HAL
open science

Effect of High-Fat Diet and its Reversal on the Thoracic Duct Lymph Composition in Pigs

A. Szuba, A. Gomulkiewicz, D. Janczak, I. Grzegorek, K. Jablonska, K. Drozdz, M. Chmielewska, A. Piotrowska, R. Paslawski, U. Paslawska, et al.

To cite this version:

A. Szuba, A. Gomulkiewicz, D. Janczak, I. Grzegorek, K. Jablonska, et al.. Effect of High-Fat Diet and its Reversal on the Thoracic Duct Lymph Composition in Pigs. 6. Journée scientifique du CNRH Auvergne, 2013, Clermont - Ferrand, France. , 2013, 6ème Journée scientifique du CNRH Auvergne. hal-02745021

HAL Id: hal-02745021

https://hal.inrae.fr/hal-02745021v1

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

CRNHS
CENTRES DE RECHERCHE
EN NUTRITION HUMAINE

CRNH
CENTRE DE RECHERCHE
EN NUTRITION HUMAINE
AUVERGNE

6ème Journée Scientifique du CRNH Auvergne

Pôle Physique des Cézeaux, 28 novembre 2013

Organisation : Bureau CRNH Auvergne

CHU CLERMONT FERRAND

INRA SCIENCE & IMPACT

UdA

UNIVERSITE BLAISE PASCAL CLERMONT-FERRAND UBP

Centre JEAN PERRIN

Inserm
Institut national de la santé et de la recherche médicale

Programme

8h00 Accueil, installation des posters

9h00 Introduction (N Cano)

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

CO1 Etude du niveau d'activation volontaire maximale de l'adducteur du pouce par la stimulation magnétique
périphérique chez les enfants et les adultes.
V. Martin, V. Kluka, S. Garcia Vicencio, F. Maso, S. Ratel

CO2 Etude in vitro de l'effet de la vitamine D sur la différenciation des cellules musculaires L6 en situation d'agression.
C. Domingues, S. Rougé, J. Salles, V. Patrac, S.Walrand, M.-P.Vasson, N.Goncalves-Mendes

CO3 GPR40 limits bone loss induced by ovariectomy upon high fat diet
C. Philippe, M-J. Davicco, P. Lebecque, E. Miot-Noirault, V. Coxam, Y. Wittrant

10:00- 10:30 pause

10h30 –11h15 Pathologie dégénérative cardiovasculaire (A. Mazur)

CO4 Le concept "Archaebiotics", vers de nouveaux probiotiques préventifs des maladies cardiovasculaires?
J-F. Brugère, G. Borrel, N. Gaci, W. Tottey, M. Alric, C. Malpuech-Brugère, P. O'Toole

CO5 Modulation by the n-6 to n-3 PUFA ratio of cardiac phospholipids of the anti-arythmic effects of lidocaine
L. Demaison, D. Moreau, F. Clauw, C. Vergely, L. Rochette

CO6 Phénotypage métabolique du miniporc: une base à des applications en nutrition humaine
S. Polakof, D. Rémond, M. Rambeau, C. Prolhac, J-F. Martin, E. Pujos-Guillot, J-L. Sébédio, D. Dardevet , B. Comte, I. Savary-Auzeloux

11h15 -12h05 Conférence – Christophe Pison (LBFA, Inserm1055, CHU, Grenoble)

« AG n-3 et fonctions musculaires dans les conditions d'hypoxie »

12:15 – 13 :30 Repas

13h30 – 14h15 Cancer hormono-dépendants (C. Beaudoin)

CO7 Obésité et Cancer du sein : Interaction entre hormonothérapie (Tamoxifène) et sécrétions adipocytaires.
L. Bougaret, L. Delort, T. Chaput, C. Lequeux, H. Billard, A. Rossary, A. Mojallal, O. Damour, M-P. Vasson, F. Caldefie-Chézet.

CO8 Rôle protecteur des LXRs dans la croissance tumorale et la dissémination du cancer de la prostate.
A. Alioui, J. Dufour, A. Pommier, A. Trousson, V. Leoni, J-L. Kemeny, L. Guy, J-M. Lobaccaro, S. Baron

CO9 Etude des modifications post-traductionnelles des histones: rôle de la triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3 dans le cancer de la prostate.
M. Ngollo, A. Dagdemir, F. Penault-Llorca, J-P. Boiteux, L. Guy, A. Lebert, Y-J. Bignon, D. Bernard-Gallon

14h15 – 15h45 Posters

15:45 - 16:00 Pause

16h00 – 16h45 Tractus gastro-intestinal (N. Barnich)

CO10 Western diet decreases short-chain fatty acid concentration in the gut, leading to exacerbation of DSS-induced colitis.
A. Agus, J. Denizot, J. Thevenot, E. Billard, S. Denis, A. Darfeuille-Michaud, N. Barnich

CO11 Le monoxyde d'azote inhibe l'adhésion des Escherichia coli entérohémorragiques aux entérocytes humains.
P. Branchu, S. Matrat, M. Vareille, S. Crépin, J. Harel, G. Jubelin, A. P. Gobert

CO12 Promotion de l'inflammation et de la proliferation cellulaire par e. Coli colonisant la muqueuse intestinale de patients atteints de cancer colorectal.
J. Raisch, E. Buc, M. Bonnet, P. Sauvanet, E. Vazeille, A. De Vallee; G. Dalmasso, P. Dechelotte, C. Darcha, D.Pezet, R. Bonnet, M-A Bringer, A. Darfeuille-Michaud

POSTERS

Tissus osseux et musculaire (O. Lebacquer – D. Remond)

P1 GPR40 differentially impacts osteoblast behavior depending on differentiation stage and environment.
C. Philippe, F. Wauquier, V. Coxam, Y. Wittrant

P2 Vitamin D administration positively regulates fasted muscle protein synthesis rate in vitamin D depleted old rats.
A. Chanet, J. Salles, C. Giraudet, A. Berry, M-L. Colin, V. Patrac, M. Jourdan, Y. Luiking, S. Verlaan, Y. Boirie, S. Walrand

P3 Adaptations de la fonction mitochondriale dans le muscle squelettique de rat : comparaison entre un programme d'entrainement en concentrique et deux programmes d'entrainement en excentrique.
G. Ennequin, P. Sirvent, K. Caillaud, V. Chavanelle, F. Capel, B. Morio, N. Boisseau, R. Richard

P4 Vieillissement musculaire: effet du syndrome métabolique.
M. Gueugneau, C. Coudy-Gandilhon, B. Meunier, C. Barboiron, A. Listrat, L. Feasson, M. Ravelojaona, D. Attaix, J-C Barthelemy, B. Picard, D. Béchet

P5 Regeneration of the rat tibialis anterior muscle is impaired despite induction of the SPARC-β-catenin pathway during post-immobilization recovery.
L. Slimani, E. Vazeille, C. Deval, J. Amat, C. Polge, D. Béchet, D. Taillandier, D. Dardevet, D. Attaix, L. Combaret

P6 Localisation de la masse grasse et oxydation des substrats énergétiques à l'exercice chez la femme normo-pondérée.
L. Isacco, P. Duche, D. Thivel, A. Meddahi-Pelle, S. Lemoine-Morel, M. Duclos, N. Boisseau

P7 Les protéines solubles du lait accélèrent la récupération des aptitudes fonctionnelles musculaires à la suite d'une immobilisation.
V. Martin, S. Ratel, J. Siracusa, P. Le Ruyet, L. Combaret, I. Savary-Auzeloux, C. Guillet, D. Dardevet

P8 Évaluation des besoins protéiques avant et 3 mois après chirurgie bariatrique chez des patients atteints d'obésité Morbide.
A. Masgrau, A. Mishellany-Dutour, K. Slim, M. Robert, E Disse, N.Feugier, V. Sauvinet, P. Le Ruyet, C. Guillet, J. Gallo, M. Miolanne, N. Farigon, J. Goudable, M. Laville, Y. Boirie

P9 Reproductibilité test-retest de la relation moment-angle des extenseurs du genou chez les adolescents obèses.
S. Garcia Vicencio, S. Ratel, V. Kluka, M. Berger, M. Taillardat, V. Martin

Pathologies dégénératives cardiovasculaires (S. Polakof – D. Milenkovic)

P10 Effect of High-Fat Diet and its Reversal on the Thoracic Duct Lymph Composition in Pigs.
A.Szuba, A. Gomulkiewicz, D. Janczak, I. Grzegorek, K. Jablonska, K. Drozdz, M. Chmielewska, A. Piotrowska, R. Paslawski, U. Paslawska, A. Janiszewski, P. Dziegiel, N. Gérard, S. Thien, A-M. Verny, A. Mazur.

P11 Magnesium and pharmacological calcium blockers modulate the activation and the response of T-lymphocytes in vitro.
P. Libako, J. Miller, W. Nowacki, J. A. Maier, A. Mazur

P12 Metabolomic approach to determine exposure to bioactive compounds after consumption of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus) juice.
J-M Fallas-Ramírez, C. Manach, J-F. Martin, B. Lyan, E. Pujos-Guillot, F. Vaillant

P13 Preserved endothelium-dependent dilatation of the coronary microvasculature at the early phase of diabetes mellitus despite the increased oxidative stress and depressed cardiac mechanical function ex vivo
E. Mourmoura, G. Vial, B. Laillet, J-P Rigaudière, I. Hininger-Favier, H. Dubouchaud, B. Morio, L. Demaison

P14 Oméga-3, Obésité et Syndrome Métabolique.
A. Pinel, C. Malpuech-Brugère, B. Morio et F. Capel

P15 Plasma flavanol metabolites modulate expression of miRNA in endothelial cells and affect post-transcriptional regulation of genes regulating adhesion and transendothelial migration
D. Milenkovic, B. Jude, C. Boby, C. Morand

P16 Vascular and Nutrigenomic effects of a long-term grapefruit juice consumption: a controlled randomized cross-over study in post-menopausal women.
V. Habauzit, D. Milenkovic, M-A. Verny, C. Bobby, A. Mazur, C. Dubray, C. Morand

P17 Acute intake of curcumin differentially affects endothelial function in male and female smokers: a clinical and molecular analysis.
N. Barber-Chamoux, D. Milenkovic,M-A Verny, V. Habauzit, A. Mazur, C. Dubray, C. Morand

P18 Mate *(Ilex paraguariensis A.St.-Hil.)* – Intérêt nutritionnel et rôle dans la protection cardiovasculaire.
E. Lara Cardozo Junior, D. Milenkovic, C. Morand

P19 Consommation médicamenteuse et Syndrome Métabolique : place de l'activité physique et de la nutrition.
C. Lanhers, Hons, B. Lesourd, D. Courteix, G. Lac, R. Chapier, V. Sapin, G. Walther, A. Vinet, P. Obert, M. Duclos, F. Dutheil,

Tractus gastro-intestinal (G. Delmasse – D. Boucher)

P20 The GCN2/eIF2α/ATF4 signaling pathway is necessary for autophagy response to infection with Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli*.
H. Thi Thu Nguyen, J. Carrière, G. Dalmasso, A-C. Maurin, A. Bruhat, A. Darfeuille-Michaud

P21 Etude des effets préventifs d'extraits de marc de raisin sur l'inflammation colique induite par le sulfate de dextran sodique (DSS) chez le rat.
A. Boussenna, J. Cholet, N. Goncalves-Mendes, J. Joubert-Zakeyh, D. Fraisse, O. Texier, M-P Vasson, C. Felgines

P22 Importance des mucinases bactériennes dans la colonisation intestinale.
L. Gibold, C. Vachias, G. Dalmasso, N. Barnich, R. Bonnet, J. Delmas

P23 Biomarqueurs tissulaires et profils métaboliques des Carcinomes Hépato-Cellulaires (CHC) Analyse par Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton.
C. Teilhet, D. Morvan, J. Joubert-Zakeyh, P. Dechelotte, D. Pezet, E. Buc, B. Pereira, AS. Biesse, G. Lamblin, S. Massoulier, M. Peoc'h, J. Porcheron, MP. Vasson, A. Demidem, A. Abergel

Cancers hormono-dépendants (S. Baron – A. Rossary)

P24 Etude des marques méthylantes et acétylantes dans les cancers sporadiques du sein et leurs tissus sains correspondants.
G. Judes, A. Dagdemir, S. Karsli-Ceppioglu, M. Ngollo, A. Lebert, F. Penault-Llorca, Y-J Bignon, D. Bernard-Gallon

P25 Histone lysine trimethylation or acetylation can be modulated by histone mehylation inhibitor and anti-HDAC like sodium butyrate in breast cancer cell lines.
A. Dagdemir, G. Judes, M. Echegut, S. Karsli-Ceppioglu, M. Ngollo, F. Penault-Llorca, Y-J Bignon, D. Bernard-Gallon

P26 La modulation *in vitro* du statut oxydatif par la leptine est dépendante du statut néoplasique des cellules épithéliales mammaires.
S. Mahbouli, A. Rossary, S. Rougé, J. Talvas, N. Goncalves-Mendes, M-C Farges, M-P Vasson

COMMUNICATIONS ORALES

CO1

Etude du niveau d'activation volontaire maximale de l'adducteur du pouce par la stimulation magnétique périphérique chez les enfants et les adultes

Vincent Martin[1], Virginie Kluka[1], Sebastian Garcia Vicencio[1], Freddy Maso[2], Sébastien Ratel[1]

(1) Clermont Université, Université Blaise Pascal, EA 3533, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en Conditions Physiologiques et Pathologiques, BP 10448, F-63000 Clermont-Fd
(2) Centre de formation, ASM Rugby, Clermont-Ferrand

Sebastien.RATEL@univ-bpclermont.fr

Les facteurs contribuant à l'augmentation de la force maximale volontaire au cours de la croissance restent encore débattus. Même si le rôle de la masse musculaire dans l'augmentation de la force maximale volontaire fait consensus, celui des facteurs nerveux (i.e. le niveau d'activation volontaire - NA) reste encore très discuté. Cette discordance pourrait être en partie attribuée à l'effet confondant du niveau d'activité physique sur le NA. Par conséquent, l'objectif de cette étude était de comparer, entre enfants prépubères et adultes, le NA d'un muscle peu sensible au niveau d'activité physique.

