



HAL
open science

Stress cellulaire : physiopathologie, stratégies nutritionnelles et thérapeutiques innovantes

Rapport Hcéres

► **To cite this version:**

Rapport d'évaluation d'une entité de recherche. Stress cellulaire : physiopathologie, stratégies nutritionnelles et thérapeutiques innovantes. 2009, Université Paris Descartes. hceres-02031620

HAL Id: hceres-02031620

<https://hal-hceres.archives-ouvertes.fr/hceres-02031620>

Submitted on 20 Feb 2019

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.



agence d'évaluation de la recherche
et de l'enseignement supérieur

Section des Unités de recherche

Rapport d'évaluation

Unité de recherche :

Stress cellulaire : physiopathologie, stratégies
nutritionnelles et thérapeutiques innovantes
de l'Université Paris 5



mars 2009



agence d'évaluation de la recherche
et de l'enseignement supérieur

Section des Unités de recherche

Rapport d'évaluation

Unité de recherche :

Stress cellulaire : physiopathologie, stratégies
nutritionnelles et thérapeutiques innovantes
de l'Université Paris 5



Le Président
de l'AERES

Jean-François Dhainaut

Section des unités
de recherche

Le Directeur

Pierre Glorieux

mars 2009



Rapport d'évaluation

L'Unité de recherche :

Nom de l'unité : Stress cellulaire : physiopathologie, stratégies nutritionnelles et thérapeutiques innovantes

Label demandé : EA

N° si renouvellement :

Nom du directeur : M. Luc CYNOBER

Université ou école principale :

Université Paris 5

Date de la visite :

20 Février 2009



Membres du comité d'évaluation

Président :

M. Ramaroson ANDRIANTSITOHAINA, Université d'Angers

Experts :

M. Bernard MULLER, Université Bordeaux 2

M. Alain LAVOINNE, Université de Rouen

M. Lucas LIAUDET, Université de Lausanne, Suisse

Expert(s) représentant des comités d'évaluation des personnels (CNU, CoNRS, CSS INSERM, représentant INRA, INRIA, IRD.....) :

M. Yves ARTHUR, représentant du CNU

Observateurs

Délégué scientifique de l'AERES :

M. Pascal FERRE

Représentant de l'université ou école, établissement principal :

M. Bruno VARET, Université Paris 5



Rapport d'évaluation

1 • Présentation succincte de l'unité

L'effectif se compose de 55 personnes dont :

- 14 enseignants-chercheurs
- 1 chercheur INSERM
- 14 chercheurs (PH, non statutaires)
- 3 post-docs
- 13 doctorants (3 MESR, 1 CIFRE, 8 Soc Sav., 1 FRM),
- 10 techniciens et personnels administratifs dont 4 contractuels

Parmi les chercheurs et enseignants-chercheurs de l'unité, on compte:

- 13 HDR
- 3 PEDR
- 14 publiants (14 sur 14)

24 thèses (toutes financées) ont été soutenues pendant le dernier quadriennal.

2 • Déroulement de l'évaluation

Le porteur du projet a rappelé le bilan des deux équipes. D'une part, l'étude des mécanismes des molécules (dérivés guanidiques, de la mélatonine et du resvératrol) capables de prévenir ou de retarder les effets délétères du stress oxydant sous l'axe physico-chimique et l'axe de la biologie de la cellule endothéliale. D'autre part, l'étude du métabolisme de la glutamine, de l'arginine et de la citrulline et l'intérêt de leurs utilisations en thérapeutique contre le vieillissement et les agressions multiples (ischémie reperfusion, traumatisme crânien, sepsis, diabète de type 2 et athérosclérose). Par la suite le nouveau directeur proposé et certains membres de l'équipe ont fait un exposé clair des nouveaux projets recentrés sur les stress oxydant et nitrosant dans la physiopathologie du vieillissement et sur les stratégies thérapeutiques basées sur les apports nutritionnels, seuls ou combinés avec les statines.

