5

### Impact de l'obésité induite par un régime hyperlipidique sur le métabolisme protéique musculaire

**Aurélie Masgrau<sup>1</sup>, Maude Gerbaix<sup>2</sup>, Lore Metz<sup>2</sup>, Hitoshi Murakami<sup>1</sup>, Stéphane Walrand<sup>1</sup>, Christophe Giraudet<sup>1</sup>, Paulette Rousset<sup>1</sup>, Carole Migné<sup>3</sup>, Daniel Courteix<sup>2</sup>, Yves Boirie<sup>1</sup>, Christelle Guillet<sup>1</sup>.**

1-Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019, INRA/Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

2-Laboratoire BAPS, EA3335, Université Blaise Pascal, Aubière

3-Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019, INRA, Saint Genès Champanelle, France

[Aurrelie.masgrau@clermont.inra.fr](mailto:Aurrelie.masgrau@clermont.inra.fr)

L'obésité caractérisée par l'accumulation de lipides dans le tissu adipeux, le foie et les muscles entraîne des dysfonctionnements métaboliques de ces tissus. Un régime hyperlipidique modifie la sensibilité à l'insuline et l'inflammation dans le muscle et pourrait donc moduler le métabolisme protéique musculaire. **L'objectif** de cette étude a été de déterminer les effets du régime hyperlipidique sur le métabolisme protéique du muscle.

**Matériel & Méthodes** : Des rats Wistars âgés de 7 mois ont été soumis à un régime hyperlipidique pendant 16 ou 24 semaines (HF16 (n=14) ; HF24 (n=15)). 15 rats contrôles ont suivi 16 semaines de régime normolipidique (N16) et 14 rats ont servi de contrôles avant régimes (T0). La composition corporelle a été mesurée 7 jours avant l'abattage (DXA). La vitesse de synthèse fractionnaire des protéines musculaires totales (FSRpt) a été mesurée dans un muscle oxydatif (soleus) et un muscle glycolytique (tibialis), par la technique de dose de charge de L-[1-<sup>13</sup>C]-valine.

**Résultats** : Le poids et la masse grasse (MG) de HF16 sont significativement plus élevés que N16 (Poids : 747g±19,2 vs 648g±16,0  $P<0,01$  ; MG : 235g±13,0 vs 163±10,8  $P<0,01$ ). Après 8 semaines de régime HF supplémentaire, le poids et la masse grasse n'évoluent plus. La masse maigre augmente de façon similaire pour les groupes N16 et HF16 et ne change pas dans le groupe HF24. Dans le soleus, le FSRpt n'est pas significativement différent entre les groupes N16, HF16, HF24. Dans le tibialis, le FSRpt n'est pas modifié entre les groupes N16 et HF16, mais est réduit dans le groupe HF24 (4,7±0,3 vs 3,7±0,3 %/j,  $P<0,05$ ).

**Conclusion** : La stabilisation du poids des animaux HF16 suggère le passage d'une obésité dynamique à une phase statique. L'induction d'une obésité n'induit pas de modifications de la synthèse protéique dans la phase dynamique mais réduit la synthèse protéique dans le muscle glycolytique en phase statique évoquant une insulino-résistance du métabolisme protéique musculaire.

## P6

### Effet de l'exercice et de la restriction lipidique sur la composition corporelle et le métabolisme protéique de rats rendus obèses

**Aurélie Masgrau<sup>1</sup>, Maude Gerbaix<sup>2</sup>, Lore Metz<sup>2</sup>, Hitoshi Murakami<sup>1</sup>, Stéphane Walrand<sup>1</sup>, Christophe Giraudet<sup>1</sup>, Paulette Rousset<sup>1</sup>, Carole Migné<sup>3</sup>, Daniel Courteix<sup>2</sup>, Yves Boirie<sup>1</sup>, Christelle Guillet<sup>1</sup>.**

1-Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019, INRA/Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

2-Laboratoire BAPS, EA3335, Université Blaise Pascal, Aubière

3-Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019, INRA, Saint Genès Champanelle, France

[Aurelie.masgrau@clermont.inra.fr](mailto:Aurelie.masgrau@clermont.inra.fr)

L'obésité entraîne de nombreux dysfonctionnements métaboliques. Le régime hypolipidique et l'exercice ont des effets bénéfiques sur les métabolismes lipidique et glucidique et pourraient moduler le métabolisme protéique dans le muscle. **L'objectif** de l'étude a été de déterminer l'impact d'une alimentation hypolipidique, combinée ou non à de l'exercice physique régulier sur la composition corporelle et le métabolisme protéique musculaire de rats obèses.

**Matériel & Méthodes :** Parmi 47 rats Wistars ayant suivi un régime obésogène, 30 ont été soumis à un régime hyperlipidique-hypoglucidique (HF) et 27 ont été soumis un régime hypolipidique-hyperlipidique (N). La moitié de chaque groupe a simultanément démarré 8 semaines d'exercice (45 min de course sur tapis par jour, 5 j/sem) (HF-Ex et N-Ex). La composition corporelle a été mesurée 7 jours avant l'abattage par DXA. Les vitesses de synthèse protéique musculaire totale (FSRpt), de l'actine (FRSa) et de la myosine (FSRm) ont été mesurées dans un muscle oxydatif (soleus) et un muscle glycolytique (tibialis), en utilisant la technique de dose de charge de L-[1-<sup>13</sup>C]-valine.

**Résultats :** Après 8 semaines de traitements, seul le poids du groupe N-Ex est significativement réduit par rapport au groupe HF (689g±14,5 vs 784±25,1  $P<0,01$ ). La masse grasse est significativement réduite dans les groupes HF-Ex (214g±16,7 vs 276±15,9  $P<0,01$ ) et N-Ex (173g±11,5 vs 276±15,9  $P<0,001$ ) alors que la masse maigre ne varie dans aucun des groupes. Le FSRpt dans le soleus et dans le tibialis n'est pas différent entre les groupes, seul le FSRa dans le soleus est augmenté dans le groupe HF-Ex.

**Conclusion :** Seule l'action synergique de la restriction lipidique et de l'exercice permet de réduire le poids de façon durable. Si l'exercice permet de réduire la masse grasse, le maintien de l'apport protéique et glucidique est essentiel au maintien de la masse maigre comme l'illustre le maintien de la synthèse des protéines musculaires totales et contractiles.

## L'administration unique de protéines alimentaires glyquées n'affecte pas l'activation post-prandiale des voies de signalisation de l'insuline dans le muscle squelettique.

