

7^{ème} Journée Scientifique du CRNH Auvergne

Pôle Physique des Cézeaux, 20 novembre 2014

Organisation : Bureau CRNH Auvergne



Programme

8h00 Accueil, installation des posters

9h00 Introduction (N. Cano)

9h15-10 h00 Tissus osseux et musculaire (Y. Wittrant)

- CO1 Le DHA restaure la sensibilité musculaire à l'insuline en inhibant l'activation de la PKC-theta par les céramides.
F Capel, A Pinel, C Acquaviva, E Pitois, B Laillet, JP Rigaudiere, C Jouve, C Pouyet, B Morio.
- CO2 Hypoalbuminémie du sujet obèse non agressé : marqueur de dénutrition ou de surnutrition ?
Nicolas Farigon, Florence Montel, Magalie Miolanne, Yves Boirie
- CO3 L'entraînement en endurance combiné à une intervention nutritionnelle active la voie de signalisation NRG1/ErbB dans le muscle squelettique de rats obèses.
Gaël Ennequin, Nathalie Boisseau, Kevin Caillaud, Vivien Chavanelle, Maude Gerbaix, Lore Metz, Monique Etienne, Stephane Walrand, Aurélie Masgrau, Christelle Guillet, Daniel Courteix, Yi-Ping Li, Frédéric Capel, Pascal Sirvent

10:00- 10:30 pause

10h30 –11h15 Axe cardiométabolique (C. Gladine)

- CO4 Transcriptomic and epigenomic changes in human leukocytes upon 8 weeks supplementation with monomeric and oligomeric flavanols.
D. Milenkovic, W. Vanden Berghe, K. Heyninck, K. Szarc vel Szic, F. Fuks, C. Gerhauser, G. Haegeman, Haenen GRMM, A. Bast, AR. Weseler
- CO5 Mini porc cathétérisé sous régime « Western » et approches de métabolomique : Une nouvelle approche pour étudier l'insulino-résistance ?
S. Polakof, D.Rémond, M. Rambeau, E. Pujos-Guillot, JL Sébédio, D. Dardevet, B. Comte, I. Savary-Auzeloux
- CO6 Impact de l'hépatosidérose dysmétabolique sur la capacité de polarisation des macrophages.
Clément Lahaye, Cécile Gladine, Marc Berger, Juliette Berger, Marc Ruivard, André Mazur

11h15 -12h05 Conférence : Tom Van de Wiele (de l'université de GAND, Belgique)

« Host-microbe interactions and microbial pathogenesis in the gut mucosal micro-environment »

12:15 – 13 :30 Repas

13h30 – 14h30 Posters

14h30 – 15h15 Axe cancer (L. Delort)

- CO7 Métabolisme du cholestérol et cancer de la prostate: recherche de biomarqueurs – Etude ChoMeCaP.
Olivier Celhay, Laurent Guy, Jean-Louis Kemeny, Valerio Leoni, Amalia Trousson, Anthony Alioui, Jean-Marc Lobaccaro, Silvère Baron
- CO8 Impact de l'obésité et de l'activité physique sur la cancérogenèse mammaire chez la souris C57/BL6.
S. Mahbouli, S. Rougé, M-C Farges, I. Miladi, C. Montaurier, A. Rossary, MP. Vasson
- CO9 La drosophile : un modèle unique d'étude de la poly-(ADP-ribosyl)ation en réponse aux cassures double-brins de l'ADN.
Layal Ishak, Isabelle Balandier, Mathilde Chéron, Serge Alziari, Géraldine Farge, Philippe Lachaume, Frédéric Morel, Patrick Vernet, Pascal Dubessay

15h15 – 16h00 Tractus gastro-intestinal (J-F. Brugère)

- CO10 Rôle de la voie de signalisation GCN2/eIF2alpha/ATF4 dans l'activation de l'autophagie suite à l'infection par des Escherichia coli adhérents et invasifs associés à la maladie de Crohn.
Jessica Carrière, Alexis Bretin, Guillaume Dalmasso, Nicolas Barnich, Anne-Catherine Maurin, Alain Bruhat, Arlette Darfeuille-Michaud, Hang T. T. Nguyen
- CO11 Acides biliaires et syndrome métabolique : et la fertilité dans tout ça !!!?
Aurélié Vega, Emmanuelle Martinot, Marine Baptissart, Jean-Marc A. Lobaccaro, David H. Volle.
- CO12 Effet d'un traitement chronique à la prégabaline sur l'hypersensibilité colique et les paramètres inflammatoires associés, chez la souris.
L. Boudieu, M. Meleine, A. Gelot, A. Eschalié, F. Carvalho, D. Ardid

POSTERS

Tissus osseux et musculaire (C. Guillet – I. Papet)

- P1 UBE2B is implicated in myofibrillar protein loss in catabolic C2C12 myotubes
Roza Leulmi, Cécile Polge, Agnès Claustre, Marianne Jarzaguet, Daniel Béchet, Lydie Combaret, Didier Attaix, Daniel Taillandier
- P2 Looking for E2s enzymes interacting with the E3 ubiquitin ligase MuRF1 during muscle wasting
Cécile Polge, Roza Leulmi, Christiane Deval, Lydie Combaret, Agnès Claustre, Daniel Béchet, Didier Attaix, Daniel Taillandier
- P3 Hydrolyzed collagen promotes osteoblast differentiation in vitro and bone health in ovariectomized mice
Audrey Daneault, Véronique Coxam, Veronique Fabien Soulé, Janne Prawitt, Yohann Wittrant
- P4 Une consommation chronique élevée en sucre accélère la sarcopénie et perturbe la sensibilité à l'insuline et la stimulation post-prandiale de la synthèse protéique musculaire chez le rat âgé
Eva Gatineau, Isabelle Auzeloux, Sergio Polakof, Dominique Dardevet, Laurent Mosoni
- P5 La carence en vitamine D diminue l'activité de la voie Notch contribuant à l'atrophie du muscle squelettique du rat Wistar âgé
Carla Domingues-Faria, Audrey Chanet, Jérôme Salles, Alexandre Berry, Christophe Giraudet, Véronique Patrac, Philippe Denis, Katia Bouton, Nicolas Goncalves-Mendes, Marie-Paule Vasson, Yves Boirie, Stéphane Walrand
- P6 Caractéristiques de l'architecture musculaire chez l'adolescente obèse
Sebastian Garcia Vicencio, Vincent Martin, Virginie, Kluka, Charlotte Cardenoux, Anne-Gaëlle Jegu, Anne-Véronique Fourot, Emmanuel Coudeyre, Sébastien Ratel
- P7 Impact de l'obésité sur les mécanismes centraux et périphériques de la fatigue neuromusculaire chez l'adolescente
Sebastian Garcia Vicencio, Vincent Martin, Virginie, Kluka, Charlotte Cardenoux, Anne-Gaëlle Jegu, Anne-Véronique Fourot, Emmanuel Coudeyre, Sébastien Ratel

Axe cardiométabolique (C. Malpuech Brugère – E. Rock)

- P8 Polyphenols affect the interaction between monocytes and vascular endothelium
Laurent-Em. Monfoulet, Sylvie Mercier, Dragan Milenkovic, Christine Morand
- P9 Integrated and predictive approach for identifying determinants of health changes: role of nutrition – The DIAPASON project
C Dion, M Plessz, E Herquelot, M Pétéra, S Gojard, S Czernichow, M Zins, M Goldberg, E Pujos-Guillot, B Comte
- P10 COST Action POSITIVE (FA1403): Interindividual variation in response to consumption of plant food bioactives
Morand Christine, Manach Claudine, Milenkovic Dragan
- P11 Pathway-27 : Etude Pilote sur les effets de substances bioactives sur la santé et le bien-être
C. Malpuech-Brugère, L. Ricciardiello, N. Cano, A. Bub, C. Orfil, JL. Sébédio, A. Bordoni (coordinatrice), au titre du consortium pathway-27 - Grant agreement no. 311876

COMMUNICATIONS ORALES

CO1

Le DHA restaure la sensibilité musculaire à l'insuline en inhibant l'activation de la PKC-theta par les céramides

F Capel¹, A Pinel¹, C Acquaviva², E Pitois¹, B Laillet¹, JP Rigaudiere¹, C Jouve¹, C Pouyet³, B Morio¹

(1) UNH, INRA, Clermont-Ferrand, 2UNH, INRA, Saint Genès Champanelle, France

(2) Service Maladies Héréditaires du Métabolisme, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon, France

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

Frederic.capel@clermont.inra.fr

Les métabolismes lipidiques et énergétiques sont intrinsèquement liés et jouent un rôle central dans l'apparition de la résistance à l'insuline dans le muscle squelettique. Ce phénomène implique notamment le stress oxydant, l'inflammation et/ou une lipotoxicité qui sont eux-mêmes influencés par le degré de saturation et les taux cellulaires et circulants d'acides gras et de leurs métabolites. Il est bien connu que les acides gras saturés (AGS) favorisent la résistance à l'insuline. En s'opposant à certains effets des AGS, les acides gras polyinsaturés n-3 à longue chaîne (AGPI n-3-LC) seraient protecteurs contre l'insulinorésistance. Les relations entre les mécanismes de transport des acides gras, la signalisation de l'insuline et le métabolisme musculaire sont mal connues. Nous avons analysé les effets d'un AGPI n-3-LC, le DHA (30µM) sur la cellule musculaire de type C2C12 traitée au palmitate (500µM). La sensibilité à l'insuline a été évaluée par la quantification de la phosphorylation de la protéine Akt et la captation de glucose. La lipotoxicité a été quantifiée par la mesure des taux d'acyl carnitines, de céramides, la phosphorylation de la PKC-theta et l'expression de cytokines pro-inflammatoires.

Le DHA restaure la sensibilité des myotubes C2C12 au niveau de la signalisation et de la captation de glucose qui a été réduite par le palmitate. Alors que l'élévation des taux cellulaires de céramides induit l'activation de la PKC-theta, l'inhibition de leur synthèse par la myriocine réduit cet effet et restaure partiellement l'insulinosensibilité. La modification du profil cellulaire en acyl carnitine, observée en présence de palmitate est restaurée en présence de DHA, suggérant une normalisation du fonctionnement de la beta-oxydation par cet AGPI n-3-LC. Ce résultat est confirmé par une amélioration des taux d'ARNm des Cpt1a et 1b. En outre, le DHA réduit les niveaux d'expression des cytokines inflammatoires qui sont fortement induits par le palmitate. Nous montrons la première fois un effet bénéfique du DHA sur l'insulinosensibilité musculaire à une dose physiologique. Cet AG régule favorablement la lipotoxicité induite par un AGS en régulant les teneurs cellulaires en céramides et en réprimant les processus inflammatoires et l'activation de la PKC-theta.

CO2

Hypoalbuminémie du sujet obèse non agressé : marqueur de dénutrition ou de surnutrition ?

Nicolas Farigon^(1,2), Florence Montel⁽¹⁾, Magalie Miolanne⁽¹⁾, Yves Boirie^(1,2)

(1) Nutrition Clinique, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand ;

(2) Laboratoire de Nutrition Humaine, Clermont-Ferrand

nfarigon@chu-clermontferrand.fr

L'examen clinique pour le dépistage de la dénutrition est souvent pris à défaut en cas d'obésité. L'albuminémie semble être un paramètre adapté pour dépister la dénutrition chez le patient obèse. Cependant, d'autres facteurs tels que l'inflammation ou l'hémodilution pourraient expliquer une hypoalbuminémie. La surnutrition, inductrice de troubles métaboliques pourrait diminuer l'albuminémie. Le but de cette étude est de déterminer si l'hypoalbuminémie chez le sujet obèse non agressé est plutôt un marqueur de l'inflammation, de dénutrition, ou au contraire un marqueur de surnutrition.