Une discussion avec les doctorants et les post-doctorants a permis de constater le bon encadrement et le dynamisme des étudiants en thèse, bien impliqués dans les projets. Une discussion avec les personnels techniques a permis de constater leur implication dans les projets. Les locaux n'ont pas été visités.

La visite s'est déroulée selon le programme suivant:

| | |
|-------------|---|
| 10h00-10h45 | Réunion à huis-clos du comité d'experts et entretien préalable avec le directeur si nécessaire. |
| 10h45-11h00 | Présentation de la demande par le directeur |
| 11h00-11h40 | Groupe 1, thèmes 1 à 3 (20 min présentation + 20 min de discussion) |
| 11h40-12h00 | Groupe 2, thème 4 (10 min présentation + 10 min de discussion) |
| 12h00-12h15 | Discussion générale |



| | |
|-------------|--|
| 12h15-12h30 | Rencontre avec les ITA |
| 12h30-12h45 | Rencontre avec les étudiants, doctorants, post-doctorants. |
| 12h45-13h45 | Repas sur place |
| 13h45-14h15 | Réunion à huis-clos du comité d'experts avec les tutelles |
| 14h15-15h45 | Délibération du comité d'experts |

3 • Analyse globale de l'unité, de son évolution et de son positionnement local, régional et européen

L'équipe au cours de son dernier contrat quadriennal s'est consacrée à 2 thématiques : le processus d'adaptation métaboliques et nouvelles approches nutritionnelles (EA 2498) et la biochimie radicalaire et atteintes vasculaires (EA3617).

La première équipe s'est concentrée sur les approches nutritionnelles des pathologies comme le traumatisme crânien, le sepsis, la transplantation hépatique. Les effets de ces nutriments sur le métabolisme de la citrulline au cours du vieillissement et enfin sur l'obésité, le diabète et l'athérosclérose. 54 publications avec un facteur d'impact moyen de 3,8 pour 9 enseignants-chercheurs et 1 chargé de recherche; 7 brevets, 38 conférences sur invitation et 46 communications en congrès. Le chef d'équipe, qui est également le porteur de projet de l'unité, a une activité éditoriale reconnue dans les journaux de nutrition. Il a été responsable du L3, « Sciences du vivant », en 2006-2007. La participation à l'enseignement et la formation par le recherche s'est limitée à l'encadrement de M1, M2 et de doctorants (<2 doctorants/HDR).

La deuxième équipe a étudié les capacités antioxydantes des molécules guanidiques, dérivés de la mélatonine et analogues du resvératrol sous les aspects physicochimiques. Il a également été abordé les capacités des molécules à moduler la production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote au sein des cellules endothéliales et les mécanismes moléculaires associés. 66 publications avec un facteur d'impact moyen de 3,5 pour 9 enseignants-chercheurs ; il n'y a pas de brevet, 16 conférences sur invitation et 54 communications en congrès essentiellement au niveau national. 4 enseignants chercheurs sont responsables d'unités d'enseignement dans les filières Pharmacie et Sciences dans le cadre du 1er et 2nd cycles. L'unité a participé à la formation de 10 doctorants et post-doctorants ces 4 dernières années

Le nouveau projet avec une direction reprise par l'ancien directeur de l'EA 2498 porte sur les relations stress oxydant et stress nitrosant notamment dans les voies de biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) sous l'influence de nutriments (arginine, citrulline, resvératrol) et/ou de médicaments (statines, dérivés du resvératrol) dans la physiopathologie du vieillissement et pathologies associées. Le porteur de ce projet possède une expertise reconnue au niveau national et international sur l'utilisation des acides aminés en supplémentation nutritionnelle. Le projet est décliné en quatre thèmes répartis sur deux équipes : "régulation du stress cellulaire par les nutriments et molécules d'intérêt thérapeutique" (équipe 1, réalisation de 3 projets) et "associations innovantes nutriments-médicaments" (équipe 2, réalisation de 1 projet).

Il s'agit de mieux comprendre le métabolisme des nutriments participant à l'homéostasie du NO ; leurs efficacités sous diverses formes galéniques adaptées ou sous forme de dérivés et enfin développer des combinaisons nutriments-médicaments pour un meilleur ciblage et pour une diminution des doses utilisées afin de réduire les effets secondaires associés.