H. Murakami<sup>1</sup>, G. Henry<sup>2</sup>, M.-J. Galmier<sup>3</sup>, J. Leonil<sup>2</sup>, J.-M. Chezal<sup>3</sup>, C. Giraudet<sup>1</sup>,  
A. Masgrau<sup>1</sup>, S. Walrand<sup>1</sup>, Y. Boirie<sup>1</sup>, C. Guillet<sup>1</sup>

1UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine, INRA-Université d'Auvergne, 58, rue Montalembert-BP 321 – 63009 Clermont-Ferrand Cedex

2UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de l'Oeuf, INRA-Agrocampus Ouest, Rennes, 3UMR 990 Imagerie Moléculaire et Thérapie Vectorisée, Inserm-Université d'Auvergne, Clermont Ferrand, France

[Christelle.Guillet@clermont.inra.fr](mailto:Christelle.Guillet@clermont.inra.fr)

**Introduction.** Une consommation chronique de produits de glycation alimentaires est associée à l'apparition de troubles métaboliques tels que l'insulino-résistance au cours du vieillissement et du diabète. L'exposition de cellules L6 de muscle squelettique à de l'hémoglobine glyquée humaine induit des perturbations de la voie de signalisation de l'insuline. L'administration unique de protéines alimentaires glyquées peut modifier l'activation de cette voie dans le muscle. **Méthodes.** Un régime semi-liquide contenant soit de la caséine chauffée (CAS-C), soit de la caséine non chauffée (CAS-NC) a été administré à des rats (7 mois). Les concentrations en insuline plasmatique ont été mesurées par ELISA. La phosphorylation d'Akt, de p70S6K et l'expression du récepteur aux produits avancés de glycation (RAGE) ont été mesurées par Western-blot dans le soleus et le tibialis à 0, 1, 2, 4 heures après l'administration du régime. **Résultats.** Les concentrations plasmatiques d'insuline sont augmentées de façon similaire après l'administration des régimes. Après l'administration du régime CAS-NC, les phosphorylations d'Akt et de p70S6K sont significativement augmentées dans le tibialis (+ 26,4 ± 4,5 unités arbitraires (UA), + 26,2 ± 3,7 UA par rapport à 0h,  $P < 0,05$ ) mais pas dans le soleus. La phosphorylation d'Akt augmente significativement dans le soleus 1h après l'administration de CAS-C (+ 3,1 ± 0,7 UA par rapport à 0h,  $P < 0,05$ ). CAS-C n'a pas d'effet sur la phosphorylation de p70S6K. L'expression de RAGE n'est pas modifiée quelle que soit l'heure d'administration de PAG élevée dans les deux types de muscle. **Conclusion.** L'administration unique de protéines alimentaires glyquées n'affecte pas l'activation des voies de signalisation à l'insuline dans les muscles squelettiques chez le rat. Par conséquent, ces données suggèrent que la réponse anabolique post-prandiale du muscle squelettique n'est pas modifiée après une seule administration orale de protéines alimentaires glyquées.

## Identification des mécanismes d'action cellulaires et moléculaires de flavanols et de leurs métabolites au niveau endothélial

**S CLAUDE, D MILENKOVIC, N GERARD, C DEVAL, A MAZUR, C MORAND**

Unité de Nutrition Humaine UMR 1019, Equipe MiMeS  
INRA-Clermont Ferrand / Theix,  
63122 Saint Genès Champanelle, France

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

Les études épidémiologiques suggèrent une association inverse entre l'athérosclérose et une alimentation riche produits végétaux (Lichtenstein *et al*, Circulation, 2006). Des données de plus en plus convaincantes suggèrent que cette association pourrait être en relation avec leur apport en polyphénols, et notamment en flavonoïdes. Un intérêt plus particulier est porté aux flavanols, flavonoïdes majeurs du chocolat pour lesquels des effets cardioprotecteurs ont été rapportés chez l'homme (Shroeter *et al*, PNAS, 2006). Le caractère anti-athérogène de ces molécules a été démontré dans un modèle animal d'athérosclérose (Auclair *et al*, Atherosclerosis, 2009) mais les mécanismes d'actions cellulaires et moléculaires restent encore peu connus. C'est dans ce contexte que l'objectif de ce travail qui s'inscrit dans le projet européen FLAVIOLA, vise à élucider les mécanismes d'actions des flavanols au niveau endothélial. Cette approche est originale puisqu'elle prend en compte les données sur la biodisponibilité et le métabolisme des flavanols en mettant en jeu leurs formes circulantes.

Dans notre travail, nous étudions les effets des métabolites des flavanols sur les fonctions des cellules endothéliales, en prenant comme modèle les HUVECs (Human Umbilical Vein Endothelial Cells). Les HUVECs sont exposées aux métabolites circulants des flavanols du cacao (catéchine, épicatechine, 4'-methyl-épicatechine, épicatechine-7-glucuronide, 4'-methyl-épicatechine-7-glucuronide et épicatechine-4'-sulfate) à des concentrations physiologiques (0.2 à 10  $\mu$ M) dans des conditions de stress inflammatoire (TNF  $\alpha$ ). L'impact de ces molécules sur les processus impliqués dans le développement de l'athérosclérose, tels que, adhésion monocyttaire, migration transendothéliale et migration cellulaire est évalué. Les mécanismes moléculaires sous-jacents seront recherchés en étudiant l'expression des gènes impliqués dans le dysfonctionnement endothélial et en identifiant les voies de signalisations affectées. Les premiers résultats montrent que l'adhésion des monocytes aux HUVECs induite par le TNF $\alpha$  est diminuée par l'épicatechine, mais pas par la catéchine. L'impact des autres métabolites est en cours d'étude.

## Modifications du protéome myocardique de rats en réponse à une déficience gestationnelle en précurseurs de méthyles

**Martinez E<sup>1</sup>, Gérard N<sup>1</sup>, Moreno-Garcia MA<sup>2</sup>, Guéant-Rodriguez RM<sup>2</sup>, Alberto JM<sup>2</sup>, Mazur A<sup>1</sup>, Guéant JL<sup>2</sup>, Comte B<sup>1</sup>, Brachet P<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 INRA/Université d'Auvergne, INRA Centre de Theix, Saint-Genès Champanelle

<sup>2</sup>Inserm U954, Faculté de Médecine/CHU, Université Henri Poincaré, Nancy

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

Les folates (vitamine B9), la vitamine B12 et la choline sont des précurseurs de méthyles (PDM) intervenant dans la reméthylation de l'homocystéine en méthionine. Une déficience en PDM engendre une hyperhomocystéinémie susceptible d'induire un stress oxydant avec modification post-traductionnelle oxydative (MPTO) de protéines et d'augmenter *in fine* le risque cardiovasculaire. Afin de mieux comprendre les effets de la déficience en PDM sur le cœur, nous avons recherché les modifications du protéome myocardique chez des rats de 21 j nés de mères nourries avec un régime carencé en PDM comparativement à des rats issus de mères normalement nourries. Une analyse protéomique utilisant l'électrophorèse bidimensionnelle et la spectrométrie de masse a montré que l'abondance de 24 protéines était augmentée entre 1,2 et 1,7 fois, alors que celle de 16 autres protéines était diminuée entre 1,3 et 2,3 fois. Ces protéines sont principalement localisées dans le cytoplasme (42%) et les mitochondries (32%); elles interviennent dans la production d'énergie cellulaire (22%) et le métabolisme lipidique (17%) notamment la  $\beta$ -oxydation telles l'acyl-CoA déshydrogénase, l'acyl-CoA thioestérase et la protéine trifonctionnelle mitochondriale. Plusieurs de ces protéines sont associées à la voie PPAR $\alpha$  ou PPAR $\gamma$ . De plus la carbonylation, principale MPTO des protéines, a été quantifiée par une technique Dot-blot/Oxyblot. On observe ainsi une augmentation de 1,9 fois ( $p < 0,05$ ) de la carbonylation totale des protéines myocardiques chez les rats déficients en PDM par rapport aux contrôles. Nos résultats montrent que la déficience en PDM altère le protéome myocardique notamment par augmentation de la carbonylation post-traductionnelle des protéines. Ces changements pourraient contribuer à la dysfonction cardiaque observée par ailleurs chez les rats déficients en PDM.