Dans une population de 630 sujets, avec un âge moyen de 44 ± 14 ans, un IMC moyen de 42 ± 7 kg/m² et une albuminémie moyenne de 36 ± 3 g/L, l'hypoalbuminémie était associée de façon significative à une inflammation (OR = 1,06 ; IC [1,024 ; 1,089] ; $p < 0,001$), un indice de masse grasse (IMG) élevé (OR = 1,10 ; IC [1,050 ; 1,147] ; $p < 0,001$), et un hématoците bas (OR = 0,90 ; IC [0,835 ; 0,973] ; $p = 0,008$). Il n'a pas été mis en évidence de relation entre l'albuminémie et l'indice de masse maigre (IMM) mesuré par bioimpédancemétrie, ou le HOMA-IR. Dans une deuxième population comparable ($n = 385$), avec un âge moyen de 44 ± 13 ans, un IMC moyen de 43 ± 7 kg/m² et une albuminémie moyenne de $38,4 \pm 4$ g/L avec une autre technique de dosage, une CRP > 5 mg/L était associée à une albuminémie moyenne de 37,7 g/L contre 38,7 g/L ($p = 0,005$). Un IMG > 20 kg/m² était associé à une albuminémie moyenne de 37,4g/L contre 38,6 g/L ($p = 0,003$). Aucun lien n'a été trouvé entre une diminution de l'albuminémie et un IMM < 24 kg/m² ($p = 0,96$) ou un hématoците $< 40\%$ ($p = 0,44$).

L'hypoalbuminémie chez le sujet obèse non agressé serait un reflet de l'adiposité, de l'inflammation voire de lipotoxicité et non un marqueur de sarcopénie ou de dénutrition.

CO3

L'entraînement en endurance combiné à une intervention nutritionnelle active la voie de signalisation NRG1/ErbB dans le muscle squelettique de rats obèses

Gaël Ennequin^{1,2}, Nathalie Boisseau^{1,2}, Kevin Caillaud^{1,2}, Vivien Chavanelle^{1,2}, Maude Gerbaix^{1,2}, Lore Metz^{1,2}, Monique Etienne^{1,2}, Stephane Walrand^{2,3,4}, Aurélie Masgrau^{2,3,4}, Christelle Guillet^{2,3,4}, Daniel Courteix^{1,2}, Yi-Ping Li⁵, Frédéric Capel^{2,3,4}, Pascal Sirvent^{1,2}

(1) Clermont Université, Université Blaise Pascal, EA 3533, Laboratoire AME2P, BP 80026, F-63171 Aubière Cedex, France;

(2) CRNH-Auvergne, Clermont-Ferrand, F-63001 France;

(3) INRA, UMR 1019, Clermont-Ferrand, F-63001 France;

(4) Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, F-63001 France

(5) University of Texas Health Science Center, Houston, TX 77030, USA

Pascal.sirvent@univ-bpclermont.fr

La neuréguline 1 (NRG1) est une protéine activée par la contraction musculaire et potentiellement impliquée dans la régulation du métabolisme glucidique. L'objectif de ce travail était d'évaluer dans quelle mesure un entraînement en endurance combiné ou non à une intervention nutritionnelle pouvait activer la NRG1 et ses récepteurs, les ErbBs, dans le muscle squelettique de rats obèses. Aucune modification de l'expression ou de l'état d'activation de la NRG1 et de ses récepteurs n'était observée dans le muscle squelettique (gastrocnemius) de rats rendus obèses par 16 semaines d'un régime enrichi en graisse et en sucre. En revanche, 8 semaines d'un entraînement en endurance sur tapis roulant (5x40min par semaine à 10m/min) combiné à un retour à un régime nutritionnel équilibré induisaient une augmentation de la forme active (clivée) de la NRG1 ainsi qu'une élévation de la phosphorylation du récepteur ErbB4 chez les rats obèses. L'expression musculaire de la protéase ADAM17, impliquée dans le clivage de la NRG1, était également augmentée chez ces mêmes animaux. Lorsque l'entraînement ou l'intervention nutritionnelle étaient réalisés de manière isolée, aucun de ces effets n'était observé, démontrant un impact synergique de ces deux types d'interventions. In vitro, sur des cellules primaires isolées de muscles de rats, l'activation d'ADAM17 conduisait également à une augmentation de l'activité de la voie NRG1/ErbB4, renforçant l'hypothèse d'un lien mécanistique entre ces deux phénomènes in vivo. En conclusion, l'activation de la voie NRG1/ErbB pourrait participer aux effets bénéfiques observés sur le métabolisme glucidique musculaire lors d'interventions nutritionnelles ou de prise en charge par l'activité physique dans un contexte de pathologie métabolique.

CO4

Transcriptomic and epigenomic changes in human leukocytes upon 8 weeks supplementation with monomeric and oligomeric flavanols

Milenkovic D.¹, Vanden Berghe W.^{2,3}, Heyninck K.³, Szarc vel Szic K.², Fuks F.⁴, Gerhauser C.⁵, Haegeman G.³, Haenen GRMM.⁶, Bast A.⁶, Weseler AR.⁶

- (1) UNH1019 Unité de Nutrition Humaine, INRA Research Centre Clermont-Ferrand/Theix, Clermont-Ferrand, France
- (2) University of Antwerp, Antwerp, Belgium
- (3) University of Gent, Gent, Belgium
- (4) Free University of Brussels, Brussels, Belgium
- (5) DKFZ Heidelberg, Heidelberg, Germany
- (6) Dept. of Toxicology, Maastricht University, Maastricht, The Netherlands

dragan.milenkovic@clermont.inra.fr

A recent randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial unveiled pleiotropic health benefits in the vasculature of healthy male smokers upon 8 weeks supplementation with daily 200 mg flavanols. In order to unravel the flavanols' underlying molecular mechanisms, we investigated the transcriptomic and epigenomic changes in leukocytes. Gene expression analysis (microarrays) revealed significant changes in various cellular processes like chemotaxis, cell adhesion, or cytoskeleton organization. Transcription factor analysis identified NF- κ B as a main affected inflammatory regulator. In-vitro studies have confirmed inhibition of NF- κ B-mediated gene transcription in reporter-gene assays and attenuation of monocytes' adhesion to endothelial cells. Genome-wide DNA methylation changes occurred in gene clusters involved in detoxification, metabolism and cell adhesion. Although individually the flavanol intervention triggered significant changes in DNA methylation levels (>10%) of 0.2-1% of the methylome, no common flavanol-specific DNA methylation response was seen. Inter-individual variability in genes' DNA methylation levels could be linked to long-term smoking history, overruling diet specific effects of an 8-weeks intervention. Altogether, flavanols may elicit protective effects in the vasculature by decreasing inflammatory and cell adhesion pathways at the transcriptional level. Moreover, smoking history may be a confounding factor in epigenetic profiling studies of leukocytes from subjects involved in a flavanol-rich diet intervention.

CO5

Mini porc cathétérisé sous régime « Western » et approches de métabolomique : Une nouvelle approche pour étudier l'insulino-résistance?

S. Polakof^{1,2}, D.Rémond^{1,2}, M. Rambeau^{1,2}, E. Pujos-Guillot^{1,2}, JL Sébédio^{1,2}, D. Dardevet^{1,2}, B. Comte^{1,2}, I. Savary-Auzeloux^{1,2}

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

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

Isabelle.savary@clermont.inra.fr

Afin d'étudier les transitions nutritionnelles et l'insulino-résistance (IR) nutri-induite, l'exploration en cinétique du métabolome associée avec des mesures de métabolites ciblés chez le mini porc ouvre des perspectives nouvelles pour la compréhension des mécanismes adaptatifs mis en jeu au cours du développement de l'IR induite par l'ingestion d'un régime riche en sucres et graisses (type Western diet, WD).

Six mini porcs sont équipés d'un cathéter en aorte et nourris 60 jours avec un régime enrichi en lipides et sucres (4 fois plus d'énergie apportée sous forme de lipides que dans un régime témoin). Des échantillons de sang et d'urine sont prélevés sur les animaux à jeun et en période post prandiale avant (T0) et après 1 (T1), 7 (T7), 14 (T14) et 56 jours (T56) d'adaptation à un régime WD. Les métabolites plasmatiques sont déterminés par des techniques de biochimie classique et le métabolome urinaire par UPLC-QToF. Les données métabolomique sont analysées par analyse multivariée de type OPLS-DA et les métabolites plasmatiques par ANOVA 1 facteur.

A partir de T14 jusqu'à la fin de l'expérimentation, les animaux présentent des hyperglycémie et hyperinsulinémie plasmatiques significatives à jeun (associé à un index HOMA-IR augmenté), confirmant l'installation de l'IR à T14. Le métabolome urinaire est altéré différemment et présente un profil biphasique : Une première étape d'adaptation précoce au régime (dans les 7 premiers jours) suivi d'une deuxième étape plus progressive (de T7 à T60) liée à une altération plus spécifique du métabolome endogène. Des métabolites spécifiques ont été mis en évidence dans l'urine très précocement, c'est-à-dire avant que les paramètres classiques de l'IR (glucose, insuline) soient significativement altérés (dès T7).

Par conséquent, l'investigation du métabolome urinaire, en combinaison avec des méthodes plus « classiques » d'investigation de l'IR (paramètres plasmatiques) est intéressante pour déterminer les étapes de cinétique clé et les mécanismes sous-jacents expliquant l'installation de l'IR.

CO6

Impact de l'hépatosidérose dysmétabolique sur la capacité de polarisation des macrophages

Clément Lahaye^{1,2}, Cécile Gladine¹, Marc Berger³, Juliette Berger³, Marc Ruivard², André Mazur¹

(1) Equipe MICROCARD

UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine, INRA-THEIX

(2) Service de médecine interne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand

(3) Laboratoire d'hématologie, CHU Estaing, Clermont-Ferrand

lahaye.clement@orange.fr

Les macrophages présentent un large spectre de polarisation entre des phénotypes classiques dits M1, aux propriétés inflammatoires, bactéricides et pro-athérogènes, et ceux, alternatifs, dits M2, aux activités d'immuno-modulation et de réparation tissulaire. Récemment, il a été montré que l'obésité et l'insulino-résistance s'accompagnent d'un défaut de polarisation des macrophages de type M2. Compte tenu du rôle des macrophages dans le métabolisme du fer et de l'influence du fer sur la polarisation de ces cellules nous avons émis l'hypothèse que la surcharge en fer d'origine métabolique dans l'hépatosidérose dysmétabolique (HSD), pourrait affecter de façon notable les capacités de polarisation des macrophages. Dans ce but, nous avons comparé les phénotypes des monocytes circulants, des macrophages résidents et la capacité de polarisation des macrophages vers le phénotype M2 (induite par IL4) chez les sujets atteints d'HSD, les sujets présentant un syndrome métabolique sans surcharge en fer et des sujets sains. Le phénotypage des monocytes a été réalisé par cytométrie en flux (CD14, CD16, CD163, CD206) et celui des macrophages en étudiant par RT-qPCR l'expression de gènes sélectionnés. Les résultats préliminaires de cette étude mettent en évidence des particularités phénotypiques tant des monocytes que des macrophages des sujets atteints d'HSD. Les résultats obtenus confortent notre hypothèse d'un défaut de polarisation M2 des macrophages chez ces sujets. L'étude de l'expression des gènes impliqués dans l'homéostasie du fer au niveau des macrophages montre des résultats contradictoires à ceux qui pourraient résulter de la surcharge en fer et de l'inflammation à bas bruit observés dans cette pathologie. Ces résultats tout à fait originaux ouvrent de nouvelles pistes dans la recherche des mécanismes à l'origine d'altérations de l'homéostasie du fer dans HSD.