4 • Analyse équipe par équipe et par projet

1- Régulation du stress cellulaire par les nutriments et les molécules d'intérêts

Le premier projet porte sur l'étude de la biodisponibilité de l'arginine, précurseur direct du NO, ainsi que sur celle de la citrulline (précurseur de l'arginine dans les cellules productrices de NO) en fonction de l'apport protéique par mesure des flux intestinaux de ces deux acides aminés. Cette approche sera complétée par le développement de la modélisation de la mesure de cette biodisponibilité à l'échelle de l'organisme, prenant en compte le métabolisme spécifique de chaque grand type cellulaire impliqué dans le métabolisme de ces deux acides aminés. La modélisation de la biodisponibilité de molécules utilisées dans différents types cellulaires avec un devenir métabolique pouvant dépendre du type cellulaire est très difficile; cependant, l'équipe a déjà acquis une expertise dans ce domaine et réuni les compétences nécessaires pour mener à bien ce projet.

Le second projet est particulièrement novateur, portant sur la mise en évidence du rôle clef de la citrulline comme molécule activatrice de la synthèse protéique musculaire, d'une part, et agent antioxydant, d'autre part. La mise en évidence de l'activation de la synthèse protéique musculaire par la citrulline a été effectuée par l'équipe porteur de ce projet. A côté de la citrulline, seuls deux autres acides aminés sont connus pour moduler la synthèse protéique musculaire : la leucine (activatrice) et la glutamine (inhibitrice). Si ces deux acides aminés (leucine et glutamine) modulent l'activité mTOR (Mammalian Target Of Rapamycin), une sérine-thréonine protéine kinase qui est un régulateur clé des réponses cellulaires aux facteurs de croissance, hormones et nutriments, les mécanismes mis en jeu (voie de signalisation et mécanisme d'action de l'acide aminé) ne sont pas encore parfaitement établis. Une cible majeure du projet est donc l'identification de la voie mise en jeu sous l'influence de la citrulline (du transport de la citrulline à l'activation de mTOR). Pour leurs études, les auteurs proposent un modèle in vivo murin et un modèle ex vivo de muscle isolé perfusé. Le projet aborde une thématique complexe qui est celle de la régulation de mTOR par les nutriments, ici particulièrement par la citrulline. L'approche expérimentale est intéressante, mais insuffisamment détaillée. Les voies de signalisation convergeant (upstream) sur mTOR et dépendantes (downstream) de mTOR sont très complexes et les auteurs n'indiquent pas précisément quels aspects de ces voies seront investigués et comment ils comptent le faire. Si les approches par protéomique et génomique proposées peuvent permettre d'identifier des cibles de la citrulline, leur seule utilisation ne permettra pas a priori la mise en évidence de la voie de signalisation mise en jeu. Il paraît donc nécessaire de renforcer ce projet sur cet aspect avec, par exemple, l'étude de l'état de phosphorylation des protéines impliquées dans la voie mTOR (utilisation d'anticorps spécifiques). Par ailleurs, ils ne précisent pas comment ils vont moduler la voie de mTOR par divers inhibiteurs pour étayer leurs observations, ni si ils vont aborder la problématique de l'autophagie, essentielle dans la régulation de l'accrétion protéique. Pour aborder les propriétés antioxydantes de la citrulline, l'utilisation de la production d'espèces radicalaires produites par radiolyse gamma de l'eau dont l'équipe possède la maîtrise est un point fort du projet pour 1°) caractériser les propriétés antiradicalaires de cet acide aminé et 2°) apprécier son effet protecteur sur l'oxydation des LDL. Une autre approche concerne la prévention de lésions d'ischémie-reperfusion en prenant le modèle d'ischémie-reperfusion hépatique. On pourrait souhaiter davantage de précision concernant notamment les effets potentiels de la citrulline sur le métabolisme du NO dans le foie reperfusé (conséquences sur le stress nitrosatif et nitroxydatif, effets de la citrulline chez des animaux génétiquement déficients en NO-synthase -eNOS et iNOS-) et sur des aspects essentiels des voies de signalisation dont la modulation joue un rôle clé dans la lésion de reperfusion : Akt, MAP kinases, NFκB (les auteurs proposent d'évaluer NFκB, mais ils ne précisent pas comment), HMGB-1. Les approches proposées sont principalement descriptives et insuffisamment mécanistiques.