Les propriétés neuromusculaires de l'adducteur du pouce de 13 garçons prépubères et de 8 hommes ont été évaluées à l'aide de stimulations magnétiques simples et de contractions maximales volontaires isométriques (CMV). Les stimulations magnétiques étaient délivrées sur le nerf ulnaire pendant (secousse surimposée), puis 3 s après la fin de la CMV, afin de calculer le NA. Enfin, la surface de section anatomique (CSA) de l'adducteur du pouce était mesurée par échographie, ce qui permettait de déterminer la force spécifique (force maximale/CSA).

Comme attendu, la force maximale et la CSA de l'adducteur du pouce étaient significativement inférieures chez les enfants par rapport aux adultes. De plus, la force spécifique (46,8 ± 12,9 vs. 56,9 ± 8,9 N/cm^2; $P < 0,05$) et le NA étaient inférieures chez les enfants (85,0 ± 9,9 vs. 94,8 ± 3,8 %; $P < 0,05$).

En conclusion, les garçons prépubères ont une aptitude réduite à activer leur adducteur du pouce, par rapport aux hommes. Ce déficit d'activation pourrait en partie expliquer la plus faible production de force spécifique chez les enfants.

CO2

Etude *in vitro* de l'effet de la vitamine D sur la différenciation des cellules musculaires L6 en situation d'agression

Domingues C.[1,2], Rougé S.[1], Salles J.[2], Patrac V.[2], Walrand S.[2], Vasson M.-P.[1,3], Goncalves-Mendes N.[1]

(1) UMR1019-INRA/UdA, Equipe ECREIN, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France
(2) UMR1019-INRA/UdA, Equipe NuTriM, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France
(3) Centre Jean Perrin, Unité de Nutrition, Clermont-Ferrand, France

nicolas.goncalves-mendes@udamail.fr

Des études in vitro et cliniques montrent que la vitamine D potentialise la différenciation des cellules musculaires et également une corrélation positive entre la concentration plasmatique de cette hormone et la force ou la masse musculaire. En situation d'agression, comme le sepsis, une atrophie du muscle est observée, qui pourrait être limitée par la vitamine D. Dans ce contexte, l'objectif de l'étude est de caractériser, dans la lignée L6 de cellules musculaires de rat, l'impact de la vitamine D sur les marqueurs de la différenciation musculaire en présence ou non de lipopolysaccharide (LPS) comme agent d'agression.
La différenciation des L6 cultivées en absence (D0) ou en présence de 50 ng/mL (D50) de 25-hydroxyvitamine D3 (25OH-D), avec ou sans LPS (1µg/mL), a été étudiée en cinétique sur 6 jours.
L'analyse morphologique des L6 montre la formation de myotubes dès J3 pour D50 et à J6 pour D0. Cette formation est totalement inhibée en présence de LPS de J0 à J6 (D0-LPS). En condition D50-LPS, la formation des myotubes est restaurée à J6. L'expression des ARNm analysée par qPCR de la myogénine et de la myosine tend à augmenter de J1 à J6 en présence ou non de 25OH-D, le LPS retarde la cinétique d'expression de ces deux marqueurs en condition D0. Le traitement à la 25OH-D ne module pas l'effet du LPS sur la cinétique d'expression des ARNm de la myogénine et de la myosine. L'expression génique du VDR est augmentée à J1 en présence de 25OH-D, puis diminuée à J3 et J6. Le LPS tend à inhiber l'expression du VDR en présence de 25OH-D à J1 (D50-LPS : 3.38 ± 1.48). L'expression de la CYP27B1 augmente significativement de J1 à J6 quelle que soit le traitement.
Ces données préliminaires montrent le rôle clé in vitro de la vitamine D dans la préservation de la différenciation musculaire.

CO3

GPR40 limits bone loss induced by ovariectomy upon high fat diet

Claire Philippe [1,2,3], Marie-Jeanne Davicco [1,2,3], Patrice Lebecque [1,2,3], Elisabeth Miot-Noirault[4], Véronique Coxam [1,2,3] 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) UMR INSERM 990, CLERMONT-FERRAND, France

Yohann.wittrant@clermont.inra.fr

We formerly demonstrated that GPR40 prevents from osteoporosis establishment using synthetic agonist. Here, we questioned whether stimulation of GPR40 by fatty acids, the natural ligands for GPR40, may parallel with its described beneficial effects on bone. In this study we demonstrated for the first time that GPR40 limits bone loss induced by ovariectomy upon high fat diet. Taken together, our results demonstrate that GPR40 mediates beneficial effects of high fat diets mainly by targeting the bone cell coupling and subsequent osteoclastic bone resorption.

CO4

Le concept "Archaebiotics", vers de nouveaux probiotiques préventifs des maladies cardiovasculaires?

Jean-François Brugère[1], Guillaume Borrel[1,2], Nadia Gaci[1], William Tottey[1], Monique Alric[1], Corinne Malpuech-Brugère[3], Paul O'Toole[2]

(1) EA 4678 CIDAM, CRNH-Auvergne,
Université d'Auvergne, Clermont-Université.
(2) School of Microbiology and Alimentary Pharmabiotic Centre,
University College Cork, Ireland.
(3) INRA, UMR 1019 UNH, CRNH-Auvergne,
Université d'Auvergne, Clermont-Université.

Jf.brugere@udamail.fr

D'origine intestinale, la trimethylamine (TMA) provient du métabolisme de divers nutriments par le microbiote intestinal (phosphatidylcholine, choline, L-carnitine, oxyde de trimethylamine TMAO). Absorbée, elle est oxydée par la flavine-monoxygénase 3 hépatique (FMO3) en TMAO qui rejoint la circulation sanguine. Très récemment, le TMAO (d'origine alimentaire via le métabolisme microbien de l'intestin) est apparu comme biomarqueur du risque cardiovasculaire et un rôle athérogène est fortement suspecté.

Nous avons mis en évidence un nouvel ordre d'Archaea méthanogènes (7e ordre), présent notamment dans le tractus digestif (insectes, ruminants, homme) avec une plus grande prévalence chez les personnes âgées de 65 ans et plus (de l'ordre de 20% de la population). A partir de 3 génomes de souches digestives, des caractéristiques métaboliques et énergétiques uniques au sein du vivant ont pu être mises en évidence, telle une méthanogenèse semblant strictement limitée aux composés méthylés (méthanol, méthylamines, diméthylsulfide), sous la dépendance d'H2: le métabolisme anaérobie de la TMA est ainsi possible, et fait intervenir notamment une méthyltransférase particulière (MttB) incorporant au moment de sa synthèse, la pyrrolysine (Pyl, 22e acide aminé protéogène) par suppression traductionnelle d'un codon non-sens ambre. Cette conversion métabolique en méthane est montrée en culture pure de la seule souche isolée à ce jour (Methanomassiliicoccus luminyensis).

Ceci fait de ce 7e ordre, en particulier des souches digestives, des candidats privilégiés pour une utilisation probiotique. Certaines souches montrent une meilleure adaptation à l'environnement digestif humain, avec des gènes de résistance aux sels biliaires. De plus, le méthane produit est considéré comme inerte pour l'homme (exhalé par environ 50 % de la population humaine productrice de ce gaz par son microbiote). Pour ces raisons, il serait possible de réduire la production de TMA par le microbiote intestinal au niveau intestinal, et par cela, la production hépatique de TMAO délétère, directement in situ au moment de sa synthèse intestinale, via des archaebiotiques.

CO5

Modulation by the n-6 to n-3 PUFA ratio of cardiac phospholipids of the anti-arrhythmic effects of lidocaine

Luc Demaison[1,2,3,4], Daniel Moreau[5], Fabienne Clauw[1], Catherine Vergely[5], Luc Rochette[5]

(1) Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée, INSERM U1055, Université Joseph Fourier, Grenoble ;
(2) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63009 CLERMONT-FERRAND, FRANCE
(3) Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France
(4) Equipe, contrôle de l'Homéostasie Lipido-Energétique et Obésité
(5) Université de Bourgogne, LPPCE, IFR Santé STIC n°100 – Faculté de Médecine, Dijon

luc.demaison@clermont.inra.fr

Background: Enrichment of cardiac phospholipids with eicosapentaenoic acid (EPA) is known to be cardioprotective during ischemia/reperfusion. This study aimed at studying the effect of dietary EPA-rich fish oil on the occurrence of severe reperfusion arrhythmias, at determining if the anti-arrhythmic lidocaine modulates that effect and at trying to evaluate the mechanism of these treatments.

Materials and Methods: Rats were fed two diets differing in their PUFA composition for 8 weeks. The first one contained 10% of sunflower seed oil (SSO) and the second one 5% of fish oil (FO) plus 5% of SSO. The hearts were then perfused according to the working mode with a perfusion medium containing or not lidocaine (5µM) and their activity was stabilized for 15 min. Thereafter, they were subjected to local ischemia by ligation of the left anterior descending coronary artery for 20 min and reperfusion for 30 min. The coronary, aortic flows and severe arrhythmias (tachycardia and fibrillation) were monitored throughout perfusion. After the perfusion, mitochondria were extracted from the non-ischemic and ischemic zones and their respiration was evaluated.

Results: The FO-rich diet triggered enrichment in n-3 PUFA of cardiac phospholipids. EPA, DPA and DHA were increased at the expense of AA and highest n-6 PUFAs. In the perfused hearts, pre-ischemic cardiac function was similar in the 4 subgroups. Ischemia reduced partially the coronary (-42% as soon as the 5th min of ischemia) and aortic (-64% at the end of ischemia) flows. The main disorders happened after ischemia with the occurrence of severe arrhythmias. Their severity was strongly increased in the FO group compared to the SSO group. Interestingly, lidocaine treatment suppressed completely their occurrence in the FO group without modifying them in the SSO group. Our data also show that the effects of lidocaine and PUFAs on reperfusion arrhythmias can be explained by changes in mitochondrial calcium retention capacities (mcrc).

Conclusions: The pro-arrhythmic effect of n-3 PUFAs observed in our experimental conditions seems to be due to lower mcrc and maybe occurrence of calcium spikes. Lidocaine had the opposite effect. N-6 PUFA-rich hearts were resistant to lidocaine, since they had already reached their maximal mcrc in the absenc²e of the drug.

CO6

Phénotypage métabolique du miniporc: une base à des applications en nutrition humaine

Sergio Polakof, Didier Rémond, Mathieu Rambeau, Charlotte Prolhac, Jean-François Martin, Estelle Pujos-Guillot, Jean-Louis Sébédio, Dominique Dardevet , Blandine Comte, Isabelle Savary-Auzeloux

INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France
Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France
INRA, UMR 1019, Plateforme d'Exploration du Métabolisme, UNH, INRA, F-63000 Clermont-Ferrand, France

Sergio.polakof@clermont.inra.fr

Une des applications les plus novatrices des approches métabolomiques est l'analyse cinétique, sur un même individu, des changements du métabolome (trajectoire métabolomique) lors de l'adaptation du métabolisme à une altération du régime. L'objet du présent travail est de valider la possibilité d'une approche de ce type à l'échelle de la journée, en utilisant un modèle de mini porc cathétérisé permettant des suivis longitudinaux. Trois miniporcs Gottingen ont été nourris avec un repas test et des échantillons de sang ont été prélevés à jeun puis 1, 2, 3 et 4h après le repas à l'aide d'un cathéter artériel. Nous avons mesuré les taux circulants de glucose, insuline, triglycérides, lactate et urée ainsi que le métabolome plasmatique par UPLC-MS (QToF). L'étude du métabolome montre que les niveaux circulants d'environ 50% des métabolites détectés sont altérés lors de l'ingestion du repas, confortant l'idée que le repas constitue un perturbateur majeur du phénotype des métabolites plasmatiques. Les analyses statistiques multivariées permettent la discrimination des animaux à jeun des animaux nourris (quel que soit le point de cinétique). La trajectoire métabolique peut être expliquée en trois étapes : une 1ère à t0, une 2ème regroupant les points t1 et t2 et une 3ème comprenant les points t3 et t4. La différence entre les points t0 et t1-t2 peut être expliquée par l'augmentation des taux d'acides aminés et de glucides simples, ainsi que une forte diminution des taux des lipides. La rupture entre les points t1-t2 et t3-t4 reste encore inexpliquée et les identifications sont en cours pour expliquer cette discrimination spécifique. Nous avons ainsi montré que l'utilisation d'une approche globale, la métabolomique, couplée à un modèle animal permettant une étude cinétique était capable de discriminer des phases adaptatives spécifiques à l'ingestion du repas. Nous avons ainsi décomposé en 3 étapes clés l'adaptation du métabolisme à l'ingestion du repas test : à jeun, nourri après 1-2h et nourri après 3-4h. La connaissance de ces données cinétiques est cruciale pour déterminer (i) les moments clés au cours desquels des analyses du métabolisme plus approfondies mériteront d'être réalisées (ii) établir des hypothèses sur les molécules et métabolites responsables des variations de l'homéostasie qui pourront être ciblées par la suite.

CO7

Obésité et Cancer du sein : Interaction entre hormonothérapie (Tamoxifène) et sécrétions adipocytaires.

Lauriane Bougaret[1,5], Laetitia Delort[1,5], Tiphanie Chaput[1], Charlotte Lequeux[3,5], Hermine Billard[1,5], Adrien Rossary[1,5], Ali Mojallal[4,5], Odile Damour[3,5], Marie-Paule Vasson[1,2,5], Florence Caldefie-Chézet[1,5].