CO7

Métabolisme du cholestérol et cancer de la prostate: recherche de biomarqueurs – Etude ChoMeCaP

Olivier Celhay^{1,2}, Laurent Guy², Jean-Louis Kemeny³, Valerio Leoni⁴, Amalia Trousson¹, Anthony Alioui¹, Jean-Marc Lobaccaro¹, Silvère Baron¹

- (1) Unité GReD - Génétique Reproduction et Développement, CNRS 6293 INSERM U1103 Clermont Université, Campus des Cézeaux, et CRNH-Auvergne, 24, av. des landais, 63171 Aubière Cedex, France.
- (2) Service d'Urologie CHU Gabriel Montpied, 58, rue Montalembert, 63003 Clermont-Ferrand 1, France.
- (3) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques CHU Gabriel Montpied, 58, rue Montalembert, 63003 Clermont-Ferrand 1, France.
- (4) UO Patologia Clinica e genetica medica, R17, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "C. Besta", via Celoria 11, 20133 Milano (MI), Italy.

olivecelhay@hotmail.com

La dérégulation du métabolisme du cholestérol est suspectée de participer aux mécanismes de progression du cancer de la prostate. Des modifications du captage de cholestérol et de sa synthèse *de novo* ont été associées à l'induction de la prolifération cellulaire, de la synthèse des lipides membranaires, et de celle des androgènes. Le but du projet de recherche est de déterminer si certains acteurs du métabolisme du cholestérol pourraient constituer des biomarqueurs de l'évolution du cancer de la prostate.

De 2008 à 2011, 69 patients ont subi une prostatectomie radicale en traitement curateur d'un cancer de la prostate avéré sur biopsies. De chaque pièce opératoire ont été conservés en extemporanée à -80°C des échantillons de tissus prostatiques sains et tumoraux, ainsi que des inclusions en paraffine. Nous avons analysé l'accumulation par RT-qPCR des messagers intervenants dans métabolisme du cholestérol et réalisé le dosage des dérivés du cholestérol par chromatographie GS-MS sur les échantillons tumoraux vs. non-tumoraux.

Nos données montrent que l'influx de cholestérol est augmenté, de même que les oxystérols intratumoraux. A l'inverse la synthèse *de novo* est diminuée.

Ces travaux montrent, pour la première fois *in vivo*, que l'homéostasie du cholestérol est dérégulée dans le cancer de la prostate.

CO8

Impact de l'obésité et de l'activité physique sur la cancérogenèse mammaire chez la souris C57/BL6

Mahbouli S^{1,2,3}, Rougé S^{1,2,3}, Farges M-C^{1,2,3}, Miladi I⁴, Montaurier C^{1,2}, Rossary A^{1,2,3}, Vasson MP^{1,2,3,5}

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine (UNH), Equipe micro-Environnement Cellulaire, Immunomodulation et Nutrition (ECREIN), BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand

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

(3) Laboratoire de Biochimie, Biologie Moléculaire et Nutrition, UFR de Pharmacie

(4) Clermont Université, Université d'Auvergne, UMR 990 INSERM/UdA, Imagerie, Biologie Cellulaire, Moléculaire, Animale, F-63005 Clermont-Ferrand, France

(5) CHU-Clermont-Ferrand, Centre Jean Perrin, Unité de Nutrition, Cancéropôle Lyon Auvergne Rhône-Alpes (CLARA)

sinda.mahbouli@udamail.fr

L'obésité est un facteur de risque de cancer du sein après la ménopause¹ et augmente le risque de récurrence du cancer mammaire². Le bénéfice d'un programme d'activités physiques adapté après le diagnostic de cancer a été démontré en termes d'amélioration de la qualité de vie et de survie des patientes atteintes de cancer du sein³.

Cette étude expérimentale a pour objectif de caractériser l'impact de l'obésité et associée ou non à l'activité physique sur la cancérogenèse mammaire. Des souris femelles C57/BL6 âgées (28 semaines), réparties en 4 groupes (n = 10), sont nourries pendant 12 semaines avec un régime soit standard (S) (3,4 kcal/g, 1 groupe), soit hyper calorique (HC) (4,2 kcal/g, 3 groupes). Deux groupes sont ovariectomisés dont l'un placé en environnement enrichi (EE) favorisant l'activité physique, l'autre dans un environnement standard (ES). Au bout de 8 semaines (8S), des cellules tumorales mammaires syngéniques (lignée EO771) sont inoculées dans la 4^{ème} paire de glande mammaire. La croissance tumorale est suivie par imagerie fonctionnelle et mesures anatomiques sur 3 semaines. L'activité physique, la composition corporelle sont quantifiées avant implantation des tumeurs (8S) et avant sacrifice des animaux (11S). Moyenne ± ET, Anova une voie + test de Bonferroni.

Après 8 semaines de régime, les poids des animaux ont significativement augmenté (p<0,05) dans les 3 groupes recevant le régime HC (32,2 ± 5,0 g vs 26,5 ± 1,5 g) en lien avec un apport énergétique plus élevé (12,8 ± 0,42 g vs 10,4 ± 0,34 cal /j/souris). La composition corporelle à 8S confirme une prise de masse grasse sous régime HC (p<0,05) (6,17 ± 2,82 vs 2,67 ± 0,34 g), majorée par l'ovariectomie (10,1 ± 3,70 g) et limitée par l'exercice physique (8,42 ± 2,92 g). Le régime HC semble favoriser la croissance des tumeurs (1837, 6 ± 1410,8 vs 1388,4 ± 894 mm³). L'activité physique entraîne un effet protecteur sur la croissance tumorale (p<0,05) (1315 ± 481,6 vs 662,7 ± 191,9 mm³). Après sacrifice des animaux, l'étude des statuts oxydatif et inflammatoire au niveau du micro environnement tumoral permettra de mieux identifier les biomarqueurs impliqués dans la carcinogénèse mammaire en situation d'obésité.

¹Harvie M et al. *Obes Rev*, 2003 - ²Dawood S et al. *Clin Cancer Res*, 2008 - ³Foucaut AM et al. *Support Care Cancer*, 2014

CO9

La drosophile : un modèle unique d'étude de la poly-(ADP-ribosyl)ation en réponse aux cassures double-brins de l'ADN

Loyal Ishak, Isabelle Balandier, Mathilde Chéron, Serge Alziari, Géraldine Farge, Philippe Lachaume, Frédéric Morel, Patrick Vernet, Pascal Dubessay

Clermont Université, Université Blaise Pascal, EA 4645, Réparation du Génome Mitochondrial et pathologique, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France

patrick.vernet@univ-bpclermont.fr

La surveillance du génome nucléaire est un élément clé dans le maintien de l'intégrité de l'information génétique. Cet aspect inclut à la fois les mécanismes de signalisation des dommages et aussi de réparation. La Poly-(ADP-ribosyl)-ation (PARylation) constitue une voie de choix dans la signalisation des dommages à l'ADN et le recrutement des protéines de réparation. Le rôle de cette modification post-traductionnelle, dépendante du NAD⁺, est bien connu lors de la réparation des cassures simple-brin de l'ADN mais moins bien défini dans le cas des cassures double-brins (DSB). Parmi les acteurs clés de la PARylation figurent PARP et PARG impliqués respectivement dans la mise en place et l'élimination de cette modification. La connaissance du phénomène de PARylation en réponse à une cassure double-brins de l'ADN est de toute première importance puisque la modulation de la PARylation par des inhibiteurs de PARP, lors des phases de chimio- et radiothérapie constitue une voie de sensibilisation intéressante pour le traitement des tumeurs.

La drosophile est un modèle de choix dans cette problématique puisque la variété des protéines de la famille PARP est limitée à 3 (PARP-B, C et E) contre 17 chez l'homme.

Au cours de notre étude, nous avons pu montrer que le niveau de PARylation basale est très faible dans les cellules de drosophile (S2) et n'évolue peu lors de l'induction de DSB ou de l'exposition à un stress oxydant contrairement à ce qui est observé chez l'homme. L'analyse précise des acteurs de la famille PARP dans ce modèle montre que : la protéine PARP-E serait fortement présente dans les cellules S2 et que seule l'accumulation des transcrits de PARP-C augmente lors de l'induction des DSB. L'analyse conceptuelle des séquences des différentes isoformes de PARP chez la drosophile suggère que les formes C et E sont enzymatiquement inactives étant dépourvues du domaine catalytique. Elles pourraient donc participer au contrôle de la PARylation dans les cellules S2.

Les perspectives de ce travail s'orientent maintenant vers (1) la compréhension des phénomènes de contrôle de la PARylation chez la drosophile et (2) l'analyse de la PARylation dans un contexte de DSB mitochondriales.

CO10

Rôle de la voie de signalisation GCN2/eIF2alpha/ATF4 dans l'activation de l'autophagie suite à l'infection par des *Escherichia coli* adhérents et invasifs associés à la maladie de Crohn

Jessica Carrière^{1*}, Alexis Bretin^{1*}, Guillaume Dalmasso¹, Nicolas Barnich¹, Anne-Catherine Maurin², Alain Bruhat², Arlette Darfeuille-Michaud¹, Hang T. T. Nguyen¹

(1) UMR 1071 Inserm, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand ;
(2) Unité de Nutrition Humaine (UNH) INRA Theix, Clermont-Ferrand ;
*contribution égale

Jessica.CARRIERE@udamail.fr

Une forte prévalence des *Escherichia coli* adhérents et invasifs (adherent-invasive *E. coli*, AIEC) a été rapportée dans la muqueuse intestinale des patients atteints de la maladie de Crohn. Nous avons précédemment rapporté qu'en réponse à l'infection par les AIEC, l'autophagie est induite dans les cellules hôtes afin de contrôler la réplication intracellulaire des AIEC. Cependant, le mécanisme sous-jacent est inconnu. L'objectif est d'étudier le rôle de la voie de signalisation GCN2/eIF2alpha/ATF4 dans l'activation de l'autophagie en réponse à l'infection par les AIEC. L'infection de cellules épithéliales intestinales humaines T84 par la souche AIEC de référence LF82 entraîne une augmentation des niveaux des protéines phospho-GCN2, phospho-eIF2alpha et ATF4 et des ARNm des gènes cibles d'ATF4, témoignant de l'activation de la voie GCN2/eIF2alpha/ATF4. Pour explorer le rôle de cette voie dans la réponse de l'hôte à l'infection, nous avons utilisé des fibroblastes embryonnaires murins invalidés pour le gène GCN2 (GCN2^{-/-}). L'invalidation de GCN2 supprime l'activation d'eIF2alpha et l'augmentation du niveau protéique d'ATF4 induites par l'infection. Les niveaux d'ARNm des gènes de l'autophagie p62, MALP1c3b, Beclin1, atg3 et atg7 sont significativement augmentés en réponse à l'infection en fibroblastes sauvages et pas en fibroblastes GCN2^{-/-}. Une analyse par immunoprécipitation de la chromatine a montré que la fixation d'ATF4 sur le promoteur de ces gènes induite en réponse à l'infection est inhibée en fibroblastes GCN2^{-/-}. Par conséquent, l'activation de l'autophagie observée en réponse à l'infection est supprimée en fibroblastes GCN2^{-/-}, entraînant une augmentation de la réplication intracellulaire des AIEC et de la production de cytokines pro-inflammatoires. Une étude *in vivo* a montré que la voie GCN2/eIF2alpha/ATF4 ainsi que l'autophagie sont activées en réponse à l'infection dans les entérocytes de souris sauvages, mais pas dans ceux de souris GCN2^{-/-}. La persistance des AIEC est augmentée dans l'intestin des souris GCN2^{-/-}, entraînant une aggravation de l'inflammation intestinale. En conclusion, notre étude a montré que la voie GCN2/eIF2alpha/ATF4 est activée en réponse à l'infection par les AIEC, induisant une autophagie fonctionnelle pour contrôler leur réplication intracellulaire.