Dans le cadre de l'utilisation de la citrulline en thérapeutique basée sur ses effets sur la synthèse protéique et son rôle d'agent antioxydant, un objectif est de démontrer l'innocuité de cette molécule par l'étude de son apport au long cours chez le rat. Parallèlement, les effets de son utilisation chez le sujet âgé dénutri hospitalisé seront étudiés sur une période de 3 semaines. Les études animales proposées sont pertinentes et devraient fournir des résultats intéressants. Toutefois, on peut regretter que certains aspects en relation avec



le vieillissement ne soient pas évoqués, principalement concernant le système cardiovasculaire, ce d'autant que l'on peut s'attendre à un certain nombre d'effets de la citrulline, compte tenu des ses propriétés anti-oxydantes. Un nombre limité d'expériences pourrait évaluer la fonction cardiaque (échographie) et vasculaire (réactivité vasculaire ex vivo) par exemple. De plus, s'agissant d'une étude évaluant la synthèse protéique musculaire, il paraît essentiel que les effets de la citrulline sur le status hormonal (insuline, stéroïdes, hormone de croissance) soient évalués. Pour les études humaines, le projet est très pertinent et pourrait produire des résultats très importants, susceptibles de conduire à des applications thérapeutiques majeures de la citrulline. L'ensemble de ce projet sur les propriétés et l'utilisation de la citrulline est pertinent. Il faudrait cependant renforcer l'approche mécanistique susceptible de conduire à de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Le troisième projet se focalise sur les effets du resvératrol et de ses dérivés hydroxylés à la fois sur les inhibiteurs endogènes de la NO synthase endothéliale et sur les systèmes de défenses anti-oxydants. Des approches galéniques visant à optimiser la biodisponibilité orale du resvératrol seront également développées. Pour aborder les propriétés antioxydantes du resvératrol et de ses dérivés, l'utilisation de la production d'espèces radicalaires produites par radiolyse gamma de l'eau dont l'équipe possède la maîtrise est un point fort du projet pour identifier les produits d'oxydation. L'équipe aborde la modulation de la production d'inhibiteur endogène de la NO-synthase (la diméthylarginine asymétrique (ADMA)) par les dérivés du resvératrol en ciblant l'enzyme qui la métabolise, la diméthylarginine diméthylaminohydrolase (DDAH), dans les cellules endothéliales. Dans la même ordre d'idée, les effets de ces molécules sur le système thiorédoxine/thiorédoxine réductase seront abordés, pour apprécier leurs propriétés anti-oxydantes dans les cellules endothéliales. Il est également envisagé d'étudier l'effets de ces dérivés du resvératrol au cours de l'ischémie-reperfusion hépatique in vivo afin d'incriminer leurs actions bénéfiques sur les deux cibles sus-mentionnées. On aurait souhaité davantage de précision sur l'importance du choix des cibles par rapport aux autres effets connus du resvératrol et de ses dérivés sur la NO-synthase endothéliale elle-même et de leurs actions connues récemment sur les récepteurs à l'œstrogène. Les approches proposées sont principalement descriptives et analytiques et insuffisamment mécanistiques. L'étude des métabolismes du resvératrol par mesure des flux inter-organes (intestin, foies, rein) sera également développée pour un meilleur choix de molécules utilisées en fonction de leurs affinités tissulaires. L'équipe a déjà acquis une expertise dans ce domaine et réuni les compétences nécessaires pour mener à bien ce projet (voir le 1er projet). Enfin, il est proposé d'optimiser la biodisponibilité orale du resvératrol sous diverses formes galéniques adaptées ou sous forme de dérivés pour un meilleur ciblage et pour une diminution des doses utilisées afin de réduire les effets secondaires associés. Cette approche galénique est bien maîtrisée par l'équipe. L'ensemble de ce projet sur les propriétés et l'utilisation des dérivés du resvératrol est original mais à risques et la justification de l'intérêt des cibles par rapport à celles déjà connues par les molécules d'intérêt est moins visible.