(1) UMR1019 – INRA-UdA, Unité de Nutrition Humaine, Equipe ECREIN, UFR Pharmacie, Université d'Auvergne ;
(2) Centre anti-cancéreux Jean-Perrin Clermont-Ferrand ;
(3) Banque de tissus et de cellules,
(4) Service de chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, Hôpital Edouard-Herriot, Lyon ;
(5) Projet CASTA, ONCOSTARTER, CLARA, Cancéropôle Lyon, Auvergne, Rhône-Alpes.

laurianebougaret@hotmail.fr

Etat de la question : L'obésité, facteur de risque établi de cancer du sein en post-ménopause, semble également associée à une moindre réponse thérapeutique. Une interaction entre sécrétions adipocytaires (leptine) et certaines thérapies anti-tumorales a été mise en évidence[1]. But de l'étude : Dans ce contexte, mieux comprendre l'influence des sécrétions adipocytaires sur l'efficacité du Tamoxifène (Tx), traitement hormonal de référence, apparaît nécessaire.

Matériel et méthodes : 1/ L'effet du Tx sur la prolifération (fluorescence) des cellules mammaires cancéreuses (MCF-7), fibrokystiques (MCF10a) ou normales (184B5) prétraitées par la leptine (10, 100, 1000 ng/mL) a été déterminé. 2/ Des co-cultures entre cellules (2.10^4/puits) tumorales (MCF-7) ou normales (184B5) et Adipocytes Matures (6.10^3/puits) issues de femmes minces (IMC=20, AM20), en surpoids (IMC=27, AM27) ou obèses (IMC=30, AM30) ont été réalisées. Moyenne ± ESM, test t sur séries appariées (Statview®).

Résultats : L'impact inhibiteur du Tx sur la prolifération n'est plus retrouvé en présence de leptine au niveau des cellules tumorales et reste inchangé au niveau des cellules normales. Les résultats de co-culture montrent : **i)** une augmentation, en présence d'AM27, de la prolifération des cellules MCF-7 (+28%, $p<0,05$, AM30 *vs* C) et 184B5 (+56% $p<0,05$, AM30 *vs* C), majorée en présence d'AM30 ; **ii)** une diminution de la prolifération des cellules MCF-7 (-80%) et 184B5 (-75%) en présence de Tx ($p<0,001$, Tx *vs* C) ; **iii)** une moindre efficacité du Tx sur la prolifération des cellules MCF7 (-65%, $p<0,001$, AM30+Tx *vs* AM30) et 184B5 (-50%, $p<0,001$, AM30+Tx *vs* AM30) d'autant plus marquée que les AM proviennent de femmes d'IMC élevé.

Conclusion : Ces résultats suggèrent que l'augmentation du risque de mortalité face au cancer du sein chez les femmes en surpoids pourrait être, en partie, expliquée par un phénomène d'échappement tumoral impliquant les AM.

[1] Dubois *et al*, Plos one, 2013.

CO8

Rôle protecteur des LXRs dans la croissance tumorale et la dissémination du cancer de la prostate

Anthony ALIOUI[1], Julie DUFOUR[1], Aurélien POMMIER[2], Amalia TROUSSON[1], Valerio LEONI[3], Jean-Louis KEMENY[4], Laurent GUY[5], Jean-Marc LOBACCARO[1] et Silvère BARON[1]

(1) Unité GReD - Génétique Reproduction et Développement, CNRS 6293 INSERM U1103 Clermont Université, Campus des Cézeaux, 24, av. des landais, 63171 Aubière Cedex, France.
(2) AstraZeneca R&D | Oncology iMed, Room 33F83/19 Mereside, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, United Kingdom.
(3) UO Patologia Clinica e genetica medica, R17, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "C. Besta", via Celoria 11, 20133 Milano (MI), Italy.
(4) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques CHU Gabriel Montpied, 58, rue Montalembert, 63003 Clermont-Ferrand 1, France.
(5) Service d'Urologie CHU Gabriel Montpied, 58, rue Montalembert, 63003 Clermont-Ferrand 1, France.

Anthony.alioui@etudiant.univ-bpclermont.fr

La prise en charge clinique du cancer de la prostate est complexe. Celui-ci présente une forte hétérogénéité intra-tumorale, limitant l'identification des éléments génétiques impliqués dans la progression de la maladie. Nous avons montré le rôle pro-apoptotique des *Liver X Receptors* (LXRs) dans la lignée LNCaP. Afin de tester l'hypothèse de l'activation d'une voie protectrice dépendante des LXRs dans un modèle d'adénocarcinome prostatique, le modèle d'invalidation conditionnelle du suppresseur de tumeur Pten (souris *Pten*$^{pc-/-}$) a été utilisé. L'inactivation de Pten conduit à une augmentation importante de la croissance tumorale et à la dissémination métastatique.
Nos résultats montrent :
* la prolifération de l'épithélium prostatique associée à l'invalidation conjointe des *Lxrs* et de *Pten*.
* une augmentation des marqueurs d'agressivité tumorale et des lésions intra-prostatiques, avec dissémination métastatique pulmonaire systématique.
* une activation endogène et constitutive des LXRs en contexte *Pten*$^{pc-/-}$
* une augmentation du cholestérol et de ses esters intra-prostatique, sources du ligand naturel des LXRs, les oxystérols.
* l'augmentation de messagers codant des métalloprotéases ou des protéines proangiogéniques.

La poursuite de cette étude est de caractériser les mécanismes moléculaires. L'ensemble de ces résultats place les LXRs comme des cibles thérapeutiques prometteuses.

Financements : Fondation ARC, Ligue Auvergne, Région Auvergne, ARTP.

CO9

Etude des modifications post-traductionnelles des histones: rôle de la trimethylation de la lysine 27 de l'histone H3 dans le cancer de la prostate.

Marjolaine Ngollo[1,2,3], Aslihan Dagdemir[1,2,3],Frédérique Penault-Llorca[2], Jean-Paul Boiteux[4], Laurent Guy[2,4], André Lebert[5], Yves-Jean Bignon[1,2,3], Dominique Bernard-Gallon[1,2,3]

(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) CNRH, 58 rue Montalembert, 63009 Clermont-Ferrand Cedex 1, France
(4) CHU Gabriel Montpied, Département d'Urologie, 58 rue Montalembert 63003 Clermont-Ferrand, France
(5) Université Blaise Pascal, Institut Pascal UMR 6602 CNRS/UBP, 24 avenue des Landais, 63170 Aubière, France

nmarjolaine@yahoo.fr

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'homme. Il repose sur des altérations génétiques et épigénétiques. Les principales altérations épigénétiques sont la méthylation de l'ADN et les modifications post-traductionnelles des histones. Ces altérations jouent un rôle prépondérant dans la carcinogenèse prostatique. Le but de cette étude est d'établir une corrélation entre la proportion de marques H3K27me3 sur les gènes *EZH2, RARβ2, ERα, SRC3, RGMA* et *PGR* et le score de Gleason. Pour cela, 71 biopsies de prostate saine et 52 biopsies d'adénocarcinome de la prostate ont permis de déterminer la proportion de marques H3K27me3 par ChIP-qPCR et de quantifier l'expression de ces gènes par RT-qPCR. Les résultats ont ensuite été confirmés par western-blot. Une analyse de variance (ANOVA) suivie du test de Bonferroni a servi à l'analyse statistique des résultats. Les résultats obtenus ont permis de discriminer deux groupes de gènes entre les patients ayant un adénocarcinome de la prostate et les patients sains : un premier groupe (*RARβ2, ERα, RGMA* et *PGR)* présentant une forte proportion de marques H3K27me3 au niveau de leurs promoteurs et un second (*EZH2* et *SRC3)* avec peu de marques. L'augmentation des marques H3K27me3 sur *RARβ2, ERα, RGMA* et *PGR* est corrélée positivement avec l'agressivité de la maladie. En parallèle, l'expression des gènes *RARβ2, ERα, RGMA* et *PGR* est diminuée aussi bien au niveau ARNm qu'au niveau protéique dans ces adénocarcinomes de prostate comparé aux tissus sains. Cependant, les gènes *EZH2* et *SRC3* sont surexprimés dans les cancers de la prostate. Nos résultats suggèrent qu'il y a une corrélation entre l'augmentation des marques H3K27me3 sur les gènes *RARβ2, ERα, RGMA* et *PGR* et leur répression dans les cancers de la prostate. Ainsi, toutes stratégies visant à la déméthylation des histones par des drogues pharmacologiques, telles que l'utilisation des inhibiteurs d'histone méthyltransférase pourront être envisagées comme pistes thérapeutiques dans le cancer de la prostate.

CO10

Western diet decrease short-chain fatty acids concentration in the gut, leading to exacerbation of DSS-induced colitis

Allison Agus, Jérémy Denizot, Jonathan Thevenot, Elisabeth Billard, Sylvain Denis, Arlette Darfeuille-Michaud, Nicolas Barnich

Clermont Université, M2iSH « Microbe intestin inflammation et Susceptibilité de l'Hôte », UMR 1071 Inserm/Université d'Auvergne; Unité Sous Contrat Institut National de la Recherche Agronomique 2018, Clermont-Ferrand F-63001, France

Allison.agus1@udamail.fr

Objective: Western diet is a risk factor for Inflammatory Bowel Disease (IBD). Such diet induces changes in gut microbiota composition, alters host homeostasis and favors Crohn's disease-associated Adherent-Invasive *Escherichia coli* (AIEC) gut colonization in genetically predisposed mouse model. Here, we evaluated the effects of a High-Fat/High-Sugar (HF/HS) diet on gut micro-inflammation in C57BL6 mice, on selection of *E. coli* population, on concentration of short-chain fatty acids (SCFA) and on mouse sensitivity to DSS-induced colitis.

Methods: C57BL6 mice were fed a conventional or a HF/HS diet for a 18 week-period. Fecal lipocalin 2 (Lcn-2) was measured by ELISA to detect low-grade inflammation during the course of treatment. *E. coli* populations associated to colonic and ileal mucosa were quantified by plating onto Drigalsky gelosis. Concentrations of short-chain fatty acids were measured by gas chromatography in fecal samples from mice fed a conventional or a HF/HS diet. Colitis was induced using 1% of DSS treatment in drinking water for 10 days. The severity of colitis was assessed by disease activity index (DAI) measurment, histological score, cytokine production and myeoloperoxidase (MPO) activity.

Results: HF/HS diet led to an increase in Lcn-2 level in stools after 5 weeks of HF/HS diet treatment and persisted until 18 weeks, showing that HF/HS diet creates a specific inflammatory environment in the gut. Abnormal proportions of *E. coli* bacteria were recovered from colonic and ileal mucosa of mice under HF/HS diet, compared to mice under conventional diet. Significant decreased in short-chain fatty acid concentrations (acetate, propionate, butyrate) were also observed in fecal samples from mice under HF/HS diet, compared to mice fed a conventional diet. These results show that HF/HS diet led to dysbiosis with increased in pro-inflammatory bacteria and decreased in protective SCFA producing bacteria. In addition, HF/HS diet led to an exacerbation of gut inflammation following DSS-induced colitis, with increased DAI, histologic score and MPO activity.

Conclusion: Western diet induces modifications in gut microbiota composition due to induction of gut micro-inflammation. The particular micro-environment created by HF/HS diet leads to decreased SCFA concentrations and increased *E. coli* bacteria associated to mucosa increasing sensitivity to colitis. These results support the multifactorial etiology of IBD and highlight the importance of diet in IBD pathogenesis.

CO11

Le monoxyde d'azote inhibe l'adhésion des *Escherichia coli* entérohémorragiques aux entérocytes humains

Priscilla Branchu[1], Stéphanie Matrat[1], Marjolaine Vareille[1], Sébastien Crépin[2], Josée Harel[2], Grégory Jubelin[1], Alain P. Gobert[1]

(1) UR454 Microbiologie, INRA, Centre de Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle.
(2) GREMIP, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

alain.gobert@clermont.inra.fr

Introduction : Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont des bactéries commensales du tube digestif des animaux d'élevage. Elles peuvent être transmises à l'homme via la consommation d'aliments insuffisamment cuits, dont la viande, le lait cru ou les légumes contaminés par les fèces. Les EHEC colonisent dans un premier temps le côlon de l'hôte infecté en adhérant aux cellules épithéliales intestinales ; cette adhésion est notamment dépendante de facteurs de virulence bactériens codés par des gènes d'un îlot de pathogénicité appelé LEE (pour Locus of Enterocyte Effacement) organisé en 5 opérons. Puis les EHEC libèrent la Shiga-toxine (Stx) qui franchit la barrière épithéliale intestinale et cible les reins, provoquant une insuffisance rénale aiguë. Nous avons démontré que le monoxyde d'azote (NO), un médiateur de la réponse immune innée, inhibe la production de Stx. Notre objectif a donc été d'analyser l'effet du NO sur l'expression des gènes du LEE.

Résultats : Nous avons montré que l'expression des gènes du LEE1, LEE4 et LEE5 est inhibée par un donneur de NO, et que le senseur bactérien de NO, NsrR, est un activateur transcriptionnel de ces opérons. En présence de NO, NsrR se détache des régions promotrices du LEE1/4/5, et ne permet plus la transcription maximale de ces gènes. En parallèle, deux régulateurs du système de résistance à l'acidité, GadE et GadX, sont induits par NO par un mécanisme dépendant de NsrR. GadX réprime indirectement l'expression du LEE1 tandis que GadE inhibe la transcription des gènes portés par le LEE4 et le LEE5. Dans ce contexte, la capacité d'adhésion des EHEC aux entérocytes est diminuée en présence d'un donneur de NO ou lorsque les cellules épithéliales produisent du NO suite à l'activation par un cocktail de cytokines pro-inflammatoires.