CO11

Acides biliaires et syndrome métabolique : et la fertilité dans tout ça !!!?

Aurélie Vega, Emmanuelle Martinot, Marine Baptissart, Jean-Marc A. Lobaccaro, David H. Volle

Unité GReD - Génétique Reproduction et Développement, CNRS 6293 INSERM U1103 Clermont Université, Campus des Cézeaux, et CRNH-Auvergne, 24, av. des landais, 63171 Aubière Cedex, France.

aurelievega@gmail.com

Le syndrome métabolique est ensemble qui regroupe, entre autres, le diabète de type 2, l'hypercholestérolémie, la dyslipidémie ou encore l'obésité. Le nombre de personnes obèses a doublé depuis 1980 et représente aujourd'hui environ 11% de la population adulte mondiale. Cette pathologie touche également de plus en plus de jeunes adultes et est associée à un problème de fertilité. Parmi les traitements proposés, des dérivés des acides biliaires (ABs) sont envisagés comme molécules thérapeutiques dans le traitement de ces pathologies. Des études récentes ont montré qu'un taux d'ABs élevé altère la fertilité. En effet, 20% des souris mâles nourries avec un régime complétement en acide cholique (CA) deviennent stériles.

Nous avons étudié l'impact d'une augmentation des ABs sur la fertilité lors du traitement de l'obésité. Pour cela nous avons utilisé un modèle d'exposition à un régime riche en graisse afin d'induire un syndrome métabolique. Par la suite, la moitié des animaux a été exposée à un régime supplémenté en CA. Nos travaux montrent, chez les souris traitées par les ABs, une diminution du nombre de descendances. Ce traitement est associé à une altération de paramètres moléculaires au niveau testiculaire. Toutefois, cette diminution n'est pas associée à une diminution du nombre de spermatozoïdes. Nous posons donc l'hypothèse d'un impact qualitatif des spermatozoïdes.

Au final, nos données montrent un effet additif des effets délétères du syndrome métabolique et de l'exposition aux ABs sur la fertilité masculine. Ces résultats ouvrent des perspectives de recherche dans la prise en charge des patients atteints de syndrome métabolique quant à leur désir de paternité.

Projet soutenu par la Région Auvergne Jeune-Chercheur et l'ANR.

CO12

Effet d'un traitement chronique à la prégabaline sur l'hypersensibilité colique et les paramètres inflammatoires associés, chez la souris

Boudieu L^{1,2}, Meleine M^{1,2}, Gelot A^{1,2}, Eschalier A^{1,2}, Carvalho FA^{1,2}, Ardid D^{1,2}

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, NEURO-DOL, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand

(2) Inserm, U1107, F-63001 Clermont-Ferrand

lu.boudieu@gmail.com

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin se caractérisent par des lésions inflammatoires dont l'étiologie est mal connue. Ces maladies touchent 2,2 millions de personnes en Europe, dont 70% souffrent d'hypersensibilité colique HSC. Les traitements visant à limiter cette douleur sont peu spécifiques et ont une efficacité limitée, il est donc essentiel de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. L'efficacité des antiépileptiques modulateurs calcique (gabapentine et prégabaline PGB) a déjà été démontrée dans les douleurs neuropathiques. Le mécanisme d'action de ces molécules n'est pas élucidé mais il a été démontré qu'elles agissaient par l'intermédiaire de la sous unité $\alpha 2\delta-1$ des canaux calciques voltages dépendant (Field et al., 2006). Quelques études montrent que ces ligands seraient efficaces dans l'hypersensibilité viscérale associée au syndrome de l'intestin irritable (Diop et al., 2002, Houghthon et al., 2006). Nous avons donc voulu évaluer l'efficacité d'un traitement chronique à la PGB sur l'HSC et l'inflammation dans un modèle DSS d'HSC inflammatoire (Meleine, Boudieu et al., en préparation). L'HSC et l'inflammation induite par le DSS, sont diminuées chez les souris traitées à la PGB. Ensuite, nous avons réalisé des études sur le mécanisme d'action de ce ligand $\alpha 2\delta-1$ notamment vis-à-vis la voie NFK-B car il a été montré que la PGB module cette voie de signalisation (Park et al., 2008). Nous avons réalisé des westerns blots sur les côlons de nos animaux, et nous avons trouvé une diminution de l'activation de la voie NFkB chez les souris DSS/PGB, par rapport aux DSS/Phy. Enfin, nous avons voulu localiser la sous unité $\alpha 2\delta-1$. Pour cela nous avons réalisé des westerns blots, sur les membranes plasmiques extraites des côlons vs. le cytoplasme+noyau. Cette sous unité c'est trouvée augmentée à la membrane uniquement chez les souris DSS/Phy. Ces données montrent donc le potentiel thérapeutique de ces molécules notamment dans l'HSC inflammatoire.

POSTERS

P1

UBE2B is implicated in myofibrillar protein loss in catabolic C2C12 myotubes

Roza Leulmi^{1,2}, Cécile Polge^{1,2}, Agnès Claustre^{1,2}, Marianne Jarzaguet^{1,2}, Daniel Béchet^{1,2}, Lydie Combaret^{1,2}, Didier Attaix^{1,2}, Daniel Taillandier^{1,2}

(1) INRA, Unité de Nutrition Humaine (UNH, UMR 1019), CRNH Auvergne, F-63000 ;
(2) Clermont Université, Université d'Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand,

daniel.taillandier@clermont.inra.fr

Muscle protein loss results from an imbalance between rates of proteolysis and protein synthesis. The ubiquitin proteasome dependent proteolytic system (UPS) is believed to be a major component of muscle protein wasting. This system involves an enzymatic cascade E1, E2, E3. E3 enzymes are responsible for selecting protein substrates but E2s generally possess the catalytic activity. E2-E3 interactions are therefore crucial as this determines life or death of the substrate.

Our main objective was to identify the E2s involved in the targeting of myofibrillar proteins in atrophying skeletal muscles. We focused on 13 E2 enzymes that are abundant in the skeletal muscle and/or up-regulated in atrophying skeletal muscles and determined the expression levels of these enzymes in catabolic fa-C2C12 myotubes (expressing flag-actin) treated or not with dexamethasone (Dex, 1 μ M or 0.16 μ M). One μ M Dex increased mRNA levels of UBE2A, UBE2B, UBE2D1, UBE2D2 and UBE2G1. By contrast, only UBE2B mRNAs were upregulated within mild catabolic conditions. To further study the implication of UBE2B in myofibrillar proteins destabilization, we knocked down UBE2B in Dex-treated fa-C2C12 myotubes. This resulted in the stabilization of flag-actin in the soluble fraction (+50 %), and myosin in the soluble and myofibrillar fractions (+67 % and +65 % respectively). We also observed increased amounts of soluble proteins (+93 %). Our data suggests an important role of UBE2B in the processing of muscular proteins in catabolic myotubes.

P2

Looking for E2s enzymes interacting with the E3 ubiquitin ligase MuRF1 during muscle wasting

Polge Cécile^{1,2}, Leulmi Roza^{1,2}, Deval Christiane^{1,2}, Combaret Lydie^{1,2}, Claustre Agnès^{1,2}, Béchet Daniel^{1,2}, Attaix Didier^{1,2}, Taillandier Daniel^{1,2}

- (1) INRA, Unité de Nutrition Humaine (UNH, UMR 1019), CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France
(2) Clermont Université, Université d'Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France

cecile.polge@clermont.inra.fr

As a result of an imbalance between protein synthesis and/or proteolysis, important protein losses occur during various physiological and pathological situations. The ubiquitin proteasome system (UPS) is one of the major actor for controlling muscle mass. This proteolytic system controls precisely the activity of numerous cellular proteins that are first tagged by a polyubiquitin chain. Ubiquitination is based on the sequential action of an E1-activating enzyme, an E2 ubiquitin-conjugating enzyme and an E3 ligase. The E1 ubiquitin-activating enzyme activates the ubiquitin (Ub) that it is transferred to an E2. Dedicated E2/E3 enzymes pairs form Ub chains in preferred lysine residues. A given E2 can work with different E3s so that combinations between E2s (tens) and E3 ligases (hundreds) allow the targeting of virtually all cellular proteins. MuRF1 (Muscle Ring Finger 1) is one of the two E3 enzymes involved in muscle atrophy process during various catabolic situations. MuRF1 targets major myofibrillar proteins for breakdown by the 26S proteasome. Elaborating new strategies to prevent muscle wasting requires information about the precise mechanisms of contractile protein degradation, including the recognition and the ubiquitination steps.

Our main objective is then to identify the E2s working with MuRF1 to target myofibrillar proteins in atrophying skeletal muscles. We focused on 13 E2 enzymes that are abundant in the skeletal muscle and/or up-regulated in atrophying skeletal muscles and determined the expression levels of these enzymes in catabolic C2C12 myotubes treated or not with dexamethasone (Dex). One μM Dex increased mRNA levels of five E2s, i.e. UBE2A, UBE2B, UBE2D1, UBE2D2 and UBE2G1. Classical biochemical approach such as pull-down did not allow identifying any MuRF1 interacting partner among these E2s, suggesting that E2/ MuRF1 interactions are weak. We then focused on more sensitive approaches such as Yeast-Two-Hybrid (Y2H) and Surface Plasmon Resonance (SPR). We obtained preliminary results that could lead to the identification of MuRF1 interacting E2s. The affinities between MuRF1 and the different E2s are currently determined using SPR technology. The functionality of the E2/E3 combinations identified will be then examined by *in vitro* ubiquitination assays.

P3

Hydrolyzed collagen promotes osteoblast differentiation *in vitro* and bone health in ovariectomized mice

Audrey Daneault^{1,2,3,4}, Véronique Coxam^{1,2,3}, Veronique Fabien Soulé⁴, Janne Prawitt⁴ and Yohann Wittrant^{1,2,3}

(1) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63009 CLERMONT-FERRAND, FRANCE

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

(3) Equipe Alimentation, Squelette et Métabolismes

(4) Rousselot SAS, 4 Rue de l'Abreuvoir, 92400 Courbevoie FRANCE

audrey.daneault@clermont.inra.fr

Collagen I is the main component of organic bone matrix. Its correct synthesis, folding and degradation are crucial for bone homeostasis. According to this pivotal role in bone structure, we investigated the potential health benefits of hydrolyzed collagen (HC) on bone using translational approaches.

Regarding the influence of HC on bone forming cells *in vitro*, we first insured the absence of cytotoxicity of HC addition in culture media. Consistently, as compared to BSA control conditions, HC even promoted pre-osteoblast proliferation. Then, cells were tested for differentiation parameters in the presence of HC. HC from bovine origin resulted in a significantly higher alkaline phosphatase activity after 7 days of incubation when compared to its BSA control condition. This observation was supported by mineralization assays demonstrating that bovine HC enhanced Ca/P nodule formation in MC3T3-E1 cultures. To confirm these encouraging results, C3H/HeN mice were ovariectomized (OVX) to induce bone loss and were given, in parallel, HC enriched diets to determine whether HC intake may contribute to bone health by preventing decrease in bone mineral density upon OVX. Diets were designed to contain 15% casein, 17.5% casein or 15% casein plus 2.5% HC from bovine origin.

As expected, OVX induced a dramatic loss of bone mineral density. However, HC fed OVX mice exhibited a significant higher BMD than OVX control mice suggesting a nutritional protective effect of HC, confirming previous results and further supporting its potential benefits on bone health.