## P10

### **Amidon résistant et résistance à l'insuline dans un modèle de régime riche en lipides: étude des mécanismes d'action par une approche intégrative**

**Diaz-Rubio, M.E.(1), Dardevet, D.(1), Martin, J.F.(2), Pujos-Guillot, E.(2), Sebedio, J.L.(2), Mazur, A.(1), Scalbert, A.(1), Comte, B.(1)**

(1) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France,

(2) INRA, UMR 1019, UNH, Plateforme d'Exploration du Métabolisme, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

[blandine.comte@clermont.inra.fr](mailto:blandine.comte@clermont.inra.fr)

La consommation d'aliments riches en fibres est liée à un risque réduit de maladies chroniques. Parmi les fibres alimentaires, l'amidon résistant (AR) est largement consommé. Les effets de l'AR sur la fonction intestinale, le métabolisme des lipides, des glucides ont été largement étudiés, mais son rôle dans la résistance à l'insuline (RI) et la prévention du diabète de type 2 n'est pas encore clair. Notre objectif était de combiner la métabolomique et les approches classiques pour obtenir une meilleure compréhension des mécanismes d'action de l'AR dans la RI. Des rats mâles Wistar (n=14/groupe) ont été nourris pendant 9 semaines avec différents régimes: faible en lipides (C, 5% lipides); riche en lipides supplémenté ou non avec de l'AR: (HF, 30,4% lipides), HF-RS (HF-RS, High-Maize260<sup>®</sup>, 41,6%). Des tests de tolérance au glucose ont été effectués à 0, 6, 8 semaines de régime. Après 9 semaines, des paramètres métaboliques plasmatiques ont été mesurés et la sensibilité à l'insuline musculaire a été évaluée. Les empreintes métaboliques du plasma à jeun et de l'urine ont été obtenues par UPLC-QToF MS. L'AR a limité le gain de poids induit par le régime HF (p <0,05) avec une diminution des concentrations plasmatiques de lipides (p <0,05). La diminution de la tolérance au glucose et de la sensibilité musculaire à l'insuline induite par le régime HF est restaurée par l'AR (HF vs HF-RS; HF vs C: p<0,05). Les ACP des données métabolomiques urinaires et plasmatiques montrent des distinctions claires des diètes (HF vs HF-RS). Parmi les 45 métabolites plasmatiques discriminants pour HF vs HF-RS, les lysophosphatidylcholines, leucine/ isoleucine et alanine ont été identifiés. Plus de 20 métabolites urinaires ont été trouvés discriminants (HF vs HF-RS). Nous poursuivons l'identification des métabolites ainsi que les analyses métabolomiques des eaux fécales. Nos résultats préliminaires montrent clairement que l'AR induit des différences dans les signatures métabolomiques.

## P11

### Modulations du transcriptome hépatique par l'acide docosahexaénoïque au cours du développement de l'athérosclérose

**C. Gladine, N. Roy, B. Sion, B.Laillet, JP. Rigaudière, B. Morio, JM. Chardigny, B. Comte**

UMR 1019 INRA/Université Clermont 1 63122 Saint Genès Champanelle

[cecile.gladine@clermont.inra.fr](mailto:cecile.gladine@clermont.inra.fr)

De nombreuses études ont démontré les effets athéroprotecteurs des AGPI  $\omega$ 3 à chaîne longue<sup>1</sup>. Ceux-ci agiraient comme des modulateurs de l'expression de gènes clefs de l'athérosclérose et d'autres gènes hépatiques impliqués dans le métabolisme lipidique et le stress oxydant<sup>2</sup>. Cependant, l'impact de la dose sur les effets des AGPI  $\omega$ 3 n'a pas été étudié alors qu'elle pourrait largement influencer l'abondance et la nature des molécules actives. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet dose/réponse des AGPI  $\omega$ 3 sur le développement de l'athérosclérose et les modulations du transcriptome hépatique. Pour cela, 24 lapins New Zelande White ont reçu pendant 7 semaines un régime supplémenté en cholestérol (0.5% du régime). Parallèlement, les animaux recevaient quotidiennement, par gavage, 2 mL d'huile de tournesol oléique (Contrôle) ou un mélange tournesol oléique/huile de thon apportant 0.05% (groupe 1), 0.1% (groupe 2) ou 1% (groupe 3) de l'énergie sous forme d'acide docosahexaénoïque. Les dépôts de cholestérol aortique ont été mesurés par chromatographie en couche mince. L'expression génique au niveau hépatique a été évaluée par une approche transcriptomique (Bioconductor, p-value<0.05 et fold change, FC>1.20). L'incorporation de cholestérol dans l'aorte a eu tendance à diminuer (-32%, ns) avec la dose la plus faible d'AGPI  $\omega$ 3 (groupe 1) tandis que les doses 2 et 3 ont eu tendance à augmenter les dépôts (respectivement +28% et +58%, ns). L'analyse des données transcriptomiques (Ingenuity pathways analysis) a révélé que le métabolisme lipidique a été peu affecté. Cependant, un effet dose-dépendant a été observé sur les récepteurs aux lipoprotéines (VLDLR et LDLR). La dose 3 a engendré une forte augmentation de l'expression de ces 2 protéines (FC de 2.9 et 1.7, p<0.001) tandis que les doses 1 et 2 avaient peu ou pas d'impact. Ces résultats suggèrent que les effets des AGPI  $\omega$ 3 sur l'athérosclérose et le transcriptome hépatique sont dépendants de la dose. Ils peuvent s'avérer délétères à forte dose en engendrant une accumulation de cholestérol au niveau aortique qui pourrait s'expliquer par une surexpression des récepteurs aortiques aux VLDL et LDL.

1) R. De Caterina, M.A. Cybulsky, S.K. Clinton, M.A. Grimbrone, and P. Libby. *Omega-3 fatty acids and endothelial leucocyte adhesion molecules. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 52 (1995), 191-195.