2- Associations innovantes nutriments-médicaments : arginine/citrulline ; resveratrol ; statines

Cette thématique est dans la continuité de la première thématique car il s'agit de tester de l'association entre les nutriments (citrulline, resvératrol) et médicaments (statines) sur différentes cibles cellulaires abordées par l'équipe 1. L'idée étant d'améliorer l'efficacité de la combinaison, de diminuer l'iatrogénicité et le coût d'utilisation. Il semble que les sujets abordés et les approches sont identiques et que cette équipe pourrait fusionner avec la première.

5 • Analyse de la vie de l'unité

– En termes de management :

Le porteur de ce projet possède une expertise reconnue au niveau national et international sur l'utilisation des acides aminés en supplémentation nutritionnelle. Le nouveau directeur est dynamique et montre toutes les qualités de management nécessaires. Cette équipe bénéficie de crédits universitaires mais surtout de contrats avec les grandes industries internationales de l'alimentation. Il est à noter sa grande capacité à valoriser ses



recherches en terme de brevets (7). Cependant, le directeur et toute l'équipe n'ont pas de contrats de type ANR ou de contrats européens qui témoigneraient la reconnaissance incontestable de leur notoriété scientifique.

- En termes de ressources humaines :

Les ressources humaines sont adéquates mais il faudrait sans doute augmenter le nombre de chercheurs à temps plein.

- En termes de communication :

Les membres de l'équipe sont régulièrement invités à donner des conférences nationales et internationales. La communication est de bonne qualité entre les étudiants et leurs encadrants avec des réunions régulières entre les chefs de groupe et les personnels.

6 • Conclusions

- Points forts :

La recherche est de bonne qualité et l'équipe possède une expertise reconnue dans le domaine de la nutrition.

Il existe un réel effort de recentrage par rapport aux thématiques précédentes dans le souhait de faire émerger des thématiques fédératrices.

Le comité souligne le dynamisme du porteur de projet et les excellents transferts et valorisation de la recherche.

- Points à améliorer :

Bien qu'une grande partie du projet soit pertinente, le projet est assez descriptif dans un domaine très compétitif.

Les moyens mis à disposition pour atteindre les objectifs sont assez modestes et il faudrait renforcer les approches technologiques pour aborder les thématiques proposées au niveau des mécanismes moléculaires mis en jeu.

La maîtrise théorique du concept du NO pourrait être améliorée.

La thématique devrait permettre une politique de publication plus ambitieuse.

- Recommandations :

Il faut renforcer le groupe travaillant sur le stress oxydant dans les approches technologiques avec une utilisation plus élaborée des outils moléculaires à disposition dans la communauté scientifique ;

Il faut intégrer l'équipe nutriment-médicament dans la thématique générale ;

Il faut mettre en adéquation les objectifs avec les axes de recherches sur le vieillissement ;

Il serait souhaitable que les tutelles fassent un effort pour le regroupement des deux équipes dans un local unique et dans une surface mieux adaptée aux besoins.

L'équipe doit avoir une politique de demande de financements nationaux et internationaux.



| Note de l'unité | Qualité scientifique et production | Rayonnement et attractivité, intégration dans l'environnement | Stratégie, gouvernance et vie du laboratoire | Appréciation du projet |
|-----------------|------------------------------------|---|--|------------------------|
| B | B | B | A | B |

Le Président
Axel KAHN

Paris, le 17 avril 2009

DRED 09/n° 155

Monsieur Pierre GLORIEUX
Directeur de la section des unités de l'AERES
20 rue Vivienne
75002 PARIS

Monsieur le Directeur,

Je vous remercie pour l'envoi du rapport de comité de visite concernant l'équipe d'accueil « EA 2498 Stress cellulaire : physiopathologie, stratégies nutritionnelles et thérapeutiques innovantes » rattachée à mon établissement.