P4

Une consommation chronique élevée en sucre accélère la sarcopénie et perturbe la sensibilité à l'insuline et la stimulation post-prandiale de la synthèse protéique musculaire chez le rat âgé

Eva Gatineau^{1,2}, Isabelle Auzeloux^{1,2}, Sergio Polakof^{1,2}, Dominique Dardevet^{1,2}, Laurent Mosoni^{1,2}

(1) AlimH, INRA, Saint-Genès Champanelle;

(2) UFR Médecine, Univ Clermont 1, Clermont-Ferrand, France ;

eva.gatineau@clermont.inra.fr

Le vieillissement est associé à une perte de masse et de fonction musculaire appelée sarcopénie. Elle est en partie due à une altération de l'anabolisme protéique musculaire postprandial chez le sujet âgé, et notamment à une moindre stimulation de la synthèse protéique musculaire par le repas. Cette résistance anabolique est aggravée par la présence d'une inflammation à bas bruit. Elle pourrait également être liée à une diminution de la sensibilité à l'insuline. Or, il a été montré qu'un régime riche en fructose était capable d'induire une dyslipidémie, une augmentation de la tension artérielle, mais aussi une résistance à l'insuline et une augmentation du stress oxydant et de l'inflammation. Sachant que la consommation de fructose a fortement augmenté depuis 1970, nous avons cherché à savoir si les troubles métaboliques induits par le fructose pouvaient accélérer la perte de masse musculaire au cours du vieillissement. Des rats âgés de 16 mois ont été nourris durant 5 mois avec un régime contrôle (C) (60% d'amidon de blé) ou riche en fructose (F) (l'amidon est remplacé par du saccharose). L'évolution de leur masse maigre (EchoMRI) et le poids des muscles en fin d'expérimentation ont été contrôlés. La synthèse protéique musculaire a été mesurée in vivo à l'aide d'un acide aminé marqué au ¹³C. Le statut inflammatoire (α 2-macroglobuline et fibrinogène) a également été évalué, ainsi que la sensibilité à l'insuline, grâce à un test OGTT. Une diminution de 59% de la sensibilité à l'insuline a été observée chez les rats F par rapport aux rats C ($P < 0,01$). Les niveaux d'inflammation sont restés faibles chez les rats C comme chez les rats F, avec une inflammation légèrement plus élevée chez les rats F. Ces rats perdent également plus de masse maigre que les rats C (-9,3% vs -5,8% respectivement) ($P = 0,03$) et terminent l'expérience avec des muscles significativement plus petits. La stimulation postprandiale de la synthèse protéique musculaire a été réduite chez les rats F par rapport aux rats C. Un régime riche en fructose a donc accéléré la perte de masse musculaire au cours du vieillissement en altérant la stimulation de la synthèse protéique postprandiale. Cet effet semble plutôt dû à une diminution de la sensibilité à l'insuline qu'à une augmentation de l'inflammation.

P5

La carence en vitamine D diminue l'activité de la voie Notch contribuant à l'atrophie du muscle squelettique du rat Wistar âgé

Carla Domingues-Faria^{1,2,4}, Audrey Chanet^{2,4}, Jérôme Salles^{2,4}, Alexandre Berry^{2,4}, Christophe Giraudet^{2,4}, Véronique Patrac^{2,4}, Philippe Denis^{3,4}, Katia Bouton^{2,4}, Nicolas Goncalves-Mendes¹, Marie-Paule Vasson^{1,5}, Yves Boirie^{2,6}, Stéphane Walrand^{2,4}

- (1) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, Equipe ECREIN, CLARA, CRNH Auvergne; INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand
(2) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, Equipe NuTriM, CRNH Auvergne; INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand
(3) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, Installation Expérimentale de Nutrition, CRNH Auvergne; INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand
(4) INRA, UMR1019, UNH, CRNH Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand
(5) Centre Jean Perrin, Unité de Nutrition, 63000 Clermont-Ferrand
(6) CHU Clermont-Ferrand, Service de Nutrition Clinique, 63003 Clermont-Ferrand

carla.dominques@udamail.fr

La diminution de la capacité de régénération du muscle âgé est un facteur contribuant à la sarcopénie. Or, la diminution de l'activité de la voie de signalisation Notch, voie régulant la régénération musculaire, avec l'âge pourrait expliquer la réduction de la prolifération des cellules satellites musculaires. En outre, le muscle squelettique est une cible de l'action de la vitamine D, celle-ci stimulant la régénération musculaire in vivo. La population âgée développe une hypovitaminose D causant une faiblesse musculaire.

Le but de cette étude était d'évaluer le rôle régulateur de la vitamine D sur l'activité de la voie Notch et du potentiel de prolifération dans le muscle squelettique du rat âgé..

Des rats mâles Wistar âgés de 15 mois ont été déplétés ou non (contrôle) en vitamine D pendant 9 mois. Les concentrations plasmatiques en 25-hydroxyvitamine D (25(OH)D) la forme circulante de la vitamine, ont été évaluées par ELISA. Les expressions géniques et/ou protéiques de marqueurs de prolifération ainsi que de la voie de signalisation Notch ont été analysées dans le muscle tibialis anterior par qPCR et western-blot, respectivement.

La déplétion en vitamine D a provoqué une diminution significative des concentrations plasmatiques de 25(OH)D chez les rats déplétés comparés aux contrôles (-74%, $p < 0,01$). Le poids du tibialis anterior était diminué chez les rats déplétés (-25%, $p < 0,05$). La déplétion en vitamine D réduisait l'expression génique de Bmp4 et de Fgf-2, deux marqueurs connus pour moduler la prolifération, et de 56 % l'expression protéique de PCNA (proliferating cell nuclear antigen), marqueur de prolifération cellulaire. L'activité de la voie Notch était aussi diminuée chez les rats déplétés en vitamine D, comme montré par la réduction de l'expression protéique de la forme clivée de Notch (-53%, $p < 0,05$) et de sa cible Hes1 (-35%, $p < 0,05$).

Les 9 mois de déplétion en vitamine D ont produit une carence en vitamine D chez les rats âgés. La déplétion en vitamine D a provoqué une atrophie musculaire chez les rats âgés via notamment la réduction de l'activité de la voie Notch et du potentiel de prolifération musculaire.

P6

Caractéristiques de l'architecture musculaire chez l'adolescente obèse

Sebastian Garcia Vicencio¹, Vincent Martin¹, Virginie Kluka¹, Charlotte Cardenoux², Anne-Gaëlle Jegu², Anne-Véronique Fourot³, Emmanuel Coudeyre^{2,3,4}, Sébastien Ratel¹

(1) Clermont Université, Université Blaise Pascal, CRNH Auvergne, EA 3533, Laboratoire des adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France

(2) Centre Hospitalier Universitaire (CHU), Clermont-Ferrand, France

(3) MECSS Tza Nou, La Bourboule, France

(4) INRA, (UNH, UMR 1019), CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France

(5) Clermont Université, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

sebastian.garciavicencio@gmail.com

Le but de cette recherche était d'étudier l'impact de l'obésité sur l'Architecture Musculaire (AM) des membres inférieurs. Nous avons formulé l'hypothèse que l'excès de masse corporelle supporté par les adolescentes obèses pourrait agir comme un stimulus chronique d'entraînement générant des adaptations favorables de l'AM (e.g, une augmentation de l'Angle de Pennation (AP)) sans modification des dimensions musculaires (e.g, Surface de Section Transversale Anatomique (ACSA) et Epaisseur Musculaire (EM)) par rapport à des adolescentes saines. Les caractéristiques de l'AM des muscles Extenseurs du Genou (EG : rectus femoris (RF), vastus lateralis (VL) et medialis (VM)) et des Fléchisseurs Plantaires (FP: gastrocnemii lateralis (GL) et medialis GM)) ont été évaluées, in vivo, chez 12 adolescentes normo-pondérées et 12 obèses (12-15 ans). Le moment maximal volontaire (MMV) isométrique des EG et FP a été évalué sur un ergomètre isocinétique. Les résultats ont révélé des valeurs d'AP ($p < 0,05$), EM ($p < 0,001$), ACSA ($p < 0,01$) et de masse maigre segmentaire supérieures ($p < 0,001$) chez les adolescentes obèses pour les EG et FP. De plus, nous avons observé que le MMV absolu produit était plus élevé chez les adolescentes obèses pour les EG ($224,6 \pm 39,5$ N.m vs $135,7 \pm 32,7$ N.m; $p < 0.001$) et pour les FP ($73,3 \pm 16,5$ N.m vs $44,5 \pm 6,2$ N.m; $p < 0.001$). Des corrélations significatives ont été observées entre le MMV des EG et l'AP pour RF ($r=0,57$; $p < 0,01$) et VL ($r=0,46$; $p < 0,05$) et entre le MMV des FP et l'AP pour GM ($r=0,55$; $p < 0,01$) et GL ($r=0,45$; $p < 0,05$). Cette étude a mis en évidence des adaptations favorables liées à l'obésité de l'AM et de la taille du muscle. L'excès de masse corporelle supporté par les adolescentes obèses pourrait agir comme un stimulus chronique responsable de ces adaptations, comparables à celles observées après un entraînement en force chez le sujet sain.

Impact de l'obésité sur les mécanismes centraux et périphériques de la fatigue neuromusculaire chez l'adolescente

Sebastian Garcia Vicencio¹, Vincent Martin¹, Virginie Kluka¹, Charlotte Cardenoux², Anne-Gaëlle Jegu², Anne-Véronique Fourot³, Emmanuel Coudeyre^{2,3,4}, Sébastien Ratel¹

(1) Clermont Université, Université Blaise Pascal, CRNH Auvergne, EA 3533, Laboratoire des adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (AME2P), BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France

(2) Centre Hospitalier Universitaire (CHU), Clermont-Ferrand, France

(3) MECSS Tza Nou, La Bourboule, France

(4) INRA, (UNH, UMR 1019), CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France

(5) Clermont Université, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

sebastian.garciavicencio@gmail.com

Le but de cette étude était de déterminer l'impact de l'obésité sur la fatigue neuromusculaire des extenseurs du genou (EG) et son étiologie chez l'adolescente. Douze adolescentes normo-pondérées et douze obèses (12-15 ans) ont réalisé un protocole intermittent de fatigue qui consistait à répéter des contractions maximales volontaires (CMV) (CMV 5-s / récupération passive 5-s) jusqu'à l'atteinte d'un niveau de force correspondant à 55% de la valeur initiale. L'évolution du niveau d'activation (NA) (calculé à travers de la technique de la secousse surimposée (1)) a été considérée comme un indice de la fatigue centrale. L'amplitude du moment évoqué ($Q_{tw_{pot}}$) a également été mesurée et utilisée comme indicateur de la fatigue périphérique. Le moment développé a atteint 55% de sa valeur initiale après $52,6 \pm 20,4$ et $74,9 \pm 22,8$ répétitions chez les filles obèses et normo-pondérées, respectivement ($p < 0,01$). Cependant, quand il a été exprimé en pourcentage du nombre total de répétitions, le pattern de réduction du moment volontaire était similaire dans les deux groupes. Toutefois, l'étiologie de la fatigue différait entre les groupes. Tandis que la baisse du NA était plus importante chez les adolescentes normo-pondérées ($p < 0,001$), la réduction du $Q_{tw_{pot}}$ était plus élevée chez les filles obèses ($p < 0,05$). En conclusion, les adolescentes obèses se fatiguent plus rapidement que les adolescentes normo-pondérées au cours d'un effort maximal intermittent des EG. Les facteurs périphériques ont principalement expliqué la performance réduite chez les adolescentes obèses tandis que les facteurs centraux ont principalement été impliqués chez les filles normo-pondérées. Nous formulons l'hypothèse que le niveau supérieur de force (2, 3) absolue, une proportion plus élevée de fibres rapides (4), et la plus courte durée d'effort pourraient expliquer la différence entre les contributions centrales et périphériques.