Conclusions : L'ensemble de ces résultats démontre l'implication fondamentale de NsrR dans la régulation des gènes du LEE et le rôle potentiel du NO pour limiter la colonisation intestinale par les EHEC.

CO12

PROMOTION DE L'INFLAMMATION ET DE LA PROLIFERATION CELLULAIRE PAR *E. COLI* COLONISANT LA MUQUEUSE INTESTINALE DE PATIENTS ATTEINTS DE CANCER COLORECTAL

Jennifer Raisch[12], Emmanuel Buc[123], Mathilde Bonnet[12], Pierre Sauvanet[123], Emilie Vazeille[123], Amelie De Vallee[12]2; Guillaume Dalmasso[12], Pierre Dechelotte[3], Claude Darcha[3], Denis Pezet[123], Richard Bonnet[123], Marie-Agnes Bringer[12], Arlette Darfeuille-Michaud[123]

(1) UMR I1071 Inserm/Université d'Auvergne ;
(2) INRA USC 2018 ;
(3) Centre Hospitalier Universitaire Clermont-Ferrand

jennifer.raisch1@udamail.fr

Une dysbiose du microbiote intestinal, avec en particulier un nombre augmenté d'*Escherichia coli*, ont été rapportées chez les patients atteints de cancer colorectal (CCR) suggérant l'implication d'un agent infectieux.

Nous avons montré que la muqueuse colique de patients atteints de CCR est colonisée par des souches d'*E. coli* appartenant au phylogroupe B2 (bactéries à fort potentiel pathogène) codant pour des cyclomodulines (toxines pouvant induire des dommages de l'ADN et/ou la prolifération cellulaire), en particulier la colibactine codée par l'ilôt *pks*, et CNF. Les souches d'*E. coli* de phylogroupe B2 associées au CCR sont faiblement adhérentes et invasives et ceci est corrélé à la présence de l'ilôt génomique *pks*. En revanche, plus de la moitié d'entre elles sont capables de former des biofilms sur surfaces abiotiques et sur cellules. Par ailleurs, les souches d'*E. coli* B2 isolées de patients atteints de CCR sont capables d'augmenter l'expression du récepteur CEACAM6 *in vitro.* Enfin, nous avons montré que la souche de *E. coli* B2 11G5 associée au CCR est capable de coloniser la muqueuse intestinale dans un modèle d'infection chronique de souris CEABAC10 transgéniques pour le récepteur CEACAM6, et d'induire une inflammation, des dommages épithéliaux et une prolifération cellulaire.

Ainsi, la colonisation de la muqueuse colique par des souches d'*E. coli* appartenant au phylogroupe B2 pourrait influencer la carcinogenèse en induisant l'expression de CEACAM6, une inflammation et la prolifération cellulaire. La présence de l'îlot génomique *pks* pourrait permettre aux bactéries de modérer la réponse de l'hôte face à l'infection dans le but d'établir une colonisation durable et de promouvoir la carcinogenèse.

POSTERS

P1

GPR40 differentially impacts osteoblast behavior depending on differentiation stage and environment.

Claire Philippe[1,2,3], Fabien Wauquier[1,2,3], Véronique Coxam[1,2,3] 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

Yohann.wittrant@clermont.inra.fr

GPR40 is a free fatty acid receptor that has been recently shown to be involved in bone remodeling. In fact, this receptor protects skeleton by inhibiting differentiation of resorbing cells, osteoclasts. In this study, due to its expression on osteoblast, we hypothesis that GPR40 could also modulate the activity of bone forming cells. GW9508, a synthetic agonist was used to characterize GPR40 influence on osteoblast differentiation, including alkaline phosphatase activity, mineralized nodule formation in MC3T3-E1 osteoblastic cells and bone marrow cultures isolated from wild-type and GPR40 knock-out mice. Both models showed a dual role of GPR40 on osteoblast behavior. Indeed, receptor stimulation induces early stimulation of differentiation marker expression while inhibiting mineralization process. Finally, in vivo data obtained from ovariectomized mice given GPR40 agonist indicated that osteoblasts were weakly impacted and barely contributed to the preventive effect of GPR40 on bone loss.

P2

Vitamin D administration positively regulates fasted muscle protein synthesis rate in vitamin D depleted old rats.

Chanet A[1,2,3], Salles J[1],2,3, Giraudet C[1,2,3], Berry A[1,2,3], Colin ML[1,2,3], Patrac V[1,2,3], Jourdan M[4], Luiking Y[4], Verlaan S[4], Boirie Y[1,2,3], Walrand S[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 Nutrition, Métabolismes et Masse Musculaire
(4) Nutricia Advanced Medical Nutrition, Danone Research, Utrecht, The Netherlands

audrey.chanet@clermont.inra.fr

Rationale: In recent years, there has been a growing body of evidence suggesting vitamin D (vit D) has an effect on muscle mass and function, especially in older people. The aim was to characterize the effects of vit D depletion on muscle protein metabolism in old rats and the benefit of vit D repletion.

Methods: 15-month-old Wistar rats were fed a vit D-deficient diet (VDD group) or a control diet (1000UI/Kg vit D) for 9 months (n=7-9/group). After 6 months of vit D depletion, a set of rats was supplemented with vit D (5000UI/Kg; VDS group) for the last 3 months. At 6 and 9 months, vit D status, body composition and muscle strength were evaluated. A flooding dose of L-[1-^{13}C]-valine was infused to assess the fasted fractional synthesis rate (FSR) of muscle proteins by measuring tracer enrichments in muscle free amino acids and proteins. ANOVA was used for statistical analysis.

Results: Compared to control, 6-month vit D-depleted diet significantly reduced plasma vit D concentration by 82% ($p<0.001$), reaching deficiency (i.e. <25nM). From 6 to 9 months, these concentrations remained stable in control and VDD group, while they increased to 118nM in the VDS group ($p<0.001$). Muscle strength was not significantly affected. However, at 9 months, there was a trend towards a lower plantaris muscle weight in VDD rats ($p=0.06$ compared to control) while muscle mass was preserved in VDS group. Accordingly, fasted muscle protein FSR decreased by 40% in the VDD group compared to controls, but was preserved in VDS rats ($p<0.001$).

Conclusion: Reduced fasted muscle protein synthesis induced by long-term vitamin D deficiency can be prevented by vit D repletion in old rats.

P3

Adaptations de la fonction mitochondriale dans le muscle squelettique de rat : comparaison entre un programme d'entrainement en concentrique et deux programmes d'entrainement en excentrique.

Ennequin G.[1], Sirvent P.[1], Caillaud K.[1], Chavanelle V.[1], Capel F.[2], Morio B.[2], Boisseau N.[1], Richard R.[2]

(1) Laboratoire AME2P, Université Blaise Pascal;
(2) Laboratoire UNH, Université d'Auvergne.

gael.ennequin@hotmail.fr

Le but de cette étude est de comparer les adaptations de la fonction mitochondriale en réponse à un entrainement concentrique ou excentrique. Deux types d'exercices excentriques ont été réalisés. Le premier (EXC -30) a été exécuté à même puissance métabolique que l'exercice concentrique (CONC +15). Le deuxième (EXC -15) a été exécuté à même puissance mécanique que l'exercice concentrique. Un groupe contrôle (CONT) sans entraînement a également été étudié. Nous émettons les hypothèses suivantes : 1/ Les deux types d'exercices excentriques permettront une amélioration de la fonction mitochondriale par rapport à CONT. 2/ L'exercice excentrique réalisé à même puissance métabolique permettra des adaptations dans des proportions similaires à celles induites par l'exercice concentrique.
Après 26 jours d'entrainement, des mesures d'oxymétrie réalisées sur fibres perméabilisées dans le gastrocnémien (GAS) et le vaste interne (VI) ont montré que la constante d'affinité de la mitochondrie pour l'ADP (Km) a significativement augmenté dans le groupe EXC -30 et CONC +15 en comparaison au groupe CONT. Aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant la vitesse maximale de respiration entre les différents groupes. La quantification de l'expression des gènes par RT-PCR dans le GAS a montré une augmentation de PPAR-β dans le groupe EXC -15 comparé au groupe CONT. Dans le VI, seule une augmentation significative de PGC-1α a été notée dans le groupe EXC-30 comparé au groupe CONT. L'activité de la citrate synthase n'a montré aucune différence significative entre les groupes. Au niveau protéique, les résultats des Western-blots ont révélé une augmentation significative de la porine du groupe EXC-15 comparé aux trois autres groupes, mais uniquement dans le VI. Les complexes de la chaine respiratoire et la desmine ne présentaient aucune différence significative d'expression quel que soit le muscle étudié.
Un entrainement en excentrique de 26 jours conduit à différentes adaptations au niveau de la fonction mitochondriale, avec notamment une augmentation du Km dans des proportions similaires à un entrainement en concentrique. D'autres investigations sont nécessaires afin d'élucider les mécanismes cellulaires permettant l'amélioration de la fonction mitochondriale suite à un exercice excentrique.

P4

Vieillissement musculaire: effet du syndrome métabolique

Marine Gueugneau[1], Cécile Coudy-Gandilhon[1], Bruno Meunier[2], Christiane Barboiron[2], Anne Listrat[2], Léonard Feasson[3], Manon Ravelojaona[3], Didier Attaix[1], Jean-Claude Barthelemy[3], Brigitte Picard[2], Daniel Béchet[1]

(1) INRA-Clermont Université, Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019, CRNH Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France
(2) INRA-Vetagro Sup, Unité Mixte de Recherche sur les Herbivores, UMR 1213, F-63122, Saint Genès Champanelle, France
(3) Unité de Recherche PPEH, Service de Physiologie Clinique et de l'Exercice, CHU Nord, 42023 Saint Etienne

daniel.bechet@clermont.inra.fr

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

P5

Regeneration of the rat tibialis anterior muscle is impaired despite induction of the SPARC-β-catenin pathway during post-immobilization recovery

Lamia Slimani[1,2,3], Emilie Vazeille [4], Christiane Deval [1,2,3], Julien Amat [1,2,3], Cécile Polge [1,2,3], Daniel Béchet [1,2,3], Daniel Taillandier [1,2,3], Dominique Dardevet [1,2,3], Didier Attaix [1,2,3], Lydie Combaret [1,2,3]

(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
(3) Equipe, Protéolyse
(4) Centre Hospitalier Universitaire, 63000 Clermont-Ferrand, France.

lydie.combaret@clermont.inra.fr

The immobilization-induced tibialis anterior (TA) muscle atrophy worsens after cast removal concomitantly with changes in the extracellular matrix composition. SPARC is a matricellular glycoprotein involved in tissue response to injury and in stabilization of β-catenin, which induces muscle regulatory factors (MRFs) controlling muscle regeneration. We hypothesized that SPARC expression changed upon immobilization and could be involved in the worsening of TA muscle atrophy by altering muscle regeneration processes after cast removal.

Wistar rats were subjected to hindlimb immobilization for 8 days (I8) or not (I0), and allowed to recover for 1 to 10 days (R1-10). Expression of SPARC, β-catenin, and proliferative (i.e. MyoD and MyF5) or differentiation (i.e. myogenin) MRFs were assessed by Western blots and/or RT-qPCR in previously immobilized TA during recovery.

SPARC mRNA levels increased only during recovery at R1 (+161%) and R10 (+200%), compared to I8 and I0. β-catenin mRNA levels increased at I8 (+80%) and R10 (+190%), while protein levels accumulated from R1 to R10 (+350 to 400%) in immobilized TA vs. I0. MyoD and MyF5 mRNA levels increased by 2-3 fold only at I8 and R1 in immobilized TA vs. I0. By contrast, myogenin mRNA levels decreased at I8 (-60%) and R1 (-90%), and increased at R10 (+100%).

We report an induction of the SPARC-β-catenin pathway associated with increased mRNAs of the proliferative MRFs (Myf5 and MyoD) in the recovering TA early after cast removal. The differentiation MRF myogenin was first largely repressed, but increased later on, when TA started to recover. Altogether, the data suggest that the TA tended to preserve muscle regeneration potential through induction of proliferative MRFs. However this process was poorly efficient presumably because of an alteration in satellite cell differentiation.

P6

Localisation de la masse grasse et oxydation des substrats énergétiques à l'exercice chez la femme normo-pondérée

Laurie Isacco[1-7], Pascale Duche[1-7], David Thivel[1-7], Anne Meddahi-Pelle[2,], Sophie Lemoine-Morel[3], Martine Duclos[4-7], Nathalie Boisseau[1-7]

(1) Laboratoire AME2P; Clermont Ferrand
(2) INSERM U698, Bio-ingénierie Cardiovasculaire. 46 rue H Huchard, Paris,
(3) Laboratoire Mouvement, Sport, Santé, EA 1274, UFR STAPS, Université de Rennes 2, Avenue Charles Tillon, Rennes,
(4) Service de Médecine du Sport et des Explorations Fonctionnelles, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand,
(5) INRA, UMR 1019, Clermont-Ferrand,
(6) Université de Clermont 1, UFR de Médecine, Clermont-Ferrand,
(7) CRNH-Auvergne, Clermont-Ferrand,

Nathalie.BOISSEAU@univ-bpclermont.fr

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'influence du rapport de la masse grasse abdominale sur la masse grasse des membres inférieurs (A/MI) sur les réponses métaboliques et hormonales à l'exercice chez des femmes normo-pondérées.

Méthodologie : 21 femmes (22.0 ± 0.1) normo-pondérées ont participé à cette étude. Leur composition corporelle ont été évaluées par DXA (masse maigre, masse grasse, répartition A/MI).VO_2max a été déterminé lors d'un test incrémental sur bicyclette ergométrique. Le rapport A/MI a été calculé pour l'ensemble des participantes. Celles-ci ont ensuite été divisées en deux groupes (FA/MI, n=11 et EA/MI, n=10) à partir de la valeur médiane de ce rapport.
L'oxydation des substrats énergétiques (quotient respiratoire, taux d'oxydation des lipides et des glucides), les réponses métaboliques (glycérol, acides gras libres -AGL, glucose) et hormonales (insuline, hormone de croissance -GH, peptide natriurétique atrial -ANP, adrénaline -A et noradrénaline -NA) ont été déterminées avant, pendant et à la fin d'un exercice prolongé (45min) d'intensité modérée (65%VO_2max) chez les 21 participantes.