2) K. He, Y. Song, M.L. Daviglus, M. L. Liu, K. Van Horn, L. Dyer and A. R. Greenland. *Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of cohort studies. Circulation*, 109 (2004) 2705-11

## P12

### **Identification des effets antiathérogènes de la curcumine et de ses mécanismes d'action moléculaire chez la souris déficiente en apolipoprotéine E**

**Dilek COBAN, Dragan MILENKOVIC, Audrey CHANET, Antonino NICOLETTI, Linde SABBE, Guy HAEGEMAN, Wim VANDEN BERGHE, André MAZUR et Christine MORAND**

INRA de Clermont-Ferrand/Theix  
Unité de Nutrition Humaine UMR1019, Equipe Micronutriments, Métabolisme et Santé  
63122 Saint-Genès Champanelle

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

De nombreuses études montrent que la curcumine, un composé polyphénolique extrait de la plante *Curcuma longa*, possède des propriétés anti-inflammatoire et anti-oxydante. Cependant, ses effets anti-athérogènes ont été peu étudiés.

Ainsi, nous avons étudié si la consommation de curcumine, administrée à une dose nutritionnelle de 0,2 % dans le régime pendant 4 mois, inhibe le développement de la lésion d'athérosclérose dans le modèle de cette pathologie - souris apo E -/-. Nous avons montré que la curcumine réduit le développement de la lésion (-28%), mesurée par histomorphométrie, et l'infiltration macrophagique, mesurée après immunomarquage, au niveau de la crosse aortique. La curcumine n'exerce pas d'effet hypolipémiant chez ces animaux. L'analyse transcriptomique par microarrays au niveau de l'aorte a permis d'identifier 2.263 gènes différentiellement exprimés chez les souris consommant de la curcumine. Cette analyse montre que la curcumine affecte de nombreux processus biologiques tels que l'adhérence cellulaire, le chimiotactisme, l'organisation du cytosquelette, la phagocytose ou la communication cellulaire. En parallèle, nous avons montré que la curcumine augmente le taux protéique d'I- $\kappa$ B, inhibiteur de NF- $\kappa$ B, au niveau de l'aorte.

En conclusion, ce travail témoigne d'un effet anti-athérogène de la curcumine qui serait principalement en relation avec ses propriétés anti-inflammatoires.



## P13

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

**D. Milenkovic, C. Deval, D. Coban, A. Chanet, A. Mauray, A. Scalbert A. Mazur, AM Bérard, and C. Morand**

INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand/Theix  
Unité de Nutrition Humaine (UNH)  
Groupe "Micronutriments, Métabolisme et Santé (MiMeS)"  
63122 Saint-Genès-Champanelle  
France

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

Animal studies revealed that polyphenols can prevent the progression of atherosclerosis. Recent studies suggest that polyphenols may act at the genomic level by modulating the expression of genes. The aim of the present work is to explore these molecular mechanisms in both apolipoprotein E deficient mice and C57BL6/J mice fed a high-fat/high-cholesterol diet.

Mice were fed for 16 weeks a diet supplemented with one of the following polyphenols: catechin, bilberry anthocyanins, naringin or curcumin. The progression of the lesions was estimated by histomorphometry. A significant decrease in the progression of atherosclerotic lesions was observed for the four polyphenols studied. The anti-atherogenic effects were independent from changes in lipid parameters or antioxidant capacity of plasma.

Nutrigenomic studies of aorta using pangenomic oligonucleotides have been carried out. This approach revealed that polyphenols modified the expression of a few hundreds genes implicated in cell signalling, cellular adhesion and metabolic processes. Functional analysis of these data led to the identification of a cluster of common pathways related to cell-cell adhesion, cell junctions, focal adhesion, and cell cytoskeleton. These cellular functions control transendothelial migration of monocytes into the intima of blood vessels, the initial step of atherosclerosis development. Immunofluorescence analysis of the aortic sinus from the same mice confirmed a reduction of the number of macrophages in atherosclerotic lesions. Overall, this study shows that dietary polyphenols attenuate lipid deposition in the aortic root of mice possibly by modulating the expression of genes involved in adhesion and transendothelial migration. Signalling pathways responsible for these effects are under investigation.

## P14

### Quel rôle pour l'héspéridine, polyphénol majoritaire de l'orange, dans les effets du jus d'orange sur la protection vasculaire chez l'homme sain.

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

<sup>1</sup>INRA, Centre Clermont-Ferrand - Theix, UMR1019, Unité Nutrition Humaine, 63122 St Genès Champanelle, France - <sup>2</sup>Centre Investigation Clinique, Centre Hospitalier Universitaire, 63000 Clermont-Ferrand, France

[Christine.Morand@clermont.inra.fr](mailto:Christine.Morand@clermont.inra.fr)

Les études épidémiologiques suggèrent des effets bénéfiques des polyphénols alimentaires vis-à-vis du développement des MCV. Ces données sont corroborées par un certain nombre d'essais cliniques qui révèlent une amélioration de certains facteurs de risque cardiovasculaires après consommation d'aliments ou boissons riches en polyphénols (cacao, thé, soja). Cependant, il reste encore à déterminer dans quelle mesure la fraction polyphénolique est directement impliquée dans les effets observés. Pour progresser sur cette question, il est nécessaire de réaliser des études d'intervention avec des molécules purifiées.

Dans cette étude, notre objectif était (1) d'étudier l'impact d'une consommation de jus d'orange sur la pression artérielle et la réactivité endothéliale microvasculaire et sur des paramètres systémiques liés au risque de CV, (2) de déterminer le rôle spécifique de l'héspéridine dans les effets observés, et (3) d'étudier les modulations sur le profil d'expression génique des leucocytes.

24 hommes sains (50-65 ANS, IMC > 25 kg / m<sup>2</sup>) ont été inclus dans une étude en crossover randomisée. Pendant 3 périodes de 4 semaines, les volontaires ont consommés quotidiennement: 500 ml de jus d'orange (JO), 500 ml d'une boisson contrôle + héspéridine (CDH) ou de 500 ml de boisson contrôle + placebo (CDP). Les mesures ont été effectuées à jeun en début et fin de chaque période expérimentale. Une étude post-prandiale a aussi été effectuée au début de chaque période expérimentale.

Résultats : La pression artérielle diastolique est diminuée après une consommation de 4 semaines de JO ou CDH, alors que la réactivité endothéliale microvasculaire mesurée à jeûn n'est pas significativement affectée. Par contre, la réactivité microvasculaire mesurée au pic d'absorption de l'héspéridine est améliorée dans les groupes JO et CDH par rapport à CDP (P < 0,05). D'autre part, les profils d'expression des gènes différentiellement exprimés après consommation de JO et CDH présentent un fort degré d'homologie, ce qui indique que l'héspéridine est impliquée dans les effets génomiques de jus d'orange.

Conclusion: Notre étude suggère que l'héspéridine pourrait être directement impliquée dans l'effet bénéfique du jus d'orange au niveau vasculaire.