1. Merton PA. Voluntary strength and fatigue. The Journal of physiology. 1954 Mar 29;123(3):553-64.
2. Duché P, Duché G, Lazzer S, Dore E, Tailhardat M, Bedu M. Peak power in obese and nonobese adolescents: effects of gender and braking force. Medicine and science in sports and exercise. 2002 Dec;34(12):2072-8.
3. Tsiros MD, Coates AM, Howe PR, Grimshaw PN, Walkley J, Shield A, et al. Knee extensor strength differences in obese and healthy-weight 10-to 13-year-olds. European journal of applied physiology. 2013 Jun;113(6):1415-22.
4. Kriketos AD, Baur LA, O'Connor J, Carey D, King S, Caterson ID, et al. Muscle fibre type composition in infant and adult populations and relationships with obesity. International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity. 1997 Sep;21(9):796-801.

P8

Polyphenols affect the interaction between monocytes and vascular endothelium

Laurent-Em. Monfoulet^{1,2}, Sylvie Mercier^{1,2}, Dragan Milenkovic^{1,2}, Christine Morand^{1,2}

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

(2) INRA, UMR 1019, Equipe MicroCard, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand

laurent-emmanuel.monfoulet@clermont.inra.fr

A growing number of epidemiological, clinical, and experimental data suggest that the polyphenols, bioactive compounds abundantly present in plant foods, could contribute to the positive association between fruit and vegetable consumption and cardiovascular disease risk (Mink et al. 2007). These compounds may exhibit vascular protective effects by preventing the early stages of vascular dysfunction and atherosclerosis development. We have previously shown that polyphenols can modulate expression of genes in mice aorta, among which are genes coding for leukocyte trafficking (Auclair et al. 2009 ; Coban et al. 2012 ; Mauray et al. 2012). The observed changes in gene expression point to the reduction of the interaction between circulating immune cells and endothelial monolayer, in a way accounting for a preservation of the integrity of vascular endothelium,

Our present goal is to deepen the knowledge of cellular targets identified from nutrigenomics data by examining the impact of polyphenols on the cellular processes involved in the interaction between circulating immune cells (monocytes) and vascular endothelium.

To address this question, we study the impact of the exposure of monocytes and/or endothelial cells to polyphenols on monocyte chemotaxis, adhesion and transendothelial migration. These in-vitro studies are performed using primary human endothelial cells exposed to low, physiologically-relevant concentrations of polyphenols (0.2-2 μ M). In the blood circulation, the blood flow induces a shear-stress on the endothelial cell monolayer covering the vessel walls which exerts important effect of endothelial cell functions. With the aim to mimic as closely as possible physiological conditions, our experiments were performed both in static and shear-stress conditions. First results have revealed that exposure of endothelial cells to selected polyphenols reduces monocyte adhesion and their transendothelial migration.

P9

Integrated and predictive approach for identifying determinants of health changes: role of nutrition – The DIAPASON project

C Dion^{1,2}, M Plessz^{1,2}, E Herquelot^b, M Pétéra⁴, S Gojard¹, S Czernichow², M Zins², M Goldberg², E Pujos-Guillot^{3,4}, B Comte³

(1) INRA, UR1303 ALISS, Ivry sur Seine;

(2) UMS 11 Cohortes en population, INSERM/UVSQ, Villejuif;

(3) INRA, UMR1019, UNH, F-63000 Clermont-Ferrand;

(4) INRA, UMR1019, Plateforme d'Exploration du Métabolisme, UNH, F-63000 Clermont-Ferrand

blandine.comte@clermont.inra.fr

The objective of the project is to develop accurate and robust markers of the evolution of health status toward metabolic syndrome (MetS), and to determine to what extent nutrition is a determinant, by using a multidisciplinary approach, putting together sociology, epidemiology, nutrition, statistics, and computer science. Within the GAZEL French cohort set up in 1989 (~20,000 EDF-GDF employees), the project integrates demographic, socioeconomic, clinical, and biological data (annual questionnaires including food frequency questionnaires (FFQs)) to analyze food trajectories between 1998 & 2009. Metabolic signatures will be characterized using untargeted metabolomics within a Case-Control sub-cohort in order to identify early discriminant factors predictive of MetS development. 52-64 y.o. males with high BMI ($25 \leq \text{BMI} < 30$) who developed MetS after the follow-up ('Case') were selected and compared for some parameters (socio-demographic, clinical, parameters, food habits) with at-risk subjects who did not ('Control' matched for BMI, age, sex). Correlations between these data and metabolic signatures will be done to build predictive models and determine whether integration of multidimensional parameters improves prediction. Among the ~9,000 individuals, 3 dietary patterns were identified from FFQs in 1998 and confirmed from 2004 & 2009-FFQs: Western Diet (WD), Healthy, and Traditional French after Multiple Correspondence Analyses based on 22 food items. Individuals' food trajectories were different according to their dietary patterns: decrease of 'WD' with time, in opposite to an increase in 'Healthy' and 'Traditional' behaviours. The sub-cohort appears representative of the whole cohort, but the behaviors' evolution of Cases and Controls is different in amplitude: a deeper decrease in 'WD' in the Cases vs an increase in 'Traditional' behavior. This approach should provide new tools to better stratify at-risk populations.

P10

COST Action POSITIVe (FA1403): Interindividual variation in response to consumption of plant food bioactives

Morand Christine, Manach Claudine, Milenkovic Dragan

INRA, UMR 1019, Unité de Nutrition Humaine, Clermont-Ferrand - France

christine.morand@clermont.inra.fr

It is of crucial importance to develop efficient strategies, targeting the dietary behaviours of European consumers and the improvement the food supply, to preserve cardiometabolic health in Europe. Plant foods are rich sources of a large range of bioactive compounds that beneficially affect our health. However, heterogeneity in individuals' responsiveness to these bioactives can obscure associations between dietary intakes and health, hinder the identification of health benefits for specific population groups and limit our understanding of the exact role of the different bioactives.

The main objective of POSITIVe is to create a European multidisciplinary and inter-sectorial network to tackle the question of the inter-individual variation in response to plant food bioactives consumption in relation to cardiometabolic health. POSITIVe will gather experts in human nutrition and plant food bioactives, in cutting edge omics technologies and in forefront research fields together with representatives from regulatory agencies and Agrofood industry. The activities of this network will be focused on the identification of the main determinants (genetic background, gut microbiota composition, age or gender) involved in between subject variation regarding bioavailability and physiological responses to plant food bioactives consumption and to identify among these findings those with the greatest interest for translation into applications.

Ultimately, this COST Action will promote European research in this active research field, provide scientific knowledge to regulatory authorities for a new generation of dietary recommendations targeted to large population subgroups and foster the competitiveness of the European food industry by underpinning the development of new functional/customized foods.

P11

Pathway-27 : Etude Pilote sur les effets de substances bioactives sur la santé et le bien-être

**Malpuech-Brugère C^{1,2}, Ricciardiello L⁴, Cano N^{1,2}, Bub A⁵, Orfila C⁶, Sébédio JL^{1,2}, and Bordini A⁷ (coordinatrice), au titre du consortium pathway-27
Grant agreement no. 311876**

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

(2) INRA, UMR1019 UNH, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand

(3) Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, I-40138 Bologna

(4) Max Rubner-Institut (MRI), Department of Physiology and Biochemistry of Nutrition, D-76131 Karlsruhe

(5) University of Leeds, LS2 9JT Leeds

(6) Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, I-47521 Cesena

corinne.malpuech-brugere@udamail.fr

Le projet Pathway-27 permettra d'évaluer l'efficacité de l'acide docosahexaénoïque (DHA), seul ou en combinaison avec d'autres familles de composés bioactifs (□-glucanes (BG) et anthocyanes (AC)), dans la réduction des facteurs de risque du syndrome métabolique (SM). Ces composés « bioactifs » (BEF) seront utilisés comme ingrédients et incorporés dans 3 matrices alimentaires différentes (produits laitiers, produits céréaliers, produits à base d'œufs). Ces 3 matrices contiendront l'un des trois bioactifs administrés seuls ou DHA +/- BG ou DHA +/- AC.

L'objectif est d'appréhender les synergies possibles et les interactions bioactif - matrice. Ces différentes matrices seront utilisées dans une étude multicentrique d'intervention nutritionnelle. Le but de cette étude multicentrique, randomisée, en double aveugle, est d'identifier le BEF qui induit une modification la plus favorable des paramètres lipidiques. Le BEF sélectionnée sera ensuite testé sur une cohorte de huit cents sujets.

Trois cents hommes et femmes à risque de MS seront recrutés dans 3 centres d'étude (IRM (Allemagne), ULE (Royaume-Uni), CRNH (France)). Dans chaque centre, 100 volontaires seront divisés en 5 groupes de 20, chacun recevant, pendant 4 semaines, un BEF enrichi en DHA, BG, ou AC seul ou en association. Les marqueurs cliniques du syndrome métabolique seront mesurés. De plus, des approches omiques seront utilisées pour examiner les changements métaboliques et potentiellement identifier de nouveaux marqueurs d'effets.

Les résultats obtenus permettront de comprendre l'effet matrice sur la bioactivité des nutriments testés.

P12

Nouvelles stratégies alimentaires pour un vieillissement optimisé des seniors européens – Projet européen FP7 NU-AGE (ClinicalTrials.gov Identifier, NCT01754012)

Elodie Caumon^{1,2}, Noëlle Lyon^{1,2}, Aurélie Caille^{1,2}, Agnes Berendsen³, Lisette De Groot³, Edith Feskens³, Aurelia Santoro⁴, Claudio Franceschi⁴, Barbara Pietruszka⁵, Anna Brzozowska⁵, Amy Jennings⁶, Susan Fairweather-Tait⁶, Noël Cano^{1,2}, Nathalie Meunier^{1,2}

(1) CHU Clermont-Ferrand

(2) CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France

(3) Wageningen University, Department of Human Nutrition, Wageningen, Pays-bas

(4) University of Bologna, Department of Experimental, Diagnostic and Specialty Medicine, Bologna, Italie

(5) Division of Human Nutrition, Warsaw, Pologne

(6) University of East England, Norwich, Royaume-Uni

nathalie.meunier@clermont.inra.fr

Le projet Nu-Age, coordonné par l'Université de Bologne, a pour objectif d'optimiser la santé et la qualité de vie des seniors européens grâce à une approche nutritionnelle globale, visant à limiter l'inflammation liée à l'âge et proche du régime « méditerranéen.

L'étude clinique, contrôlée, randomisée, en parallèle et en ouvert, se terminera en février 2015. Elle porte sur 1250 sujets, hommes ou femmes, volontaires sains ou pré-fragiles (critères de Fried), âgés de 65 à 79 ans, recrutés dans 5 sites européens. Les sujets inclus ont été répartis de façon aléatoire en deux groupes : l'un recevant des conseils diététiques personnalisés ainsi que des aliments adaptés aux besoins des seniors, l'autre poursuivant son alimentation habituelle. Le critère principal de l'étude est la variation des marqueurs de l'inflammation, mesuré au début et à l'issue des 12 mois d'intervention nutritionnelle. Les principaux critères secondaires sont : les capacités fonctionnelles (SPPB), la fonction cognitive, l'activité physique, la composition corporelle (DEXA), le métabolisme osseux, les paramètres immunitaires, hépatiques et lipidiques.

Caractéristiques de la population NU-AGE au début de l'étude

	Effectif	Ratio H/F	Age (années)	IMC
France	211	0,99	70,2 ± 3,8	25,4 ± 3,5
Italie	273	0,95	71,7 ± 3,9	27,2 ± 3,9
Pays Bas	253	0,82	71,0 ± 4,0	26,0 ± 3,6
Pologne	260	0,74	71,4 ± 3,8	28,0 ± 4,3
Royaume Uni	271	0,56	70,1 ± 4,0	26,8 ± 4,0

NU-AGE ambitionne d'élaborer des recommandations nutritionnelles spécifiques pour les personnes âgées et de permettre aux industriels inclus dans le consortium, de développer à leur intention de nouveaux aliments afin d'améliorer leur santé et leur qualité de vie.