Résultats : Lors de l'exercice, le taux d'oxydation lipidique était plus important chez les femmes FA/MI. Dans ce groupe, les concentrations plasmatiques en glucose ($p<0.05$) et insuline ($p<0.05$) étaient plus faibles et les concentrations en AGL ($p<0.05$), glycérol ($p<0.05$), GH ($p<0.05$) et ANP ($p<0.01$), étaient significativement plus élevées.

Conclusion : Cette étude est la première montrant que le rapport de la masse grasse abdominale sur la masse grasse des membres inférieurs est susceptible de modifier la mobilisation et l'utilisation des lipides à l'exercice chez des femmes normo-pondérées. Ces résultats peuvent être expliqués par une bio-disponibilité spécifique des substrats énergétiques et des réponses métaboliques et hormonales différenciées.

P7

Les protéines solubles du lait accélèrent la récupération des aptitudes fonctionnelles musculaires à la suite d'une immobilisation

V. Martin[1], S. Ratel[1], J. Siracusa[1], P. Le Ruyet[2], L. Combaret[3], I. Savary-Auzeloux[3], C. Guillet[3], D. Dardevet[3]

(1) Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologiques (EA 3533), Clermont-Ferrand
(2) Lactalis Recherche et Développement, Retiers
(3) Clermont Université, Université d'Auvergne, INRA, Unité de Nutrition Humaine (UNH, UMR 1019), Clermont-Ferrand

vincent.martin@univ-bpclermont.fr

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de la qualité des différentes protéines laitières sur la récupération des aptitudes fonctionnelles musculaires post-immobilisation. Après une évaluation initiale (I0) des propriétés contractiles des fléchisseurs plantaires (relation force-fréquence isométrique, puissance-vitesse concentrique et test de fatigabilité isométrique), 30 rats mâles adultes ont été immobilisés par plâtrage unilatéral de la patte arrière pendant 8 jours. Durant cette période, les animaux ont reçu un régime standard à 13% de caséine (CAS). A l'issue de la période d'immobilisation, ils ont été déplâtrés et ont reçu soit le même régime ; soit un régime à 13% de protéines solubles natives du lait (PRO) soit un régime à 13% de lactosérum (LAC). L'immobilisation entrainant une diminution de la prise alimentaire, un groupe témoin (T ; n=10) non plâtré mais pair-fed aux 3 groupes expérimentaux a été étudié et a reçu le régime CAS. Au cours de la période post-immobilisation, les propriétés contractiles des fléchisseurs plantaires ont été réévaluées après 7 jours (R7), 21 jours (R21) et 42 jours (R42) de récupération. L'immobilisation induit une réduction similaire de la force isométrique (-14,0 ± 26,1% ; P<0,001) et de la puissance concentrique (-11,6 ± 26,6% ; P<0,05) dans tous les groupes immobilisés par rapport à I0. Aucune modification significative de la fatigabilité n'est en revanche observée. A R21, une récupération complète de la force isométrique est observée dans les groupes LAC et PRO alors que pour le groupe CAS, la force isométrique n'est récupérée complètement qu'à R42. Aucune différence de récupération de la puissance concentrique n'est observée entre les groupes CAS, PRO et LAC à R21. En revanche, à R42, malgré une récupération identique de la masse musculaire entre les groupes, la puissance musculaire du groupe PRO est supérieure à I0 (+ 14,7 ± 26,0% ; P<0,001) tandis qu'aucune différence entre R42 et I0 n'est observée pour les groupes LAC et CAS. Les protéines solubles du lait permettent d'accélérer nettement la récupération de la force isométrique par rapport à la caséine. En condition dynamique, par contre, seule la supplémentation en protéines solubles natives de lait permet d'augmenter la puissance concentrique en fin de récupération, par rapport aux conditions pré-platrâges.

P8

Évaluation des besoins protéiques avant et 3 mois après chirurgie bariatrique chez des patients atteints d'obésité morbide

A. Masgrau[1,2], A. Mishellany-Dutour[3], K. Slim[4], M. Robert[5], E Disse[6,7], N.Feugier[6], V. Sauvinet[6], P. Le Ruyet[8], C. Guillet[1,2], J. Gallo[1,2], M. Miolanne[9], N. Farigon[9], J. Goudable[6], M. Laville[6,7], Y. Boirie[1,2,9]

(1) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand
(2) Clermont Université, Université d'Auvergne, UNH, Clermont-Ferrand
(3) UEN, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand
(4) CHU Clermont-Ferrand, Service chirurgie digestive, Clermont-Ferrand
(5) CH Edouard Herriot, Service chirurgie digestive, Lyon
(6) CRNH Rhône-Alpes, Pierre-Bénite
(7) CH Lyon Sud, Unité Nutrition Endocrinologie Métabolisme, Pierre-Bénite
(8) Lactalis, Recherche et Développement, Retiers
(9) CHU Clermont-Ferrand, Service Nutrition Clinique, F-63003 Clermont-Ferrand

aurelie.masgrau@clermont.inra.fr

Introduction : La chirurgie bariatrique chez les patients porteurs d'une obésité morbide permet une perte de poids durable, une réduction des comorbidités et une amélioration de la qualité de vie. Toutefois, elle s'accompagne de déficiences nutritionnelles, notamment d'une carence protéique capable d'engendrer une perte de la masse musculaire après la chirurgie. Cette perte protéique excessive peut limiter les effets bénéfiques du geste chirurgical. Or, le besoin protéique après chirurgie bariatrique n'est pas clairement défini. L'objectif de cette étude a donc été de déterminer le besoin en protéines de sujets obèses avant et après sleeve gastrectomie (SG) et by-pass gastrique (BPG), afin d'élaborer des recommandations précises et pratiques.
Matériel & Méthodes : 19 patients obèses (IMC 43,2±1,2 kg/m²), âgés de 25 à 61 ans, ont été étudiés avant puis 3 mois après SG (n=13) ou BPG (n=6). Le besoin moyen en protéines (BMP) et l'apport protéique de sécurité (APS) de cette population ont été évalués par la mesure du bilan azoté avec 2 niveaux d'apports azotés, exprimés par kilogramme de poids corporel (kgPC) ou de masse maigre (kgMM) mesurée à l'aide de la dilution d'eau deutérée.
Résultats : Le BMP de cette population avant opération est de 0,70±0.16 g/kg PC/j soit 1,38±0,31 g/kg MM/j, d'où un APS correspondant de 1,01 g/kg/j soit 2,00 g/kg MM/j. La perte de poids est de 19±1 kg 3 mois après la SG et de 19±2 kg après BPG, et les apports protéiques spontanés sont estimés à 0,39±0,04 g/kgPC/j et de 0,46±0,06 g/kgPC/j après BPG. Le calcul du BMP 3 mois après SG et BPG est de 0,60±0,15 g/kgPC/j et 0,50±0,18 g/kgPC/j respectivement, ou 1,07±0,27 g/kgMM/j et 0,89±0,18 g/kgMM/j. Les APS correspondant sont de 0,89 g/kgPoids/j et 0,85 g/kgPoids/j ou 1,60 g/kgMM/j et 1,51 g/kgMM/j.
Conclusion : L'apport protéique de sécurité calculé pour les patients obèses morbides (1,01 g/kg/j) est plus élevé que pour les sujets adultes non-obèses (0,83 g/kg/j). Trois mois après la chirurgie, le besoin et l'apport protéique de sécurité diminuent quelle que soit le type de chirurgie mais les apports spontanés ne parviennent pas à couvrir les besoins en protéines. Ces résultats fournissent des arguments solides pour l'établissement de recommandations spécifiques pour les patients obèses morbides avant et après chirurgie bariatrique.

P9

Reproductibilité test-retest de la relation moment-angle des extenseurs du genou chez les adolescents obèses

Garcia Vicencio Sebastian[1], Ratel Sébastien[1], Kluka Virginie[1], Berger Mathieu[1], Taillardat Michel[2] & Martin Vincent[1]

(1) Clermont Université, Université Blaise Pascal, EA 3533, Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en Conditions Physiologiques et Pathologiques, BP 10448, F-63000 Clermont Ferrand
(2) Centre médical infantile, Romagnat.

seba_heng@hotmail.com

Introduction : L'évaluation de la fonction musculaire dépend de la reproductibilité des mesures où le dynamomètre, la procédure utilisée et l'individu étant mesuré, peuvent être sources de variation (Tsiros et al., 2011). L'évaluation de la force musculaire est un véritable challenge chez les jeunes obèses en raison de la masse corporelle conséquente qui complique le positionnement du sujet sur les dynamomètres. De plus, la production de la force pourrait varier en fonction de la motivation au cours de l'exercice, laquelle est hautement variable chez les sujets obèses (Salvy et al., 2012). **Objectif :** L'objectif était d'estimer la reproductibilité test-retest des mesures maximales de moment des extenseurs du genou (QCMV) à différents angles articulaires chez des adolescents obèses. **Matériel et méthode** : Dix adolescents obèses, 3 garçons et 7 filles (âgés de 15,6 ± 1,1 ans, IMC moyen de 32,0 ± 2,8 kg/m^2) ont été inclus. QCMV de la jambe dominante a été mesuré à 7 angles articulaires de manière aléatoire (20, 40, 60, 70, 80, 90 et 100° (0° étant l'extension complète) sur un ergomètre isocinétique (Biodex Sytème 2, USA) 3 fois avec un intervalle de 7 jours.
Statistiques : La reproductibilité absolue a été estimée en calculant le coefficient de variation (CV), l'erreur de mesure standard (EMS) et en utilisant la méthode de Bland et Altman (1986) sur la base des limites d'agréments. La reproductibilité relative a été estimée en calculant le coefficient de corrélation intra classe (CCI). Le niveau de signification a été fixé à P<0,05. **Résultats :** Les résultats ont montré une très haute reproductibilité absolue des mesures de moment avec les trois sessions de mesure quel que soit l'angle articulaire. Les CVs étaient inférieurs à 10%, sauf à l'angle de 20°. De plus, les EMSs ont été relativement faibles à tous les angles. Les résultats ont également fait état d'une bonne reproductibilité relative, les CCIs indiquant des valeurs supérieures à 0,9. **Discussion :** Les résultats mettent en évidence la très bonne reproductibilité test-retest des mesures de moment chez les adolescents obèses même à de grandes longueurs musculaires, lesquelles sont faiblement utilisées au quotidien en raison de l'excès de masse grasse au niveau des membres inférieurs. La relation moment-angle peut donc être considérée comme un outil reproductible pour comparer la fonction musculaire des adolescents sévèrement obèses à celle d'adolescents normo-pondérés.

BIBLIOGRAPHIE

Cole, T.J., Bellizzi, M.C., Flegal, K.M., Dietz, W.H. (2000). Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *British Medical Journal*, 320, 1240–1243.

Deighan, M.A., De Ste Croix, M.B., Armstrong N. (2003). Reliability of isokinetic concentric and eccentric knee and elbow extension and flexion in 9/10 year old boys. *Isokinetic Exercise Science*, 11, 109-115.

Salvy, S.J., Bowker, J.C., Germeroth, L., Barkley, J. (2012). Influence of peers and friends on overweight/obese youths' physical activity. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 40, 127-32.

Tsiros, M.D., Grimshaw, P.N., Schield, A.J., Buckley, J.D. (2011). Test-retest reliability of the Biodex System 4 Isokinetic Dynamometer for knee strength assessment in paediatric populations. *Journal of Allied Health*, 40, 115-

P10

Effect of High-Fat Diet and its Reversal on the Thoracic Duct Lymph Composition in Pigs

A. Szuba[1], A. Gomulkiewicz[1], D. Janczak[1], I. Grzegorek[1], K. Jablonska[1], K. Drozdz[1], M. Chmielewska[1], A. Piotrowska[1], R. Paslawski[1], U. Paslawska[1], A. Janiszewski[1], P. Dziegiel[1], N. Gérard[2,3], S. Thien[2,3], A-M. Verny[2,3], A. Mazur[2,3]

(1) Regional Specialist Hospital in Wroclaw, Research and Development Centre, Wroclaw, Poland;
(2) INRA, Unité de Nutrition Humaine (UNH, UMR 1019), CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France
(3) Clermont Université, Université d'Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France

Andre.Mazur@clermont.inra.fr

High-fat, carbohydrate and low fiber diet is linked to increased CV risk as demonstrated in both experimental animals and epidemiological studies. Reversal to the healthy diet is known to decrease CV risk. Lymph transports both lipids absorbed in intestine and cholesterol from tissues (reverse cholesterol transport). Lipid composition of both post-nodal and pre-nodal lymph is affected by several pathophysiological conditions. Thus, the aim of the presents study was to evaluate how long-term changes in dietary fat intake in pigs alter the lymph lipid and lipoproteins. *MATERIALS AND METHODS:* Thirty-two female pigs were divided into three experimental groups: Group 1 - control: regular diet (RD - low fat – 3%) for 12 months; Group 2 – increased fat diet *ad libitum* (HFD) for 12 months (first 6 months moderate-fat (7.5%) diet and following 6 months high-fat diet (16% fat); Group 3: Reversal diet (HRD): HFD for 9 months followed by RD for 3 months. Pigs were examined every 3 months for: body weight, blood pressure, lipidemia, arterial stiffness and elasticity, intima-media complex (IMC) measured by ultrasound. After 12 months on the respective diets, all animals were killed after 24 hours fasting and thoracic duct lymph was collected. Samples from eight animals from each group were used for lymph lipid and lipoprotein distribution analysis by density gradient ultracentrifugation. *RESULTS***:** Lipid lymph analysis revealed higher total cholesterol concentration in HFD fed animals than in these on the control diet. Lymph lipoprotein distribution showed that HFD caused an increase in chylomicron and HDL cholesterol levels, but did not affected VLDL and LDL cholesterol. The return from the HFD to the RD partly restored lymph cholesterol levels to values found in the control (RD) group. In conclusion, our findings support that the level of dietary fat affects lymphatic reverse cholesterol transport.