## P15

### Syndrome de l'Intestin Irritable et Ballonnement

**Emilie Muller, Elisabeth Noireau, Alain Eschalier, Jean-Michel Chezal, Agathe Gelot Denis Ardid**

UMR 766 INSERM/UdA – Pharmacologie Fondamentale et Clinique de la Douleur  
Faculté de Médecine – Bat. Extension 3e  
28 Place Henri Dunant – 63000 Clermont-Ferrand

[emilie\\_muller@yahoo.fr](mailto:emilie_muller@yahoo.fr)

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) est une maladie chronique du colon d'origine multifactorielle, qui touche 20% de la population mondiale et dont les mécanismes physiopathologiques sont inconnus. La majorité des patients atteints présentent des douleurs viscérales qui reflètent le développement d'une hypersensibilité colique. Cette sensibilité est fréquemment associée à des problèmes de transit et/ou à une sensation de ballonnement, le ballonnement étant le symptôme qui détériore le plus la qualité de vie des patients. Face à cette pathologie, les cliniciens utilisent aujourd'hui des traitements empiriques, malgré leurs effets indésirables et le manque de résultats très significatifs. Pour répondre à ce besoin de développement thérapeutique, nous avons choisi de développer un modèle de ballonnement chez le rat. Les animaux gavés quotidiennement au lactulose (Solvay Pharma), une substance fermentescible susceptible d'induire une production de gaz, sont passés au scanner (Scanner explore CT120, GE Healthcare) afin de visualiser la quantité de gaz présente dans leur abdomen. Nos analyses montrent que les rats gavés au lactulose présentent une quantité de gaz significativement plus importante que les rats gavés en parallèle avec du sérum physiologique. Par ailleurs, des mesures de sensibilité colique effectuées par distension colorectale montrent les rats « lactulose » présentent des seuils de douleur significativement plus bas que les rats « physiologique ». Nous validerons ce modèle par l'analyse de l'impact de traitements prescrits aux patients atteints de SII sur la quantité de gaz détectée dans l'abdomen des rats « lactulose ». A plus long terme, nous chercherons à mettre en évidence les mécanismes physiopathologiques liant le ballonnement à la sensibilité colique.

## P16

### **Autophagie déficiente et piste infectieuse dans la Maladie de Crohn**

**Pierre Lapaquette, Marie-Agnès Bringer et Arlette Darfeuille-Michaud**

Pathogénie Bactérienne Intestinale, JE2526, USC-INRA 2018  
28 Place Henri Dunant, Clermont-Ferrand F-63001, France

[pierre.lapaquette@u-clermont1.fr](mailto:pierre.lapaquette@u-clermont1.fr)

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin caractérisée par un état d'hyperactivation du système immunitaire intestinal. Les patients atteints de MC présentent une colonisation iléale anormale par des souches de *Escherichia coli* adhérentes et invasives (AIEC) capables de survivre et se multiplier en macrophages en induisant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. En parallèle, des polymorphismes au sein des gènes ATG16L1, IRGM et NOD2 codant des protéines impliquées dans l'autophagie ont été associés à un risque accru de développer la MC. Une déficience du processus autophagique, pourrait être à l'origine d'une persistance intracellulaire anormale des bactéries AIEC et entraîner une réponse inflammatoire exacerbée.

Nos travaux montrent que rapidement que les bactéries AIEC sont rapidement pris en charge par l'autophagie après la phagocytose. L'induction du processus autophagique diminue la quantité de bactéries intracellulaires dans les macrophages. A l'inverse une inhibition du processus autophagique conduit à une persistance plus importante des bactéries AIEC en macrophages humains. Les taux de cytokines pro-inflammatoires sécrétées en réponse à l'infection par les macrophages sont modulés par l'état d'activation de l'autophagie. Ainsi une inhibition de l'autophagie conduit à une sécrétion massive de cytokines pro-inflammatoires en réponse à l'infection.

L'ensemble de ces résultats suggèrent qu'une déficience de l'autophagie chez les patients atteints de MC pourrait conduire à une persistance des bactéries AIEC et induire un fort état inflammatoire, caractéristique de la MC.

## ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE DES ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRAGIQUES DANS DU CONTENU DIGESTIF BOVIN

Yolande Bertin <sup>1</sup>, Jean-Pierre Girardeau <sup>1</sup>, Josée Harel <sup>2</sup>, Christine Martin <sup>1</sup>.  
**Unité de Microbiologie U454, INRA Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle <sup>1</sup>**

Groupe de Recherche sur les maladies infectieuses du porc, Université de Montréal, Faculté de  
médecine vétérinaire, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada <sup>2</sup>

[yolande.bertin@clermont.inra.fr](mailto:yolande.bertin@clermont.inra.fr)

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables d'infections intestinales pouvant évoluer en syndrome hémolytique et urémique (SHU), particulièrement chez les enfants de moins de 5 ans. Les bovins sont le principal réservoir de souches EHEC pathogènes. Des mesures permettant de limiter ce portage sain permettraient de diminuer la contamination des aliments et par conséquent de réduire considérablement l'incidence des toxi-infections alimentaires. Cependant, les mécanismes moléculaires responsables de la persistance des EHEC dans le tube digestif du ruminant restent encore très mal connus. Nous avons analysé le transcriptome des souches EHEC dans du contenu intestinal bovin (CIB) afin de déterminer quelles sont les voies métaboliques, les réponses au stress ou les facteurs de virulence spécifiquement exprimés dans le tube digestif de l'animal.

Une analyse transcriptomique a été réalisée à l'aide de puces ADN pan-génomique pour comparer l'expression des gènes d'une souche EHEC cultivée soit en CIB, soit en milieu minimum M9 glucose. 22% des gènes de la souche EHEC sont différenciellement exprimés lorsque les deux milieux de culture sont comparés: 12% des gènes sont surexprimés en CIB et 10% sont surexprimés en milieu M9. Parmi les gènes surexprimés en CIB, les gènes impliqués dans le métabolisme énergétique, la synthèse protéique et le transport sont majoritaires. Plusieurs sources de carbone potentielles ont été identifiées par la caractérisation de gènes du catabolisme carboné dont l'expression est activée dans le contenu digestif. Il s'agit de monosaccharides libérés par le mucus intestinal (fucose, mannose, arabinose, galactose) ou de substrats issus des fermentations du microbiote résident, de l'alimentation, ou de la dégradation des entérocytes (glycérol, lactate, succinate). L'expression de gènes impliqués dans la néoglucogenèse, le transport spécifique des dicarboxylates en C4 et le cycle du TCA est également activée en CIB. Des sources potentielles d'azote ont également été mises en évidence. Les gènes impliqués dans la dégradation de certains acides aminés (tryptophane, asparagine, aspartate, serine, proline) sont surexprimés par la souche EHEC cultivée en CIB ainsi que les gènes *eut* requis pour le transport spécifique de l'éthanolamine et sa dégradation en ammoniacque \*.

Les gènes portés par le locus d'effacement et d'attachement aux entérocytes (LEE) sont surexprimés en CIB. Ces gènes codent pour un système de sécrétion de type 3, une adhésine et son récepteur, et des protéines effectrices, tous nécessaires à l'adhésion des EHEC aux cellules intestinales épithéliales. De plus, les gènes régulateurs *gadE* et *gadX* qui répriment l'expression du LEE sont sous exprimés en CIB. Les gènes responsables de la synthèse de deux adhésines fimbriales, F9 et Sfa, sont également surexprimés. Si Sfa n'est pas caractérisé chez les EHEC, le rôle de F9 dans la colonisation du tube digestif du bovin a été démontré *in vivo*. De plus le gène *stcE*, codant pour une métalloprotéase qui clive les glycoprotéines du mucus intestinal, favorisant l'accès des EHEC à la surface des entérocytes, est également surexprimé.