P13

Probiotic strategy in the fight against enterohemorrhagic *Escherichia coli*

Charlotte Cordonnier^{1,2}, Jonathan Thevenot^{1,2}, Lucie Etienne-Mesmin^{1,2}, Amandine Rougeron², Sylvain Denis¹, Monique Alric¹, Arlette Darfeuille-Michaud² Valérie Livrelli², Stéphanie Blanquet-Diot¹

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, CRNH, EA CIDAM 4678 « Conception, Ingénierie et Développement de l'Aliment et du Médicament », 63000 Clermont-Ferrand, France ;

(2) Clermont Université, Université d'Auvergne, CRNH, M2iSH « Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'hôte », 63000 Clermont-Ferrand, France

stephanie.blanquet@udamail.fr

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) are important food-borne pathogens responsible for human diseases ranging from uncomplicated diarrhea to life-threatening complications such as hemolytic-uremic syndrome. Among EHEC strains, O157:H7 is the main serotype involved in sporadic cases and outbreaks. Both the survival of EHEC strains in the human digestive environment and their interaction with the intestinal barrier are key factors in bacterial pathogenesis. Nevertheless, the related mechanisms remain unclear owing to lack of relevant models. In addition, as no specific treatment is available for EHEC infections and as antibiotic therapy has worsened clinical outcomes, alternative strategies using probiotics have been considered.

In the present study, complementary *in vitro* approaches have been used to better understand the behavior of the reference strain *E. coli* O157:H7 EDL933 in the human digestive environment and investigate the antagonistic properties of a new probiotic yeast strain, *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856. The antagonistic properties of the probiotic yeast were examined under three different facets: (i) its influence on EHEC survival during *in vitro* digestions of a contaminated meal in the dynamic TNO gastro-Intestinal tract Model (TIM), (ii) its influence on EHEC survival and virulence (Shigatoxin encoding gene expression) in simulated human colonic conditions (ARCOL) and (iii) its ability to prevent EHEC translocation using an *in vitro* M cell co-culture model (Caco-2 and Raji B cells).

P14

Impact de la nutrition sur l'homéostasie intestinale: effet d'un régime alimentaire de type occidental sur la susceptibilité de l'hôte et l'inflammation intestinale dans un contexte de Maladie de Crohn

A. Agus, J. Denizot, J. Thevenot, S. Massier, A. Bernalier-Donadille, S. Denis, A. Darfeuille-Michaud, E. Billard, N. Barnich

M2iSH, U1071, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

allison.agus1@udamail.fr

Introduction: La Maladie de Crohn (MC) représente un problème majeur de santé publique. L'étiologie de la MC serait une réponse immunitaire aberrante en réponse à des facteurs environnementaux et infectieux chez un hôte génétiquement prédisposé. La consommation croissante de matières grasses et de sucre dans les pays occidentaux semble corrélée à une augmentation de l'incidence de la MC.

Objectifs et méthodes: L'effet d'une alimentation riche en graisses et sucres (HF/HS) a été étudié chez la souris pendant une durée de 18 semaines. La micro-inflammation du tractus digestif (mesure de la lipocaline-2), la composition de la flore intestinale, la concentration en acides gras à courtes chaînes (AGCC), l'expression de leurs récepteurs (G-protein-coupled receptor 43) et la sensibilité des souris à une colite induite au DSS ont été déterminés. Les populations de *E. coli* associées au colon, à l'iléon et au caecum ont été quantifiées. La sévérité de la colite induite au DSS a été évaluée par l'indice d'activité de la maladie (DAI : Disease Activity Index), le score histologique et la production de cytokines pro-inflammatoires.

Résultats: Le taux de Lcn-2 est augmenté dans les selles dès 5 semaines de traitement suggérant ainsi qu'un régime alimentaire HF/HS favoriserait un environnement propice à l'inflammation intestinale. Il a pu être observé des proportions anormales de *E. coli* au niveau de l'intestin des souris ayant reçu le régime HF/HS comparativement aux souris nourries avec un régime conventionnel. Les concentrations en AGCC diminuent significativement chez les souris HF/HS. Ainsi, un régime alimentaire de type occidental semble conduire à une dysbiose avec une augmentation des bactéries pro-inflammatoires et une diminution des bactéries productrices d'AGCC. L'expression de GPR43 semble diminuée chez les souris HF/HS par rapport à des souris sous un régime conventionnel. De plus, ce régime conduit à une exacerbation de l'inflammation intestinale suite à une colite induite au DSS avec une augmentation du score DAI et de la production de cytokines pro-inflammatoires.

Conclusion: Un régime alimentaire de type occidental peut entraîner une modification de flore intestinale conduisant à la mise en place d'un micro-environnement inflammatoire.

P15

Etude des mécanismes d'action du probiotique *Lactobacillus rhamnosus* sur la réponse immunitaire mucoale

Thomas Bertran¹, Patrick Brachet¹, Annie Dosgilbert¹, Marie-Josèphe Galmier², Catherine Felgines¹, Marjolaine Vareille¹, Sophie Garcin¹, Marie-Paule Vasson¹, Arlette Tridon¹, Bertrand Evrard¹

(1) Laboratoire d'Immunologie, Equipe ECREIN "microEnvironnement CellulaiRE, Immunomodulation et Nutrition", Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 INRA-Université d'Auvergne, CRNH-Auvergne, Clermont-Ferrand

(2) Laboratoire de Chimie Analytique, Spectrométrie de Masse et Bromatologie, UMR INSERM 990-Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

bertrand.evrard@udamail.fr

Le *Lactobacillus rhamnosus* 35 (Lcr35) est une souche probiotique utilisable en thérapie par différentes voies muqueuses. Nous avons montré que ce probiotique a des effets dose-dépendants complexes sur le système immunitaire, notamment au niveau des cellules dendritiques et des lymphocytes T. L'objectif de notre projet est de déterminer les mécanismes de ces effets. Nous avons mesuré l'impact de différentes concentrations de Lcr35 sur la prolifération lymphocytaire stimulée par la phytohémagglutinine (PHA). Nos résultats montrent que la prolifération des lymphocytes est inhibée à des doses de probiotique $\geq 10^6$ CFU/mL. Puis, nous avons déterminé l'effet du Lcr35 sur l'activité de l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO), une enzyme majeure du catabolisme du tryptophane (TRP) en kynurénine (KYN) connue pour son rôle dans les mécanismes de tolérance immunitaire. L'activité IDO a été estimée par le rapport des concentrations de KYN et TRP mesurées par HPLC dans le milieu de culture de cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC). L'exposition des cellules à la PHA entraîne une induction de l'IDO mesurable par une forte augmentation du rapport [KYN]/[TRP]. L'addition du Lcr35 à des concentrations de 10^3 et 10^4 CFU/mL n'affecte pas cette induction, à la différence de concentrations $\geq 10^5$ CFU/mL qui provoque une brutale réduction de ce rapport jusqu'à un niveau proche de celui mesuré avec des PBMC témoins (sans PHA). L'inhibition de l'activité IDO par le Lcr35 s'observe donc parallèlement à l'inhibition de la prolifération lymphocytaire en opposition avec les effets de la PHA. En conclusion, nos observations confirment la complexité des effets du probiotique, en particulier à fortes doses, sur les cellules immunitaires. La suite du projet consistera à mesurer l'impact du Lcr35 sur les cellules dendritiques et la polarisation lymphocytaire T en sous-populations effectrices (Th1, Th2 et Th17) et régulatrice (Treg).

P16

Recherche et caractérisation de souches de *Escherichia coli* adhérentes et invasives chez les patients atteints de maladie de Crohn (MC) au Brésil

Rafaella Ferreira Avelar Costa^{1,2}, Jacques Robert Nicoli³, Maria de Lourdes de Abreu Ferrari⁴, Marie-Agnès Bringer¹, Arlette Darfeuille-Michaud¹, Flaviano dos Santos Martins^{2,3}, Nicolas Barnich¹

(1) Laboratoire « Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte » UMR 1071 Inserm/Université d'Auvergne, USC INRA 2018 (M2iSH);

(2) Laboratoire « Agents Biothérapeutiques », Département de Microbiologie, Institut des Sciences Biologiques, Université Fédérale de Minas Gerais;

(3) Laboratoire « 'Ecologie et Physiologie des micro-organismes » Département de Microbiologie, Institut des Sciences Biologiques, Université Fédérale de Minas Gerais;

(4) Institut Alfa de Gastroentérologie, Hôpital des Cliniques, Faculté de Médecine, Université Fédérale de Minas Gerais.

rafaellaavelar@gmail.com

La maladie de Crohn (MC) est caractérisée par une inflammation intestinale chronique affectant potentiellement n'importe quel segment du tube digestif. L'étiologie de la maladie reste encore inconnue, cependant, la théorie la plus largement acceptée repose sur une réponse inflammatoire anormale dirigée contre le microbiote intestinal chez un hôte génétiquement prédisposé. Plusieurs études ont démontré que la muqueuse iléale de patients atteints de MC est anormalement colonisée par des souches de *Escherichia coli* adhérentes et invasives (AIEC). Toutefois, à ce jour, aucune étude ne démontre la présence de telles souches de *E. coli* chez les patients atteints de MC au Brésil. L'objectif de cette étude est d'isoler et de caractériser les souches de *E. coli* chez les patients atteints de MC au Brésil. Les biopsies ont été réalisées sur 35 sujets : 10 patients atteints de MC en phase active, 15 patients atteints de MC en phase de rémission et 10 contrôles. Bien que la différence ne soit pas significative, la colonisation de la muqueuse iléale de patients atteints de MC est plus élevée par rapport au groupe contrôle. Parmi 270 souches isolées, 241 ont été identifiées comme étant des *E. coli*. La recherche de différents groupes phylogénétiques de *E. coli* a été réalisée par PCR. Chez les patients atteints de MC, 37% des souches appartiennent au groupe A, 30% au groupe B1, 11% au groupe B2 et 22% au groupe D. Les capacités d'adhésion et d'invasion des souches aux cellules épithéliales intestinales humaines I-407 ont été analysées. Les résultats montrent que 27% des souches isolées de patients atteints de MC sont invasives. Pour chaque patient, la souche de *E. coli* présentant la plus grande capacité d'invasion a été sélectionnée pour analyser sa capacité à survivre et se multiplier en macrophages humains THP-1. Ainsi, chez les patients atteints de MC, 76% des souches sélectionnées sont capables de survivre et se multiplier en macrophages. Ces résultats préliminaires montrent que la muqueuse iléale de patients atteints de MC au Brésil est également colonisée par des souches de *E. coli* adhérentes et invasives.