Wrovasc-project co-financed by the European Regional Development Fund

P11

Magnesium and pharmacological calcium blockers modulate the activation and the response of T-lymphocytes *in vitro*

Patrycja Libako[1], Julia Miller[1], Wojciech Nowacki[1],

Jeanette A. Maier[2], Andrzej Mazur[3]

(1)Department of Immunology, Pathophysiology and Veterinary Preventive Medicine, Wroclaw University of Environmental and Life Science, C.K Norwida 31, 50-375 Wroclaw, Poland;
(2)Department of Biomedical and Clinical Sciences L. Sacco, Università di Milano, Via GB Grassi, 74, 20157 Milano, Italy;
(3) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, Clermont Université, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, 63000 Clermont-Ferrand, France

andre.mazur@clermont.inra.fr

Magnesium is so highly involved in the metabolic network that even slight disturbances in its homeostasis might affect many cellular functions, including calcium homeostasis, signal transduction, energy metabolism and cell proliferation. Magnesium has a well-known relation with the immune system and has been proposed to modulate the priming and activity of immune cells. Because antigen presenting cells (APCs) and T lymphocytes play a key role in immune response, we studied their behavior under magnesium/calcium unbalanced conditions. We utilized two different populations of primary APCs: bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs) and bone marrow-derived macrophages (BMMFs) both C3H/HeN background, while D10.G4.1 cells served as a model of responding Th2 cells. The principal findings are (i) extracellular magnesium concentration had no significant impact on endocytic capability of bone marrow-derived APCs, (ii) high extracellular magnesium concentrations, with or without calcium channel inhibitors, significantly decreased IL-4 and IL-10 production by Th2 cells in a co-culture system, (iii) proliferation of Th2 cells in co-culture systems was significantly inhibited by verapamil or/and TMB-8 independently from extracellular magnesium concentrations, while low extracellular magnesium alone exerted an inhibitory effect. Altogether, these findings indicate that altering magnesium and calcium balance impacts on some crucial steps of specific immune response.

This work was supported by a research grant from Polish Ministry of Education and Science (NN308075234).

P12

Metabolomic approach to determine exposure to bioactive compounds after consumption of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus*) juice

Jose Manuel Fallas-Ramírez[1], Claudine Manach[2], Jean-François Martin[3], Bernard Lyan[3], Estelle Pujos-Guillot[3], Fabrice Vaillant[4,5]

(1) INIFAR, Costa Rica University;
(2) INRA, UMR 1019, Equipe PhémABio, CRNH d'Auvergne, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand;
(3) Plateforme d'Exploration du Métabolisme, INRA St Genès Champanelle
(4) UMR QUALISUD, CIRAD, Montpellier, France
(5) Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica University, San José, Costa Rica

claudine.manach@clermont.inra.fr

Consumption of polyphenol-rich foods continues to be the focus of attention because of their putative impact on human health. Tropical highland blackberry (Rubus adenotrichos) juice is widely consumed from Mexico to Ecuador and represents an important source of ellagitanins and other phytochemicals for the population. Using blackberry as a model for other tropical fruits, we have shown how metabolomic profiling can be used to characterize individual exposure to bioactive molecules and their metabolites in a nutritional trial on healthy volunteers. Fourteen Costa Rican men consumed for 8 days a daily dose of 250mL of a locally produced and well characterized blackberry juice, as part of a controlled diet. 24hr urines were collected before and at the end of the supplementation and analyzed with a non-targeted high-resolution mass spectrometry (UPLC-Qtof) method. Around 2000 ions were detected in the urine profiles on which the statistical analyses were performed. More than 200 ions discriminated the urine metabolomes before and after the blackberry juice consumption. Interestingly, the microbial metabolites of ellagitanins, urolithin A (UA)-glucuronide and urolithin B (UB)-glucuronide were the most important discriminants. These metabolites have been suggested to exert different beneficial effects such as chemopreventive effects in prostate cancer, anti-atherogenic, anti-thrombotic, and anti-inflammatory effects, although the body of evidence is still limited in humans. UA and UB glucuronides were found only in some subjects. Five volunteers produced UA only, five others were also able to produce UB, and other subjects did not efficiently produce any of the urolithins. These results are consistent with recent publications describing a high inter-individual variation in the metabolism of ellagitannins. Other ions discriminating the consumption of blackberry juice are currently under identification and could also contribute to the putative blackberry juice health effects. Correlations will be searched between all discriminant metabolites and the individual capacity to produce UA and UB to investigate a possible inter-individual variation in response to blackberry intake.

P13

Preserved endothelium-dependent dilatation of the coronary microvasculature at the early phase of diabetes mellitus despite the increased oxidative stress and depressed cardiac mechanical function ex vivo

Evangelia Mourmoura[1], Guillaume Vial[1], Brigitte Laillet[2,3,4], Jean-Paul Rigaudière[2,3,4], Isabelle Hininger-Favier[1], Hervé Dubouchaud[1], Béatrice Morio[2,3,4] and Luc Demaison[1,2,3,4]

(1) Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée, INSERM U1055, Université Joseph Fourier, Grenoble ;
(2) INRA, Unité de Nutrition Humaine (UNH, UMR 1019), CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France
(3) Clermont Université, Université d'Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France
(4) Equipe, contrôle de l'Homéostasie Lipido Energtique et Obésité

luc.demaison@clermont.inra.fr

Background: There has been accumulating evidence associating diabetes mellitus and cardiovascular dysfunctions. However, most of the studies are focused on the late stages of diabetes and on the function of large arteries. This study aimed at characterizing the effects of the early phase of diabetes mellitus on the cardiac and vascular function with focus on the intact coronary microvasculature and the oxidative stress involved.

Materials and Methods: Zucker diabetic fatty (ZDF) rats and their lean littermates fed with standard diet (A04, Safe) were studied at the 11th week of age. Biochemical parameters such as glucose, insulin and triglyceride levels as well as their oxidative stress status were measured. Their hearts were perfused ex vivo according to Langendorff and their cardiac activity and coronary microvascular reactivity were evaluated.

Results: ZDF rats already exhibited a diabetic state at this age as demonstrated by the elevated levels of plasma glucose, insulin, glycated hemoglobin and triglycerides. The ex vivo perfusion of their hearts revealed a decreased cardiac mechanical function and coronary flow. This was accompanied by an increase in the overall oxidative stress of the organs. However, estimation of the active form of endothelial nitric oxide synthase and coronary reactivity indicated a preserved function of the coronary microvessels at this phase of the disease. Diabetes affected also the cardiac membrane phospholipid fatty acid composition by increasing arachidonic acid and n-3 polyunsaturated fatty acid levels.

Conclusions: The presence of diabetes, even at its beginning, significantly increased the overall oxidative stress of the organs resulting to decreased mechanical activity ex vivo. However, adaptations were adopted at this early phase of the disease regarding the preserved coronary microvasculature reactivity and the associated cardiac phospholipid composition in order to provide a certain protection to the heart.

P14

Oméga-3, Obésité et Syndrome Métabolique

A. Pinel[1.2.3], C. Malpuech-Brugère[1.2.3], B. Morio[1.2.3] et F. Capel[1.2.3]
(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
(3) Equipe, contrôle de l'Homéostasie Lipido Energtique et Obésité

alexandre.pinel@clermont.inra.fr

Dans un contexte d'augmentation de la prévalence de l'obésité et des maladies métaboliques associées, la qualité des lipides alimentaires fait l'objet de nombreux travaux et études épidémiologiques. Parmi ces lipides, les acides gras polyinsaturés oméga-3 (ω3) sont apportés en quantité insuffisante dans l'alimentation occidentale. L'augmentation de l'apport en ω3 favoriserait la prévention de l'obésité par différents effets démontrés : réduction de l'accumulation de lipides au niveau hépatique et musculaire ; amélioration de la sensibilité à l'insuline des tissus insulino-sensibles (notamment du muscle squelettique). Cependant, les données *in vitro*, *in vivo* ou cliniques, n'aboutissent pas à un *consensus*. La durée, la dose et la composition fine du traitement expliqueraient l'hétérogénéité des résultats. L'objectif de mon travail de thèse est de comparer les effets respectifs des acides gras alpha-linolénique (ALA), docosahexaénoïque (DHA) et éicosapenténoïque (EPA) dans la prévention de l'obésité et du syndrome métabolique. Pour cela, des souris seront mises sous régime riche en graisse et en sucrose, supplémenté ou non en ALA, EPA ou DHA durant 16 semaines. Cette étude permettra d'évaluer l'impact de chaque acide gras ω3 sur la composition corporelle, la sensibilité à l'insuline et l'inflammation systémique. Le modèle de cellules musculaires C2C12 nous permettra d'évaluer l'effet propre de chaque ω3 sur le devenir intracellulaire des acides gras (oxydation, estérification, production de dérivés lipotoxiques) et d'explorer les liens unissant les adaptations métaboliques et la sensibilité à l'insuline. Ce projet d'étude translationnelle (de la cellule au corps entier) contribuera à la meilleure compréhension des effets propres à chaque ω3 sur des voies importantes participant à la physiopathologie de l'obésité et du syndrome métabolique.

P15

Plasma flavanol metabolites modulate expression of miRNA in endothelial cells and affect post-transcriptional regulation of genes regulating adhesion and transendothelial migration

Milenkovic D.[1,2,3], Jude B.[1,2,3], Boby C.[4], Morand C.[1,2,3]

(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
(3) Equipe, Micronutriments et santé cardiovasculaire.
(4) INRA, UMR1019, Unité Mixte Recherche Herbivores, Centre Clermont-Ferrand - Theix, France

andre.mazur@clermont.inra.fr

MicroRNAs (miRNAs) are endogenous, noncoding, single-stranded RNAs and constitute a class of post-transcriptional regulators. We showed previously that flavanol metabolites decrease adhesion of monocytes to endothelial cells through modulation of expression of genes. The aim of this work was to identify the impact of flavanol metabolites at physiologically-relevant concentrations on the expression of miRNAs in endothelial cells.

The use of microarrays revealed that 4'MEC, 4'MEC7G and EC4'S can modulate expression of miRNAs involved in the regulation of inflammation, cell adhesion or cell invasion, such as miR-221 or miR-181. These metabolites regulate the expression of different miRNAs that could exert post-transcriptional regulation of different target genes that are however involved in the same cellular pathways. These pathways mainly concern those involved in regulation of cell adhesion and transendothelial migration. Analyses of gene and protein expression of target genes revealed that miRNA could affect mRNA levels of certain genes, such as WASP1 and consequently the level of the protein, but also only decrease the translation and the protein quantity without affecting level of mRNA, as observed for BIRC2.

In conclusion, these data provide an insight into new molecular mechanisms by which plasma flavanol metabolites at physiologically relevant concentrations may preserve vascular endothelium integrity.

P16

Vascular and Nutrigenomic effects of a long-term grapefruit juice consumption: a controlled randomized cross-over study in post-menopausal women

Habauzit Véronique[1,2,3,4], Milenkovic Dragan[1,2,3], Verny Marie Anne[1,2,3], Bobby Céline[1,2,3], Mazur André[1,2,3], Dubray Claude[4], Morand Christine[1,2,3].

(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
(3) Equipe, Micronutriments et santé cardiovasculaire.
(4) Centre Investigation Clinique, CIC-CPC INSERM 501, Centre Hospitalier Universitaire, Clermont-Ferrand, France;

andre.mazur@clermont.inra.fr

The consumption of some flavonoid rich foods has been shown to induce improvements in several intermediate markers of cardiovascular risk. Citrus fruits constitute a food source rich in a particular class of flavonoids, that of flavanones. Based on recent epidemiological data as well as on a large number of pre-clinical studies, citrus flavanones may exhibit interesting cardioprotective properties. However clinical evidences accounting for a benefit in consuming dietary flavanones to improve some cardiovascular endpoints are still very scarce.

The present clinical study aimed at 1) characterizing the specific role of naringin in the effect of a long-term consumption of grapefruit juice on vascular function in humans and 2) analyzing changes in PBMCs transcriptome profile induced by grapefruit naringin.

52 healthy post-menopausal women were enrolled in randomized, controlled, cross-over trial. For two periods of 6 months, subjects consumed 340ml/d of grapefruit juice (212mg naringenin-glycosides) or a iso-energetic control beverage mimicking the composition of the juice but without naringenin. The effects on endothelium-dependent vasoreactivity (assessed by FMD), arterial stiffness (assessed by PWV) and blood pressure as well as on conventional systemic biomarkers of CV risk factors were evaluated. Furthermore, a global gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells was performed using microarrays.

We showed that grapefruit juice could protect from age-related arterial stiffening, the effect specifically related to the presence of naringenin in juice. Modulation of arterial stiffness could be an interesting target by which grapefruit juice exerts beneficial effect on vascular health. The PBMCs nutrigenomic analyses showed that naringenin regulates the expression of genes involved in inflammatory processes. Further analyses may shed light on the molecular mechanisms involved in vascular effects of grapefruit flavanones.