De nombreux gènes codant des pompes à efflux qui expulsent du cytoplasme vers le milieu extérieurs des substances antimicrobiennes et exportent des inducteurs du quorum sensing sont surexprimés dans le CIB. L'activité de ces pompes favorise vraisemblablement la survie des EHEC au sein du microbiote digestif de l'hôte et leur adhésion à l'épithélium intestinal.

L'analyse du transcriptome a ainsi donné une vision globale du métabolisme des EHEC dans le tube digestif du ruminant et de son adaptation dans cet environnement. Ces données devraient permettre d'envisager des stratégies nutritionnelles visant à limiter le portage sain de ces pathogènes par les animaux d'élevage.

\* Bertin Y., J.P. Girardreau, B. Lyan, E. Pujos-Guillot, J. Harel and C. Martin. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* gains a competitive advantage by using ethanolamine as a nitrogen source in the bovine intestinal tract. 2010. Environmental Microbiology 10.1111/j.1462-2920.2010.02334.x.

## P18

### **Testing of abiotic factors in the “Environmental Regulatory System for the Intestinal Microbiota” simulating the proximal human colon (P-ERSIM)**

**David FERIA-GERVASIO, Monique ALRIC and Jean-François BRUGERE.**

ERT-18 CIDAM, Université d'Auvergne, Clermont-Université, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

[J-Francois.BRUGERE@u-clermont1.fr](mailto:J-Francois.BRUGERE@u-clermont1.fr)

The human gut microbiota has important implications for the host physiology and health, especially by participating in the metabolism of undigested residues. Ethical and technical difficulties for *in-vivo* studies argue for the development of alternative *in-vitro* models: a microbiologic engineering approach was applied to the development of a continuous culture system. It mimics the proximal part of a human colon both nutritionally and physico-chemically and is designed to limit technical perturbations during the steady state. The anaerobic atmosphere in the bioreactor is auto-preserved by the metabolic gas produced therefore conferring an auto-regulatory control. The results show a stability of the metabolic activity and of the microbial constitution during the same experimental conditions, thus allowing the *in-vitro* maintenance of a microbiota obtained from a stool-derived inoculum. Modification of the dilution rate (from  $D=0.08\text{h}^{-1}$  to  $D=0.04\text{h}^{-1}$ ) in chemostat cultures led to microbial changes without affecting the short chain fatty acids production, and was mostly reversible. At last, a frozen batch-culture preserved in glycerol leads to similar results one-year after the first experiments, at both a metabolic and constitutive point of view. Combined with appropriate analytical techniques, this system provides an alternative, valuable and efficient model to study the human microbiota in various conditions and its adaptability to modifications of nutritional and environmental conditions. It could also allow for the testing of biotic factors.

## P19

### **3S-ERSIM: a 3-stage continuous model for the assessment of the microbial metabolic behavior in the 3 functional parts of the human colon**

**David FERIA-GERVASIO<sup>1</sup>, Estelle PUJOS<sup>2</sup>, Jean-François MARTIN<sup>2</sup>, Jean-Louis SEBEDIO<sup>2</sup>, Monique ALRIC<sup>1</sup> and Jean-François BRUGERE<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ERT-18 CIDAM, Université d'Auvergne, Clermont-Université, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

<sup>2</sup>Plate-forme Métabolisme et Spectrométrie de Masse, Unité de Nutrition Humaine, INRA Clermont-Ferrand-Theix, France

[J-Francois.BRUGERE@u-clermont1.fr](mailto:J-Francois.BRUGERE@u-clermont1.fr)

An *in-vitro* model was designed for simulating the different parts of the human colon. It is composed of a three-stage system able to reproduce independently the physico-chemical conditions of the ascending, transversal and descending segments. It is initially inoculated with a microbiota obtained from a pre-culture-batch of human feces. The module that mimics the ascending colon is continuously fed with a controlled and in-course modifiable medium. The two other fermentor-based systems are then serially disposed and fed each with the preceding compartment. Retention times (*i.e.* dilution rates) are determined accordingly to the *in-vivo* data from the bibliography.

Validation was performed with several microbiological and metabolic parameters, in particular biomass, off-gas analysis, short chain fatty acids constitution, bacterial enumerations with adapted culture media (total anaerobes and total facultatives anaerobes, *Bacteroides* spp., Bifidobacteria, *Clostridium* spp., Enterobacteria and *Lactobacillus* spp.) and metabolomic analyses. Results indicate that a steady state is obtained and that conditions are sufficiently controlled to permit reproducible experiments. Moreover, results highlight the important role of retention time on the metabolic behavior of the colonic microbiota: for example, LC-MS metabolomic analyses reveal many different peaks between the proximal colon conditions explored using a “normal” or an “elevated” retention time.

In conclusion, this *in-vitro* system allows differential analyses, e.g. between metabolomic data from the culture medium vs a sample from the “proximal” compartment, or between samples of an identical compartment in two different experimental conditions, in order to simplify analyses of large-scale metabolomic data.

## P20

### **Etude de l'expression du gène MeCP2 sur des lignées de cellules humaines mammaires par Western blotting après traitement par les phyto-œstrogènes du soja**

**Stéphane Garcia, Nicolas Sonnier, Rémy Bosviel, Mawussi Adjakly, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon**

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

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

La Génistéine et la Daidzéine, deux phyto-œstrogènes du soja, pourraient agir par des mécanismes épigénétiques dans les cancers du sein.

Notre objectif était de mettre en évidence les variations d'expression de la protéine MeCP2, intervenant dans la méthylation de l'ADN, après traitement des cellules par les isoflavones du soja.

*La protéine MBD (Methyl Binding Domain), MeCP2, a été mise en évidence au niveau du promoteur hyperméthylé de BRCA1. Par son domaine MBD, elle se lie aux 5-méthylcytosines des îlots CpG. Son domaine TRD (Transcriptional Repression Domain) permet le recrutement de complexes qui ont des activités de modifications post traductionnelles des histones : en effet, le TRD va pouvoir agir avec une HDAC (Histone DésACétylase), par l'intermédiaire d'un corépresseur transcriptionnel SIN3, induisant une désacétylation. Le complexe SWI/SNF, en se liant au domaine TRD, va remodeler la chromatine en la condensant, entraînant ainsi un silencing transcriptionnel. MeCP2 est à l'interface des processus de méthylation de l'ADN et des modifications des histones d'où l'intérêt de son étude.*

Nous avons traité les cellules: MCF7, MDA-MB231 et MCF10a par la génistéine, la daidzéine, la budésonide et la 5-azacytidine.