L'Université a pris bonne note des remarques du comité de visite et veillera à ce que les recommandations faites soient suivies d'effet. La restructuration des locaux de la Faculté de pharmacie est l'objectif prioritaire de l'Université Paris Descartes dans le cadre du plan Campus Paris Cité.

Je vous prie de croire, Monsieur le Directeur, à l'expression de ma meilleure considération.

Le Président de l'Université


Axel Kahn

Unité de recherche :
Stress cellulaire : physiopathologie, stratégies
nutritionnelles et thérapeutiques innovantes
de l'Université Paris 5

Porteur du projet : Luc Cynober



Laboratoire Biologie de la Nutrition
Pr Luc CYNOBER
Faculté de Pharmacie
4, Avenue de l'Observatoire
75270 Paris Cedex 06

Observations de portée générale sur le rapport d'évaluation

Analyse par projet :

- Projet 2

- Ligne 5 : l'action de la glutamine est stimulatrice (et non inhibitrice). Comme indiqué dans le projet 1, la glutamine est le précurseur majeur de la citrulline.
- Lignes 18-19 (étude de l'état de phosphorylation / voie mTOR : cette approche figure dans le projet (p. 27) et a fait l'objet de 2 diapositives lors de la présentation orale.
- Ligne 24 (étude de l'autophagie) : dans le muscle dans les situations physiopathologiques d'intérêt, le catabolisme protéique dépend essentiellement de la voie ubiquitine dépendante. Par ailleurs, nos études tant *in vitro* qu'*in vivo* ne montrent pas d'effet de la citrulline sur la protéolyse.
- Lignes 29-35 (aspects mécanistiques) : depuis l'évaluation, nous avons rencontré, en vue d'une collaboration étroite, le Professeur Wouter Lamers (Dépt d'Anatomie et de Physiologie, Université de Maastricht) qui dispose de plusieurs modèles de souris invalidées (non létales) pour eNOS, iNOS, arginase type II et arginine succinate synthase.

- Points à améliorer

- Approches technologiques : des rats dont le gène de la iNOS et de la luciférase est sous la dépendance du même promoteur, seront utilisés afin de localiser et de mesurer l'activité de la iNOS de manière non invasive et dynamique, par une technique d'imagerie optique. Ce projet a été approuvé par le Comité Régional d'Ethique pour l'Expérimentation Animale d'Ile-de-France – René Descartes (n° d'enregistrement : P2.CM.018.06).

- Recommandations :

- Renforcer le groupe sur le stress oxydant

- Intégrer l'équipe nutriment-médicament : nous sommes d'accord sur ces 2 suggestions et nous fusionnerons les 2 équipes en répartissant les chercheurs de l'équipe 2 dans l'équipe 1.

L'organigramme devient :

- Groupe 1 : Métabolisme et régulation (JP. De Bandt)
 - Groupe 2 : Etudes mécanistiques des processus d'oxylation (D. Bonnefont-Rousselot)
 - Groupe 3 : Pharmacologie de la citrulline (C. Moinard et S. Darquy)
 - Groupe 4 : Pharmacologie et vectorisation du resveratrol (D. Borderie et P. Théron)
-
- **Regroupement des locaux des 2 équipes** : une réunion récente du Comité de pilotage de la Faculté a acté le regroupement de nos locaux dans l'aile 400 (autour de ceux occupés par le Service de Nutrition).
 - **Politique de demande de financement** : Conscient de cette faiblesse, nous avons entrepris une démarche constructive dans ce sens. Un premier projet vient d'être soumis à l'ANR dans le cadre des appels à projets collaboratifs franco-allemand avec l'Université d'Hohenheim autour du métabolisme viscéral de la citrulline. Un deuxième projet sur les propriétés de la citrulline est en cours de préparation pour les prochains appels d'offre de l'ANR.