P17

Acute intake of curcumin differentially affects endothelial function in male and female smokers: a clinical and molecular analysis

Barber-Chamoux Nicolas[1,2,3,4], Milenkovic Dragan[1,2,3], Verny Marie Anne[1,2,3], Habauzit Véronique[4], Mazur Andrzej[1,2,3], Dubray Claude[4], Morand Christine[1,2,3]

(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
(3) Equipe, Micronutriments et santé cardiovasculaire.
(4) Centre Investigation Clinique, CIC-CPC INSERM 501, Centre Hospitalier Universitaire, Clermont-Ferrand, France;

andre.mazur@clermont.inra.fr

Recent clinical studies have shown that the consumption of polyphenols, like cocoa flavanols or orange hesperidin, presents beneficial effects on vascular function. Curcumin, a phenolic bioactive plant compound exhibiting pleiotropic effects, is until now poorly studied regarding cardiovascular health. The aim of this study was to determine the effect of curcumin on vascular endothelial function in healthy smokers and its nutrigenomic impact on circulating white blood cells.

We proposed a randomized, double blind, cross-over study on 9 men and 9 women (50-70 years old). The potential effect of an acute intake of curcumin (5g) has been evaluated by non-invasive assessments of endothelial function. Flow mediated dilatation (FMD) and Reactive Hyperaemia Index (RHI) were compared. These non-invasive measurements have been done before and 2 hours after curcumin or placebo intake. Impact of curcumin consumption on expression of 93 target genes involved in inflammation, cell adhesion and cholesterol absorption/efflux in PBMCs was evaluated by PCR using TaqMan Low Density Array (TLDA).

In the studied population, we failed to show any significant difference between curcumin and placebo treatments for FMD ($p=0.24$) and RHI ($p=0.74$) partly because of a high inter-individual variability. Interestingly, analysis of data separately for men and women has revealed a significant effect of curcumin for FMD ($p<0.001$) in women, but not in men. Preliminary PCR analysis suggests that curcumin can modulate expression of genes in volunteers, genes involved in chemotaxis and cholesterol efflux as well as cell adhesion. The nutrigenomic response to curcumin in white blood cells seems to be different between women and men volunteers.

Although the clinical results of this study did not account for a beneficial effect of an acute intake of curcumin on vascular function in the whole studied population, gender comparison and preliminary molecular analysis seem to reveal a difference in response to curcumin consumption between male and female.

P18

Mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) – Intérêt nutritionnel et rôle dans la protection cardiovasculaire.

Euclides Lara Cardozo Junior [1], Dragan Milenkovic [2,3,4], Christine Morand [2,3,4].

(1) Institut des Sciences Biologiques, Médicales et de la Santé, Universidade Paranaense - UNIPAR, Toledo/PR, Brésil. Programme Science Sans Frontières – CNPq.

(2) INRA, Unité de Nutrition Humaine (UNH, UMR 1019), CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France

(3) Clermont Université, Université d'Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France

(4) Equipe, Micronutriments et santé cardiovasculaire.

euclides.lara-cardozo@clermont.inra.fr

Yerba-maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) est une plante originaire d'Amérique du Sud, traditionnellement consommée comme une boisson stimulante. Différents produits traditionnels (maté, chimarrão, tereré) sont obtenus à partir des feuilles de Yerba-maté et consommées en infusion. Les études sur la composition chimique du maté ont révélé sa richesse en composés phénoliques, principalement des acides caféoylquiniques. La présence simultanée de différents acides mono- et di-caféylquiniques est une particularité de ces produits. La consommation d'aliments riches en composés phénoliques a été associée à un effet bénéfique sur certains facteurs de risque cardiométabolique (pression sanguine, fonction endothéliale, HDL et LDL-cholestérol, résistance à l'insuline). Dans ce contexte, on peut s'interroger sur l'intérêt potentiel de la consommation de Yerba-maté pour la santé cardiovasculaire. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* chez l'animal ont montré que les polyphénols présents dans le maté pourraient effectivement exercer des effets biologiques en lien avec la protection cardiovasculaire. Cependant il y a encore peu de données sur les avantages potentiels d'une consommation régulière de Yerba-maté sur la santé cardiovasculaire chez l'homme.

Dans ce contexte, notre projet prévoit d'une part, d'évaluer les niveaux et les modes de consommation de Yerba-maté dans la population de la ville de Toledo, Paraná, Brésil et d'autre part, de réaliser une étude d'intervention nutritionnelle chez l'homme pour évaluer les effets d'une consommation de produits traditionnels de maté, avec un contenu standardisé en composés phénoliques, sur des biomarqueurs cliniques du risque cardiovasculaire. Il s'agira d'une étude contrôlée, randomisée et en crossover, réalisée chez des hommes sains présentant des facteurs de risque cardiovasculaire, qui devront consommer pendant un mois un produit de maté, dont la composition en polyphénols aura été caractérisée, ou une boisson contrôle. Outre l'impact sur des biomarqueurs fonctionnels et systémiques de la fonction vasculaire et de l'inflammation, en condition basale et en réponse à un test de charge au glucose, l'étude prévoit aussi d'examiner les effets nutrigénomiques induit par la consommation de maté par une analyse des profils d'expression géniques au niveau des cellules immunitaires circulantes.

P19

Consommation médicamenteuse et Syndrome Métabolique : place de l'activité physique et de la nutrition.

Charlotte Lanhers, Hons[2,3],Bruno Lesourd [1,6] ,Daniel Courteix [1], Gérard Lac [1], Robert Chapier[1], Vincent Sapin [4] , Guillaume Walther [5], Agnès Vinet [5], Philippe Obert [5], Martine Duclos [2,7] ,Frédéric Dutheil [1,2,3]

(1) Laboratoire des Adaptations Métaboliques à l'Exercice en conditions Physiologiques et Pathologies (AME2P), EA3533, Université Blaise Pascal, Aubière, France
(2) Médecine du Sport et des Explorations fonctionnelles, CHU G. Montpied, Clermont-Ferrand, France
(3) Centre de Pathologies Professionnelles, CHU G. Montpied, Clermont-Ferrand, France
(4) Service de Biochimie, CHU Clermont-Ferrand, France
(5) Laboratoire de Pharm-Ecologie Cardiovasculaire (LAPEC), EA4278, Université d'Avignon, Avignon, France
(6) Département de Gériatrie, Faculté de médecine, Clermont-Ferrand, France
(7) INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, Clermont-Ferrand, France

fred_dutheil@yahoo.fr

Contexte: La surcharge pondérale du SMet entraîne une constellation d'anomalies cardio-métaboliques, dont chacune est le plus souvent traitée par un médicament spécifique. Si le bénéfice biologique de l'activité physique/nutrition sur le SMet est bien démontré, aucune étude ne rapporte le coût de leur consommation médicamenteuse ni l'impact de ces interventions. Objectifs: 1). Calculer le coût de la consommation médicamenteuse d'un patient SMet.2). Démontrer le bénéfice d'une modification de l'hygiène de vie en termes de consommation médicamenteuse. Méthode: Cent sujets atteints de SMet, n'ayant pas d'activité physique, ont participé à un programme résidentiel de trois semaines avec une activité physique importante supervisée et une diète restrictive. 29/100 avaient un diabète de type 2(DT2). Afin d'autonomiser les patients, des cours quotidiens leur ont été dispensés. Puis les patients ont été suivis pendant un an avec pour consigne de poursuivre le même programme. Résultats: A J0, les patients consommaient en moyenne 1814±109 comprimés par an, pour un coût/patient/an des traitements de 747±106 euros. Pour le sous-groupeDT2, le coût annuel par patient est significativement plus élevé que pour le groupe entier SMet: 1352±309 euros. L'intervention est suivie d'une diminution significative à chaque temps de mesure du coût de la consommation médicamenteuse pour le groupe SMet : 747±106 (D0), 722±106 (D20), 696±106 (M3), 687±106 (M6), 673±102 (M12); D0 vs. D20, M3, M6: $p<.001$; D0 vs. M12: $p<.05$; D20 vs. M3, M6: $p<.05$. Pour le sous-groupe DT2, ce bénéfice n'est significatif que jusqu'au 3e mois: 1352±309 (D0) ,1325±311 (D20), 1305±313 (M3), 1307±309 (M6) ,1239±291 (M12); D0 vs. D20, M3: $p<.05$.Conclusion: Nous rapportons pour la première fois l'efficacité de l'activité physique et d'une prise en charge nutritionnelle sur la consommation médicamenteuse à long terme d'un patient Smet.

P20

The GCN2/eIF2α/ATF4 signaling pathway is necessary for autophagy response to infection with Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli*

Hang Thi Thu Nguyen[1,2*], Jessica Carrière[1,2*], Guillaume Dalmasso[1,2], Anne-Catherine Maurin[3], Alain Bruhat[3], Arlette Darfeuille-Michaud[1,2,4]

(1) UMR 1071 Inserm, University of Auvergne, Clermont-Ferrand 63000, France
(2) INRA USC 2018, Clermont-Ferrand 63000, France
(3) INRA Theix, Human nutrition unit (UNH), Saint-Genes-Champanelle 63122, France
(4) Centre Hospitalier Universitaire, Clermont-Ferrand 63000, France
*equally contributed

hang.nguyen@udamail.fr

Crohn's disease (CD) is a chronic inflammatory disorder of the gastrointestinal tract, of which the etiology involves environmental, genetic and microbial factors. Our group and others have shown a high prevalence of the invasive *E. coli* strains, designated adherent-invasive *E. coli* (AIEC), in the intestinal mucosa of CD patients. Upon AIEC infection, autophagy is induced in host cells to restrain the replication of the bacteria. The signalling pathway inducing autophagy response to AIEC infection, however, remains unknown. Here, we investigated the role of the GCN2/eIF2α/ATF4 pathway in such mechanism. We found that infection of intestinal epithelial cells (IECs) with an AIEC reference strain LF82 increased the levels of phospho-GCN2, phospho-eIF2α and enhanced ATF4 protein expression. The later consequently led to upregulated mRNA expression levels of target genes of ATF4, such as *ASNS*, *TRB3*, *GLYT*, *CHOP*, *ATF3*, and autophagy genes (*MAP1LC3B*, *p62*). Intracellular multiplication of AIEC was increased in GCN2$^{-/-}$ and ATF4$^{-/-}$ mouse embryonic fibroblasts (MEFs) compared with that in wild type MEFs as determined by bacterial invasion assay and confocal microscopy using a LF82-GFP strain. These results were validated *in vivo* using GCN2 knockout mice and a model of AIEC infection that we previously established. AIEC infection induced a stronger pro-inflammatory response in GCN2$^{-/-}$ and ATF4$^{-/-}$ MEFs than in wild type MEFs, and in GCN2 knockout mice versus wild type mice. Autophagy induction in response to infection, assessed by Western blot and immunofluorescent analyses of LC3 levels, was decreased in GCN2$^{-/-}$ and ATF4$^{-/-}$ MEFs compared with wild type MEFs. In conclusion, our study shows that upon AIEC infection, the GCN2/eIF2α/ATF4 signaling pathway is activated in host cells, which is served as a host defense mechanism to induce a functional autophagy-mediated control of AIEC intracellular replication.

P21

Etude des effets préventifs d'extraits de marc de raisin sur l'inflammation colique induite par le sulfate de dextran sodique (DSS) chez le rat.

Ahlem Boussenna[1,2], Juliette Cholet[1], Nicolas Goncalves-Mendes[3], Juliette Joubert-Zakeyh[4], Didier Fraisse[1], Odile Texier[1], Marie-Paule Vasson[3], Catherine Felgines[1]

(1) Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie, UMR 1019, Equipe ECREIN, UFR Pharmacie, Clermont-Ferrand, France
(2) 3inature Biosphère, Le Naturopôle, Saint-Bonnet-de-Rochefort, France
(3) Laboratoire de Biochimie Biologie Moléculaire et Nutrition, UMR 1019, Equipe ECREIN, UFR Pharmacie, Clermont-Ferrand, France
(4) Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Ahlem.boussenna@etu.udamail.fr

De nombreuses études ont souligné l'effet protecteur des polyphénols vis-à-vis de diverses pathologies chroniques. Cette étude vise à évaluer et comparer les effets d'une supplémentation nutritionnelle en extraits de marc de raisin (EMR), riches en polyphénols, dans la prévention d'une inflammation colique chimio-induite chez le rat. Les EMRs sont issus de deux cépages (Pinot ou Alicante) et de deux procédés d'extraction (classique : C ou breveté : B). Pour cela, des rats Wistar (n=40) ont été nourris *ad libitum* durant 21 jours avec un régime semi-synthétique supplémenté ou non avec un EMR (Pinot-C, Alicante-C, Alicante-B). L'inflammation colique a été induite par administration de DSS à 4% dans l'eau de boisson pendant les 7 derniers jours. L'analyse histologique, la détermination de l'activité de la myéloperoxydase (MPO) et de la superoxyde dismutase (SOD) ont été réalisées au niveau colique. Différentes cytokines ont été dosées au niveau du côlon. L'expression des gènes de la NO-synthase inductible (iNOS) et de la cyclooxygénase-2 (COX-2) a été déterminée par qRT-PCR. Le DSS induit une inflammation colique caractérisée par une chute du gain pondéral et des lésions histologiques. Les EMRs (Alicante) permettent de maintenir le gain de poids et de limiter les atteintes histologiques. Les EMRs Alicante-B et Pinot-C diminuent l'activité de la MPO induite par le DSS et l'EMR Alicante-B augmente l'activité de la SOD au niveau colique. Tous les EMRs limitent l'augmentation des taux coliques de cytokines pro-inflammatoires induite par le DSS. Les EMRs diminuent l'expression des gènes COX-2 (Alicante-B) et iNOS (Alicante-C et Alicante-B). Ainsi, ces résultats montrent que la consommation à titre préventif d'EMRs pourrait limiter le développement de l'inflammation colique. Ces travaux sont réalisés dans le cadre d'une convention CIFRE avec le groupe 3inature (Saint-Bonnet-de-Rochefort).