Nous avons utilisé le Western blotting pour mettre en évidence les variations d'expression de la protéine MeCP2 avec l'anticorps polyclonal anti-MeCP2 (N17). Nous avons obtenu une déméthylation par la génistéine et la daidzéine, se traduisant par une diminution de MeCP2. Et avec la budésonide qui méthyle l'ADN, nous avons augmenté l'expression de MeCP2.

Ainsi, il faudrait poursuivre avec une autre méthode d'analyse globale des modifications épigénétiques : l'imagerie cellulaire.



## P21

### **Prévention des Cancers de la Prostate avec Oncodiag: Sa Démarche Marketing en Emergence**

**Benoit Mélan, Nadège Rabiau, Mawussi Adjakly, Laurent Guy, Jean-Paul Boiteux, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon**

Centre Jean Perrin – Département d'oncogénétique - EA 4233 "Nutrition, Cancérogenèse et Thérapie anti-tumorale - Centre Biomédical de Recherche et de Valorisation 1<sup>er</sup> étage- 28 place Henri Dunant BP 38 - 63001 Clermont-Ferrand – France

[benoit.melan@orange.fr](mailto:benoit.melan@orange.fr)

Le cancer de la prostate est le premier cancer chez l'homme et reste la deuxième cause de mortalité par cancer. Il représente un réel problème de santé publique.

Ces dernières années de nombreuses études se sont intéressées aux mécanismes moléculaires impliqués dans la survenue de cette pathologie. Elles ont notamment révélé une variation du profil d'expression des gènes au sein des cellules tumorales. Ceci est à la base de la société Oncodiag avec un panel de 15 gènes, dans le but d'améliorer le pronostic pour ce type de cancer.

Cependant la création de l'entreprise Oncodiag doit s'accompagner d'une démarche marketing afin de définir comment et par quels moyens, Oncodiag permettra de répondre aux besoins de ses futurs clients et à la menace de ses concurrents potentiels. C'est-à-dire le modèle économique (type d'organisation interne et externe adopté par l'entreprise pour générer le maximum de valeur) qu'elle devra adopter. Plusieurs modèles économiques sont envisageables pour la société Oncodiag, potentiellement complémentaires entre eux et sont au nombre de quatre. Le premier est celui du « licensing » : vente auprès des centres hospitaliers et des laboratoires de licences et de droits d'exploitation avec des efforts concentrés sur la Recherche et le Développement (R&D) afin de renouveler l'offre de licences. Le deuxième est celui de l'intégration/absorption : Oncodiag serait intégré dans les efforts de recherche d'un laboratoire ou d'un groupe privé avec une absorption possible contre un rachat de brevet. Le modèle suivant consiste en la distribution de kits de pronostic : la société fait appel à un fournisseur afin de commercialiser son kit composé du matériel adéquat et du protocole à suivre avec un effort constant en R&D afin de développer de nouveaux kits. Le dernier est celui du centre d'analyses avec récupération des biopsies auprès des centres hospitaliers et de recherche, exploitation de celles-ci et interprétation des résultats.

Ainsi ce choix est primordial pour la pérennité et l'avenir d'Oncodiag.

## P22

### **Les enzymes de restriction sensibles à la méthylation de l'ADN démontrent l'action déméthylante des phyto-œstrogènes du soja dans les lignées continues humaines de cancer de la prostate PC-3 et DU-145**

**Mawussi Adjakly, Rémy Bosviel, Nadège Rabiau, Jean-Paul Boiteux, Yves-Jean Bignon, Laurent Guy, Dominique Bernard-Gallon.**

Département d'Oncogénétique du Centre Jean Perrin, CBRV  
28 Place Henri Dunant 63001 Clermont-Ferrand cedex 1

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

Les phyto-œstrogènes du soja sont capables d'induire un effet antiprolifératif sur des cellules prostatiques mais aussi une inversion des modifications épigénétiques observées dans les cellules du cancer de la prostate. Le but de ce travail est d'étudier les modifications de la méthylation de l'ADN induites par différentes isoflavones du soja (génistéine, daidzéine) dans deux lignées continues humaines de cancer de la prostate (DU-145 et PC-3).

Les cellules sont traitées pendant 48H avec la génistéine, la daidzéine, la 5-azacytidine, un agent déméthylant et la budésone un agent méthylant par comparaison avec des cellules non traitées. Nous étudions actuellement la méthylation de l'ADN pour les oncosuppresseurs *BRCA1*, *BRCA2* et *GSTP1*. L'étude de la méthylation se fait grâce à la technique de Methyl-Profilier-DNA methylation (SABiosciences) (sans modification au bisulfite de sodium).

Les résultats préliminaires obtenus sur la lignée PC-3 montrent un pouvoir déméthylant de la génistéine ainsi que de la daidzéine pour les gènes *BRCA1* et *GSTP1*. Pour la lignée DU-145, on note aussi un effet déméthylant de la génistéine et un effet non-notable de la daidzéine sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. La 5-azacytidine et la budésone utilisées à titre comparatif sont respectivement fortement déméthylante et méthylante sur les deux lignées et l'ensemble des gènes étudiés.

## P23

### **Evaluation du rôle du microenvironnement adipocytaire dans la cancérogenèse mammaire *via* un modèle de culture tridimensionnelle et de co-cultures**

**Delort L.<sup>1,2</sup>, Lequeux C.<sup>5</sup>, Dubois V.<sup>1,2</sup>, Billard H.<sup>1,2</sup>, Damour O.<sup>5</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, Université d'Auvergne ; <sup>3</sup>Unité de Nutrition, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand ; <sup>4</sup>Cancéropole Lyon Auvergne Rhône-Alpes (CLARA), <sup>5</sup>Banque de tissus et de cellules, Hôpital Edouard-Herriot, 69437 Lyon

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

L'obésité est aujourd'hui reconnue comme un facteur de risque de cancer du sein en particulier chez la femme ménopausée. De plus, le microenvironnement tumoral, notamment adipocytaire, semble impliqué dans ce processus de cancérogenèse. En effet, ce dernier est capable de sécréter un certain nombre de molécules appelées adipokines dont les concentrations sont modulées en situation d'obésité. L'objectif de ce travail était donc de caractériser le rôle du tissu adipeux et de ses produits de sécrétion dans la cancérogenèse mammaire par deux approches expérimentales. Dans un premier temps, un modèle original tridimensionnel de peau reconstruite adipeuse, reconstituant l'environnement adipocytaire englobant la tumeur mammaire, a été développé en collaboration avec une équipe lyonnaise. Dans ce modèle, des fibroblastes et des préadipocytes sontensemencés sur un substrat dermique. Après 3 semaines de culture, les cellules cancéreuses (MCF7, MDA-MB-231) ou non cancéreuses (MCF10a) sont déposées à la surface du derme équivalent adipeux reconstitué. La faisabilité de ce modèle 3D est en cours de validation par des analyses moléculaires et immunohistochimiques via l'étude de l'expression d'adipokines telles que la leptine, l'adiponectine et leurs récepteurs. Dans un second temps, un modèle de co-cultures entre des cellules cancéreuses ou non cancéreuses et des pré-adipocytes prélevés sur des individus de poids normal (IMC=20, n=2) ou obèses (IMC=30, n=2) a été mis en place. Cette étude préliminaire montre une prolifération des cellules cancéreuses (MCF7, MDA-MB-231) plus importante en présence des pré-adipocytes provenant d'individus obèses (+35% et 39% respectivement) par rapport à des individus d'IMC normaux (+9%). Les cellules non cancéreuses voient leur prolifération augmenter mais indépendamment de l'IMC des pré-adipocytes étudiés (+25%, +22%). Les perspectives de ce travail sont 1) de poursuivre l'étude des co-cultures en présence d'adipocytes matures ; 2) de tester l'impact des préadipocytes différenciés provenant d'individus d'IMC différents dans le modèle de culture tridimensionnelle.