P17

Unraveling Pectin Utilization Loci in *Bacteroides xylanisolvens* XB1A using a RNAseq approach

Jordane Despres¹, Evelyne Forano¹, Pascale Leperq¹, Sophie Comtet¹, Carl J. Yeoman², Margaret E. Berg Miller³, Christopher J. Fields⁴, Bryan A. White^{3,4}, Pascale Mosoni¹

(1) INRA, UR454 Microbiologie, F-63122 Saint-Genès Champanelle, France

(2) Department of Animal Sciences, Montana State University, Bozeman, Montana, United States of America

(3) Department of Animal Sciences, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, United States of America

(4) Institute for Genomic Biology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, United States of America

jordane.despres@clermont.inra.fr

Symbiotic microorganisms that reside in the human intestine are able to utilize dietary fibres mainly composed of resistant starch, cellulose, hemicelluloses and pectins. Pectins are diverse in composition and structure, and represent one of the most complex plant cell wall polysaccharide. Very few pectinolytic bacteria have been described in the colon so far and little is known on the enzyme systems involved in pectin degradation. Therefore our goal was to characterize by a transcriptomic approach the pectinolytic enzyme system of *Bacteroides xylanisolvens* XB1A, a species belonging to the human core microbiome initially described as xylanolytic. Indeed, in silico analyzes of XB1A genome revealed lots of genes encoding cazymes potentially involved in pectinolysis. We first showed by cultivation that the bacterium grew with a high growth rate on citrus pectin. Then, RNAseq data (Illumina/HiSeq2000) were obtained from strain XB1A grown on citrus pectin versus glucose at mid- and late-log phase (biological triplicates in each condition). They revealed 22 and 17 gene clusters significantly over-expressed (Log₂ Fold-change > 3) on pectin at mid- and late-log phase, respectively. Among them, 4 large Cazyme-containing loci certainly involved in pectin deconstruction are differentially over-expressed according to the growth phase. Induction was confirmed by RT-qPCR targeting one particular pectinolytic locus. In conclusion, this study showed the involvement of several new loci involved in pectin degradation. It highlighted the metabolic plasticity of *B. xylanisolvens* towards non-starch dietary polysaccharides that can explain its belonging to the human core microbiome.

P18

Evolution du microbiote fécal tout au long de la vie du rat dans des conditions environnementales et alimentaires contrôlées

Nadia Gaci¹, William Tottey¹, Prem Prashant Chaudhary¹, Guillaume Borrel², Paul W. O'Toole² & Jean-François Brugère¹

(1) EA 4678, Conception, Ingénierie et Développement de l'Aliment et du Médicament, Clermont Université, Université d'Auvergne, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France;

(2) Department of Microbiology and Alimentary Pharmabiotic Centre, University College Cork, Western Road, Cork, Ireland.

jf.brugere@udamail.fr

Le microbiote intestinal humain se diversifie sous l'influence de divers facteurs (en particulier l'alimentation, la génétique, l'environnement mais aussi la prise de médicaments) conduisant à des différences interindividuelles significatives.

Pour évaluer l'évolution du microbiote au cours de la vie, nous avons analysé le microbiote fécal de 56 rats « Sprague-Dawley » obtenus et maintenus dans un environnement contrôlé (Laboratoires Janvier, France), avec une alimentation (ad lib) normalisée. L'utilisation de la biopuce exploratoire "HuGChip" comprenant près de 4500 sondes et ciblant 66 familles bactériennes, a révélé une modification importante du microbiote fécal après le changement alimentaire survenu à 12 semaines de vie. Parallèlement, une faible différence de composition du microbiote est observée entre individus du même âge, permettant d'en déduire un microbiote standard, âge-dépendant. Tout au long de la vie du rat s'opère un remodelage progressif du microbiote accélérée vers l'âge d'un an. Ces résultats indiquent que les modifications physiologiques qui accompagnent le vieillissement chez le rat sont également responsables d'une évolution progressive du microbiote intestinal. Les modifications de la motilité intestinale, de l'efficacité de la digestion et du temps de transit sont probablement impliquées. Les conséquences de ces modifications sur la santé de l'hôte justifient des études plus approfondies, en relation avec les observations effectuées chez l'Homme, et indiquent que le paramètre « microbiote intestinal », variable en fonction de l'âge, est un facteur à considérer dans l'utilisation du rat comme modèle biologique.

Interaction entre cellules mammaires et adipocytaires en situation d'obésité : implication dans le cancer du sein

Laetitia Delort¹, Lauriane Bougaret¹, Hermine Billard¹, Ali Mojallal², Odile Damour³, Marie-Paule Vasson^{1,4}, Florence Caldefie-Chézet¹

(1) UMR1019 – INRA-UdA, Unité de Nutrition Humaine, Equipe ECREIN, UFR Pharmacie, Université d'Auvergne

(2) Service de chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, Hôpital Edouard-Herriot, Lyon

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

(4) Centre anti-cancéreux Jean-Perrin, Clermont-Ferrand

laetitia.delort@udamail.fr

Une influence du microenvironnement adipocytaire est aujourd'hui démontrée dans la cancérogenèse mammaire. Ainsi, l'objectif de notre étude est de caractériser, dans un contexte d'obésité, les interactions entre cellules mammaires et cellules adipeuses. Pour cela, des cellules souches adipocytaires (ASC) extraites à partir de tissu adipeux sous-cutané abdominal de femmes minces et obèses (n=6) ont différenciées en préadipocytes (PA20 et PA30) puis en adipocytes matures (AM20 et AM30), et co-cultivées en présence de cellules mammaires cancéreuses (MCF-7 et MDA-MB-231) ou non cancéreuses (MCF10a). Les AM provenant de femmes obèses comparés à ceux issus de femmes de poids normal expriment plus fortement la leptine (x8,6, p=0,03), son récepteur (x3,5, p=0,01), l'aromatase (x13,06, p=0,01) et le VEGF (x2, p=0,01) et plus faiblement l'adiponectine (x0,3, p=0,04), ce qui suggère que les AM garderaient en mémoire leur environnement métabolique d'origine.

Les capacités de prolifération des cellules cancéreuses mammaires MCF-7 positives pour le récepteur aux œstrogènes (RE+) sont augmentées en présence des PA30, AM20 et AM30. Les cellules cancéreuses MDA-MB-231 (RE-) et non cancéreuses MCF10a semblent moins sensibles à la présence de cellules adipeuses. Les cellules mammaires, cancéreuses ou non, sont capables d'augmenter de façon considérable la prolifération des PA20 mais pas celle des PA30. La prolifération des AM20 n'est pas modifiée en présence de cellules mammaires alors que celle des AM30 paraît augmentée en présence des cellules MCF-7 et MDA-MB-231, ceci pouvant s'expliquer par la présence résiduelle de cellules souches.

Ainsi, ces résultats montrent l'existence d'interactions réciproques entre cellules mammaires et adipeuses pouvant jouer un rôle clé dans la progression de la cancérogenèse mammaire.

P20

Etude des histones methyles dans le cancer de la prostate sur puce promoteur

Marjolaine Ngollo^{1,2,5}, André Lebert³, Gaëlle Judes^{1,2,5}, Frédérique Penault-Llorca^{1,2}, Laurent Guy^{2,4}, Yves-Jean Bignon^{1,2,5}, Dominique Bernard-Gallon^{1,2,5}

(1) Centre Jean Perrin-CBRV, 28 place Henri Dunant, BP 38,63001 Clermont-Ferrand, France

(2) ERTICA EA 4677 « Equipe de Recherche sur les Traitements Individualisés des Cancers », Université d'Auvergne, 28 place Henri Dunant 63001 Clermont-Ferrand, France

(3) Université Blaise Pascal, Institut Pascal UMR 6602 CNRS/UBP, 24 avenue des Landais, 63170 Aubière, France

(4) CHU Gabriel Montpied, Département d'Urologie, 58 rue Montalembert 63003 Clermont-Ferrand, France

(5) CNRH, 58 rue Montalembert, 63009 Clermont-Ferrand Cedex 1, France

nmarjolaine@yahoo.fr

Des dérégulations d'expression de gènes se produisent dans les cellules cancéreuses de prostate et sont liées à des changements de structure de la chromatine, qui sont régis par les modifications post-traductionnelles des histones. La triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27me3) joue un rôle essentiel dans la régulation de l'expression des gènes au cours du développement et se trouve dérégulée dans les cancers de la prostate. Cette marque H3K27me3 est catalysée par les protéines du groupe polycomb répresseur PRC2.

Nous étudions ici, la distribution de la marque H3K27me3 sur l'ensemble du génome dans 30 tissus de prostate humaine par la technique d'immunoprécipitation de la chromatine combinée avec l'hybridation sur puce promoteur (ChIP-on-chip). Cette étude nous permettra d'identifier plusieurs régions génomiques qui sont méthylées au niveau des histones de façon différentielle selon l'agressivité de la tumeur. Pour chaque région, un score d'enrichissement est calculé. Ce score dépend à la fois du nombre de sondes par région et des valeurs d'enrichissement de chacune des sondes. Ainsi plus le score est important, plus la région est enrichie. Les premiers résultats ont montré 1335 régions enrichies en H3K27me3 dans le tissu tumoral contre 412 dans le tissu sain. L'étape suivante va consister à examiner ces gènes pour valider leur statut de méthylation et ainsi identifier de nouveaux marqueurs pronostics permettant un choix thérapeutique averti suivant le degré de gravité du cancer de la prostate. Enfin, l'analyse des fonctions et des voies de signalisation des gènes impliqués sera ensuite réalisée. Des inhibiteurs d'histone méthyltransférase, pourront ainsi être considérés comme une piste thérapeutique dans le cadre du cancer de la prostate en combinaison avec une hormonothérapie ou une chimiothérapie.

P21

Les sécrétions adipocytaires, en situation d'obésité, induisent-elles une moindre efficacité des traitements d'hormonothérapie?

Lauriane Bougaret¹, Elise Goiffon¹, Laetitia Delort¹, Hermine Billard¹, Elodie Metral², Camille Lehuède², Ali Mojallal³, Odile Damour³, Marie-Paule Vasson^{1,4,5}, Florence Caldefie-Chézet^{1,4}

(1) UMR1019-INRA-UdA, UNH, ECREIN, Clermont-Ferrand

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

(3) Service de chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, Hôpital Edouard-Herriot, Lyon

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

(5) CLCC Jean-Perrin, Clermont-Ferrand

Lauriane.bougaret1@udamail.fr

Le cancer du sein est associé à une moindre réponse thérapeutique chez les patientes obèses et impliquerait l'interaction entre sécrétions adipocytaires (*i.e.* leptine (LEP)), et hormonothérapie. Le but de cette étude est de caractériser, *in vitro*, l'impact: i/ de la LEP, sur l'efficacité de deux anti-œstrogènes (Tamoxifène (Tx), Fulvestrant (Fv)) et un anti-aromatase (Létrozole (Lz)) ; ii/ du secrétât adipocytaire de la femme mince ou obèse sur la réponse au Tx. Pour cela, i/ la prolifération des cellules néoplasiques mammaires (MCF-7) ou issues d'une dystrophie fibrokystique (MCF10a) a été évaluée en présence de Tx, Fv ou Lz et de LEP. ii/ Une culture 3D entre « MCF-7-fibroblastes-adipocytes matures obtenus après différenciation de cellules souches adipeuses de femmes minces (AM20) ou obèses (AM30) » a été réalisée en présence ou non de Tx. Des marquages immunohistologiques (Ki67), l'étude d'expressions géniques analysées en composante principale (ACP) ont été réalisés. i/L'inhibition de prolifération des cellules MCF-7 induite par le Tx et le Lz (-15% et -12%, $p < 0,05$, Tx ou Lz vs Contrôle (C)) n'est plus retrouvée en présence de LEP. A l'inverse, celui du Fv (-20%, $p < 0,001$, Fv vs C) n'est pas modifié par la LEP. La prolifération des cellules MCF-10a n'est pas modifiée par le Tx alors que le Fv et le Lz la diminuent (-8%, $p < 0,05$ et -16%, $p < 0,001$, Fv ou Lz vs C). ii/La culture 3D montre une diminution de l'effet antiprolifératif du Tx en présence d'AM30 (marquage Ki67) et une augmentation de l'expression génique du *TNF α* (x2,71, MCF-7/AM30 vs MCF-7/AM20, $p < 0,01$). L'ACP, réalisée sur 42 gènes (angiogénèse, cytokines...) permet de distinguer deux profils selon leur exposition au Tx et/ou aux AM30. Ainsi, la LEP diminue l'effet du Tx et du Lz. Les sécrétions adipocytaires des AM30 contrecarrent l'effet du Tx, suggérant une interaction à prendre en considération chez les femmes obèses.