P22

Importance des mucinases bactériennes dans la colonisation intestinale

GIBOLD Lucie[1,2], VACHIAS Caroline[3], DALMASSO Guillaume[1], BARNICH Nicolas[1], BONNET Richard[1,2], DELMAS Julien[1,2]

(1) Laboratoire M2iSH « Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte », UMR 1071 Inserm/Université d'Auvergne USC INRA 2018, Faculté de médecine, 28 place Henri Dunant, 63000 Clermont-Ferrand ;
(2) Service de bactériologie, CHU Gabriel Montpied,58 rue Montalembert, 63003 Clermont-Ferrand.
(3) Laboratoire GReD « Génétique, Reproduction et Développement », UMR CNRS 6293/Université d'Auvergne, Faculté de médecine, 28 place Henri Dunant, 63000 Clermont-Ferrand

llyonne@chu-clermontferrand.fr

Les mucines sont des glycoprotéines essentielles dans le monde animal. Elles sont principalement retrouvées au niveau des gangues des amphibiens, des blancs d'œufs, ou des muqueuses des animaux supérieurs... Chez l'homme, elles sont présentes notamment au niveau des épithéliums digestifs, respiratoires et génito-urinaires[1]. Leur principale fonction est de constituer une barrière protectrice vis-à-vis de l'environnement extérieur, et notamment des micro-organismes. Toutefois, les bactéries pathogènes se sont adaptées à cette barrière défensive en produisant des enzymes capables de dégrader les mucines, les mucinases. Ainsi, des mucinases ont été décrites chez les pathogènes intestinaux[2] (*Vibrio cholerae, Shigella, Escherichia coli* O157) et chez des *E. coli* pathogènes pour les volailles (APEC)[3]. Nous avons identifié une nouvelle mucinase chez des souches d'*E. coli* adhérents et invasifs (AIEC) appartenant à un même groupe phylogénique et isolées de patients atteints de la maladie de Crohn[4], une maladie inflammatoire chronique de l'intestin. Nos résultats montrent que cette mucinase facilite la pénétration des souches AIEC à travers le mucus digestif, favorise leur adhésion aux cellules épithéliales intestinales recouvertes de mucus et permet une meilleure colonisation intestinale en modèle murin. Les mucinases pourraient donc être une des clés du succès de l'implantation des bactéries chez l'hôte au sein de l'écosystème digestif.

Mots-clés : *Escherichia coli*, mucines, mucinases, écosystème digestif.

Références bibliographiques :

DHARMANI, P., SRIVASTAVA, V., KISSOON-SINGH, V. & CHADEE, K. (2009). Role of intestinal mucins in innate host defense mechanisms against pathogens. *J. Innate Immun.* 1, 123–135.
McGUCKIN, M. A., LINDÉN, S. K., SUTTON, P. & FLORIN, T. H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 265–278.
KOBAYASHI, R. K., GAZIRI, L. C. & VIDOTTO, M. C. (2010). Functional activities of the Tsh protein from avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strains. *J. Vet. Sci.* 11, 315–319.
DARFEUILLE-MICHAUD, A. *et al.* (2004). High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 127, 412–421.

P23

Biomarqueurs tissulaires et profils métaboliques des Carcinomes Hépato-Cellulaires (CHC) Analyse par Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton

C. Teilhet[1,2], D. Morvan[3], J. Joubert-Zakeyh[4], P. Dechelotte[4], D. Pezet[5], E. Buc[5], B. Pereira[6], AS. Biesse[7], G. Lamblin[2], S. Massoulier[2], M. Peoc'h[8], J. Porcheron[9], MP. Vasson[1], A. Demidem[1], A. Abergel[2]

(1) Unité de Nutrition Humaine. Equipe ECREIN, UMR10-19, UdA-INRA Theix Clermont-Ferrand
(2) Médecine digestive et hépato-biliaire, CHU Estaing, Clermont-Ferrand
(3) Laboratoire de Biophysique et du Traitement de l'Image. Université D'auvergne Clermont-Ferrand.
(4) Service d'anatomo-pathologie, CHU Estaing, Clermont-Ferrand
(5) Chirurgie digestive, CHU Estaing, Clermont-Ferrand
(6) Service de Biostatistiques, Délégation Recherche Clinique & Innovation, CHU Clermont-Ferrand.
(7) Service de RMN-UBP-START, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
(8) Service d'anatomo-pathologie, CHU Saint-Etienne
(9) Chirurgie digestive, CHU Saint-Etienne

ademidem@clermont.inra.fr

Le Carcinome Hépato-Cellulaire (CHC) est la 3ème cause de mortalité par cancer dans le monde. Le CHC développé sur stéatopathies non alcooliques (Non Alcoholic Fatty Liver Disease ou NAFLD) survient dans 40% des cas en l'absence de cirrhose et échappe donc au dépistage systématique. En conséquence, il est essentiel de découvrir de nouveaux biomarqueurs du CHC et des pathologies prédisposantes.

Patients et méthodes : L'étude a inclus 27 patients candidats à une hépatectomie. L'analyse métabolomique a porté sur 27 paires de tissus hépatiques associant Tissu Tumoral (TT) et Tissu Non Tumoral (TNT) prélevé à distance de la tumeur. Les extraits tissulaires aqueux et lipidiques ont été analysés en Spectroscopie ^{1}H-RMN à 400 MHz.

Résultats : Nos résultats portent sur l'étude des tissus hépatiques des 27 patients dont 24 présentaient un CHC. Les CHC des 24 patients sont associés à une pathologie hépatique sous-jacente évoluée au stade de cirrhose (n = 7) ou à une pathologie hépatique (stéatose et stéatohépatite dysmétaboliques) (n = 17) L'analyse des extraits tissulaires aqueux a permis de montrer que le TT présentait par rapport au TNT une accumulation de lactate, d'acides aminés (valine, leucine, glutamine, tyrosine, phénylalanine) et d'ascorbate; une diminution des taux de glucose, de glycogène et des métabolites du cycle de Krebs tels que le succinate et le fumarate ($p<0.05$). L'analyse des extraits lipidiques a révélé une augmentation du taux de cholestérol total et de cholestérol estérifié dans le TT et une diminution des taux d'acides gras polyinsaturés et de triglycérides par rapport au TNT ($p<0.05$).

Conclusion : Cette étude a mis en évidence des biomarqueurs métaboliques spécifiques du CHC et le pouvoir discriminant de l'analyse du métabolome tissulaire.

P24

Etude des marques méthylantes et acétylantes dans les cancers sporadiques du sein et leurs tissus sains correspondants

Gaëlle Judes [1,2], Aslihan Dagdemir [1,2], Seher Karsli-Ceppioglu [1,2,3], Marjolaine Ngollo[1,2], André Lebert [4], Frédérique Penault-Llorca [2], Yves-Jean Bignon[1,2], Dominique Bernard-Gallon[1,2]

(1) Centre Jean Perrin, Département d'Oncogénétique CBRV, Clermont-Ferrand;
(2) ERTICA, EA 4677, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand;
(3) Département de Toxicologie, Faculté de Pharmacie, Marmara Université d'Istanbul;
(4) Université Blaise Pascal, Institut Pascal UMR 6602 CNRS/UBP, 24 avenue des Landais, Aubière;

judes.gaelle@wanadoo.fr

Le cancer du sein est la cause la plus importante de décès par cancer chez la femme dans le monde. L'objectif de ce travail est de déterminer le rôle des différentes marques d'histones H3K27me3, H3K4ac et H3K9ac sur l'expression d'un panel de gènes impliqués dans le cancer du sein (BRCA, ER-β : gènes sous-exprimés ; EZH2, P300, SRC3, ER-α, PG-R : gènes surexprimés dans le cancer du sein). Puis à partir d'une étude statistique, nous déterminons s'il existe des interactions entre les 3 marques et les différents risques pour la patiente selon la classification de St-Gallen au niveau tumoral. Et enfin, nous définissons des couples gènes/marques caractéristiques des risques de la classification. Pour cela nous avons travaillé sur 50 tumeurs sporadiques du sein et le tissu sain correspondant. Nous réalisons alors une immunoprécipitation de la chromatine suivie d'une Q-PCR. Les résultats sont ensuite vérifiés par l'étude de l'expression des ARN en RT-QPCR. Les données concernant le tissu tumoral sont étudiées par une analyse de variance et la réalisation d'un arbre de décision. Pour conclure, nous montrons que la marque H3K4ac se comporte comme la marque répressive H3K27me3, leurs diminutions dans la tumeur participent à la surexpression des gènes impliqués dans la tumorogenèse. L'augmentation de la marque H3K9ac est caractéristique de la surexpression des gènes ER-α et P300 dans la tumeur, pour les autres gènes on ne trouve pas de différence significative entre les deux tissus. Concernant les deux gènes sous-exprimés, nous avons déterminé que leurs répressions ne passent pas par les marques répressives H3K27me3 et H3K4ac mais par d'autres mécanismes comme la méthylation de l'ADN. L'arbre de décision détermine 4 gènes (BRCA1, ER-α, ER-β et PGR) et deux marques (H3K27me3 et H3K4ac) qui permettent de séparer les risques de la classification.

P25

Histone lysine trimethylation or acetylation can be modulated by histone mehylation inhibitor and anti-HDAC like sodium butyrate in breast cancer cell lines

Aslihan Dagdemir[1,2], Gaëlle Judes[1,2], Maureen Echegut [1,2], Seher Karsli-Ceppioglu [1,2,3], Marjolaine Ngollo[1,2], Frédérique Penault-Llorca [2], Yves-Jean Bignon[1,2], Dominique Bernard-Gallon[1,2]

(1) Centre Jean Perrin, Department of Oncogenetics CBRV, 63001 Clermont-Ferrand;
(2) ERTICA, EA 4677, University of Auvergne, Clermont-Ferrand;
(3) Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Marmara University of Istanbul;

aslihandagdemir@gmail.com

The anti HDACs and Histone Methylation Inhibitors have been reported to interact with epigenetic modifications, specifically hypermethylation of oncosuppressor genes. Here, the objective of this study was to analyze and understand the mechanisms by anti-HDACs and Histone Methylation Inhibitor act on chromatin in breast cancer cell lines.

Two breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231 were treated with 3-Deazaneplanocin A hydrochloride (DZNep) [5 µM], Sodium Butyrate (NaBu) [2 mM] and Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) [1µM] for 48 hours. A culture control with untreated cells was performed. Firstly, we applied chromatin immunoprecipitation (ChIP) coupled with QPCR was used to follow anti-HDACs effects on H3 and H4 histones on H3K27me3, H3K9ac and H3K4ac marks, and we selected 7 genes (*EZH2*, *BRCA1*, *ER*α, *ER*β, *SRC3*, *P300, PGR*) for analysis. For secondly, we assayed Western Blot for each cell line and all genes. Finally we did RNA analyses for the two studied cell lines.

Anti HDACs (SAHA and NaBu) induced a decrease of trimethylated marks and an increase of acetylating marks studied at 6 selected genes.

We demonstrated that anti HDACs tend to modify the transcription through the demethylation and acetylation of the histones in breast cancer cell lines.

P26

La modulation in vitro du statut oxydatif par la leptine est dépendante du statut néoplasique des cellules épithéliales mammaires

Sinda Mahbouli[1], Adrien Rossary[1], Stéphanie Rougé[1], Jérémie Talvas[1], Nicolas Goncalves-Mendes[1], Marie-Chantal Farges[1], Marie-Paule Vasson[1,2]

(1) Clermont Université, Université d'Auvergne, UMR 1019, Unité de Nutrition Humaine, CRNH-Auvergne, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France
(2) CHU Clermont-Ferrand, Centre Jean Perrin, Unité de Nutrition, CLARA, F-63000 Clermont-Ferrand, France

adrien.rossary@udamail.fr

Cette étude in vitro a pour but de déterminer les effets de la leptine sur le statut oxydatif de trois modèles de cellules épithéliales mammaires humaines (HMEC : cellules primaires saines; MCF-7 : lignée issue de tumeur canalaire invasive ; MDA-MB-231 : lignée issue de métastases d'adénocarcinome mammaire invasif) à deux concentrations de leptine : 10 ng/ml (situation normopondérale) et 100 ng/ml (situation d'obésité). Le statut pro-oxydant des cellules est déterminé par la mesure des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par fluorescence (0 à 2h) et de la peroxydation lipidique à 24h. La défense anti-oxydante est déterminée entre autre par la mesure de l'expression génique et de l'activité catalytique des enzymes anti-oxydantes (Glutathion peroxydases (GPX), hème oxygénase (HMOX)) (à 1h, 6h et 24h).

Quelque soit la concentration, la leptine augmente de façon significative ($p<0,05$) la production des ERO dans les trois modèles cellulaires. En réponse les cellules saines HMEC induisent leur défense anti-oxydante avec une augmentation de l'expression à 1h puis de l'activité catalytique à 6h de HMOX et de GPX. Ceci s'accompagne d'une peroxydation lipidique stable à 679 ± 248 µmol/l d'hydroperoxydes lipidiques (HPLip). Pour les lignées néoplasiques, la réponse anti-oxydante est incomplète. Une induction d'expression génique à 1h et d'activité catalytique à 6h de HMOX et GPX n'est observée que chez MCF-7 pour une concentration de 10 ng/ml. L'absence de réponse anti-oxydante pour MCF-7 à 100 ng/ml et chez MDA-MB-231 quelque soit la concentration, s'accompagne d'une forte peroxydation lipidique (MCF-7 : 524 ± 227 vs 1045 ± 187 µmol/l d'HPLip; MDA-MB-231 : 642 ± 376 vs 1082 ± 374 µmol/l d'HPLip, respectivement pour 0 vs 100 ng/ml de leptine).

La leptine en concentration similaire à la situation d'obésité contribue à l'apparition d'un stress oxydant chez les cellules néoplasiques favorisant la peroxydation lipidique pouvant induire la production de médiateurs de l'inflammation.