## P24

### Androgens and Liver-X-receptors interact to maintain prostate integrity

**Viennois E**<sup>1,2,\*</sup>, **Pommier A.**<sup>1,2</sup>, **Alves G.**<sup>1,2</sup>, **Dufour J.**<sup>1,2</sup>, **Caira F.**<sup>1,2</sup>, **Baron S.**<sup>1,2</sup>,  
**Morel L.**<sup>1,2</sup>, **Lobaccaro JM. A.**<sup>1,2</sup>

UMR CNRS 6247 INSERM U931, Clermont Université, 24 avenue des Landais, 63177 Aubière Cedex

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

Oxysterols (LXR) and androgen (AR) receptors belong to the nuclear receptor superfamily. They act as transcription factors regulated by ligand binding. Androgens are well known factors involved in prostate physiology and are pharmacologically targeted in both prostate cancer and benign prostatic hyperplasia (BPH). Oxysterols function in prostate remains unknown, we thus decide to investigate their role using *Lxr* deficient mice model.

Histological analysis of *Lxr $\alpha$* <sup>-/-</sup> mice revealed abnormal dilatation of ventral prostate lobes. This was correlated with an over-accumulation of secreted proteins, such as spermine binding protein (Sbp). Increased expression of androgen-dependent genes encoding secretory proteins Sbp, Svs2 (seminal vesicle secretion 2) and Spp1 (secreted phosphoprotein 1) was observed. These data suggest a crosstalk between LXR and AR functions within prostate. Although *Lxr $\alpha$* <sup>-/-</sup> mice showed higher plasma concentration of testosterone, intra-prostatic levels of DHT remained unchanged. In order to investigate the role of LXR $\alpha$  on androgen signaling in the prostate, we performed castration and testosterone supplementation. After 3 weeks, androgen ablation led to drastic reduction of ventral prostate weight and *sbp* transcript in both wild-type and *Lxr $\alpha$* <sup>-/-</sup> mice. Nevertheless, the *sbp* gene expression remains 40-fold induced in *Lxr $\alpha$* <sup>-/-</sup> castrated mice than in wild-type castrated mice. Given that, these results suggest that *sbp* could be directly regulated by LXR $\alpha$ . Moreover, castration and testosterone supplementation experiments reveal that *sbp* exhibits a hyper-sensitivity to androgen induction. Taken together, we may conclude that LXR $\alpha$  and AR could cooperate onto *sbp* promoter. Indeed, bioinformatics analysis reveals the presence of various LXRE suggesting that *sbp* could be a direct target of LXR $\alpha$ . Functionality of these sites remains under investigation.

In summary, the lack of LXR $\alpha$  results in androgen hypersensitivity on specific androgen-regulated genes, probably consecutive to the LXR absence on the promoter. Given that *Lxr $\alpha$* <sup>-/-</sup> mice exhibit a prostatic epithelial hypersensitivity to androgens. *Lxr $\alpha$* <sup>-/-</sup> mice could thus be a useful model to study prostate diseases like BPH and their etiologies.

Part of this work has been supported by grants from Auvergne Region, Feder, ARC, Ligue Auvergne contre le cancer, ARTP, FRM and foundation BNP-Paribas

## Impact d'un régime hyper-calorique sur le développement tumoral mammaire : approche expérimentale chez la souris « nude ».

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

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

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

**Introduction :** La part de l'alimentation dans l'apparition du cancer du sein est estimée à 35%<sup>1</sup>. Une consommation excessive de calories est corrélée à la croissance tumorale<sup>2</sup>. Le but de cette étude est d'évaluer l'impact d'un régime hyper-calorique vs normo-calorique sur la croissance tumorale chez des souris porteuses de tumeurs mammaires humaines. **Matériel et méthodes :** Des souris Balb-c « nude » femelles ont été randomisées en 2 groupes : le premier a été soumis à un régime hyper-calorique (HC : 5,32 kcal/g, L/G/P en % : 36/35/18) et le second un régime normo-calorique (NC : 2,82 kcal/g, L/G/P en % : 3/60/18) pendant 6 mois. Au bout de 5 mois, la moitié des souris de chaque groupe a reçu une injection de cellules cancéreuses mammaires dans du matrigel (MCF-7 : 2.10<sup>6</sup> cellules ; NCT, HCT) au niveau de la glande mammaire et l'autre moitié du matrigel uniquement (NC, HC). La prise alimentaire, l'évolution pondérale et la composition corporelle par absorptiométrie biphotonique ont été mesurées. Le poids et le volume tumoral ont également été évalués.

Résultats :	NC	NC T	HC	HC T
Ingesta (kcal/j)	17,3 ± 2,1 <sup>a</sup>	17,7 ± 2,4 <sup>a</sup>	25,6 ± 9,3 <sup>b</sup>	24,0 ± 8,1 <sup>b*</sup>
Poids (g)	23,6 ± 2,95	24,01 ± 1,72	23,93 ± 1,37†	21,97 ± 1,53*
Masse grasse (g)	2,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,3 <sup>b†</sup>	2,2 ± 0,3 <sup>a</sup>
Masse maigre (g)	19,5 ± 2,6 <sup>a</sup>	18,7 ± 1,6 <sup>ab</sup>	18,7 ± 1,2 <sup>ab†</sup>	16,6 ± 0,8 <sup>b*</sup>
Tumeur : Volume (mm <sup>3</sup> )		378,8 ± 213,0		707,2 ± 255,7*
Poids (mg)		357,8 ± 236,3		553,1 ± 253,5

(Moyenne ± SD, ANOVA 2 voies+PLSD Fisher, a ≠ b, p<0,05 ; Test U de Mann-Whitney, NCT vs HCT, \*p <0 05, HC vs HCT, † p<0,05)

**Conclusion :** Les souris HC présentent une masse grasse significativement supérieure aux souris NC sans développer de surpoids. La croissance tumorale, accrue sous régime HC, est associée à une diminution significative de la masse grasse, de la masse maigre et du poids corporel sans modification de la prise alimentaire. Ces résultats témoignent de l'impact du développement tumoral sur l'équilibre métabolique de l'hôte.

<sup>1</sup>World Cancer Research Fund. 2007; <sup>2</sup>Cleary et al. Int J Obes Relat Metab Disord. 2004