



EXTRAIT DU REGISTRE DES DÉLIBÉRATIONS

du Conseil de Communauté de l'agglomération dijonnaise

Séance du jeudi 17 novembre 2011

Président : M. REBSAMEN

Secrétaires de séances : M. GRANDGUILLAUME et Mlle KOENDERS

Convocation envoyée le 10 novembre 2011

Publié le 18 novembre 2011

Nombre de membres du Conseil de Communauté : 82

Nombre de présents participant au vote : 64

Nombre de membres en exercice : 82

Nombre de procurations : 14

Membres présents :

M. François REBSAMEN	M. Jean-Pierre SOUMIER	Mlle Stéphanie MODDE
M. Pierre PRIBETICH	M. André GERVAIS	M. Philippe CARBONNEL
M. Jean ESMONIN	M. Alain MILLOT	M. Alain LINGER
Mme Colette POPARD	M. Joël MEKHANTAR	M. Louis LAURENT
M. Rémi DETANG	M. Philippe DELVALEE	M. Roland PONSAA
M. Jean-Patrick MASSON	Mme Anne DILLENSEGER	M. Michel ROTGER
M. José ALMEIDA	M. Georges MAGLICA	M. François NOWOTNY
M. Jean-François DODET	Mme Françoise TENENBAUM	M. Michel FORQUET
M. Laurent GRANDGUILLAUME	Mme Christine DURNERIN	M. Gaston FOUCHERES
M. Patrick CHAPUIS	Mme Nelly METGE	M. Pierre PETITJEAN
M. Michel JULIEN	Mme Elisabeth BIOT	Mme Claude DARCIAUX
Mme Marie-Françoise PETEL	Mlle Christine MARTIN	M. Philippe GUYARD
M. Gérard DUPIRE	Mlle Nathalie KOENDERS	M. Pierre-Olivier LEFEBVRE
M. Jean-François GONDELLIER	Mme Marie-Josèphe DURNET-ARCHEREY	M. Gilles MATHEY
Mme Catherine HERVIEU	M. Alain MARCHAND	Mme Françoise EHRE
M. Jean-Claude DOUHAI	M. Mohammed IZIMER	M. Patrick BAUDEMMENT
M. Jean-Paul HESSE	Mme Hélène ROY	Mme Geneviève BILLAUT
Mlle Badiaâ MASLOUHI	M. Mohamed BEKHTAOUI	M. Murat BAYAM
M. Yves BERTELOOT	Mme Jacqueline GARRET-RICHARD	M. Michel BACHELARD
M. Patrick MOREAU	Mme Joëlle LEMOUZY	M. Philippe BELLEVILLE
M. Dominique GRIMPRET	M. Jean-Yves PIAN	Mme Noëlle CABBILLARD.

Membres absents :

M. Christophe BERTHIER	M. Gilbert MENUT pouvoir à Mme Noëlle CABBILLARD
M. Nicolas BOURNY	M. François DESEILLE pouvoir à M. Didier MARTIN
M. Jean-Philippe SCHMITT	M. François-André ALLAERT pouvoir à Mme Colette POPARD
M. Gilles TRAHARD	M. Benoît BORDAT pouvoir à M. Dominique GRIMPRET
	Mme Elizabeth REVEL-LEFEVRE pouvoir à M. Yves BERTELOOT
	Mme Myriam BERNARD pouvoir à Mme Hélène ROY
	M. Franck MELOTTE pouvoir à M. Alain LINGER
	M. Lucien BRENOT pouvoir à M. Michel ROTGER
	Mme Christine MASSU pouvoir à M. François NOWOTNY
	Mme Dominique BEGIN-CLAUDET pouvoir à M. Michel FORQUET
	M. Claude PICARD pouvoir à Mme Marie-Françoise PETEL
	M. Jean-Claude GIRARD pouvoir à Mme Françoise EHRE
	M. Rémi DELATTE pouvoir à M. Jean-François DODET
	M. Norbert CHEVIGNY pouvoir à M. Philippe BELLEVILLE.

OBJET : DEVELOPPEMENT ECONOMIQUE**Pôle Vitagora - Projet "SYMPPA" - Soutien du Grand Dijon**

Suite au dépôt de bilan en janvier 2011 d'EXICHOL France, le projet FUI du même nom, a été interrompu.

Pourtant, après deux ans de travaux, les membres du consortium, et notamment l'INSERM U866, ont souhaité capitaliser sur les résultats déjà obtenus et ont recherché un nouveau partenaire capable de poursuivre les travaux en apportant un nouvel actif. Pour cela, un industriel a été identifié pour remplacer EXICHOL France. Il s'agit de LARA SPIRAL de Couternon (21). Le projet a été rebaptisé SYMPPA (Syndrome Métabolique Polyphénols Activités).

Pour mémoire, l'objectif du projet est d'apporter une réponse nutriginomique aux risques cardiovasculaires : développer de nouveaux actifs, purement alimentaires, qui favoriseraient la restauration du métabolisme des lipides et des glucides. Ces actifs pourraient être apportés dans des compléments alimentaires.

Si les objectifs visés, le déroulement du projet, les moyens mis en oeuvre et les personnels impliqués restent inchangés, il convient toutefois de prolonger le projet de 24 mois pour permettre la réalisation optimale des travaux de recherche.

Par ailleurs, un ajustement de l'assiette éligible du programme étant rendu nécessaire par les modifications du programme de l'INSERM U866, une nouvelle répartition financière a été proposée aux différents partenaires :

<i>Co-financeurs</i>	<i>ex Programme Exichol</i>	Programme Symppa
Assiette programme	4.599.529 €	3.539.758 €
Subventions publiques	2.677.803 €	2.330.884 €
FUI	1.172.375 €	1.093.808 €
FEDER	568.161 €	568.161 €
CRB	469.000 €	361.746 €
CG 21	156.089 €	102.378 €
CG89	156.089 €	102.468 €
Grand Dijon	156.089 €	102.323 €

Par délibération en date du 26 mars 2009, la Communauté d'Agglomération dijonnaise avait décidé de soutenir le programme Exichol, en apportant une aide financière au Laboratoire INSERM U866, à hauteur de 156.089 €. Les modalités de ce soutien ont fait l'objet :

- d'une convention cadre signée le 6 août 2009 entre tous les partenaires financiers ;
- d'une convention d'application notifiée à l'Université de Bourgogne le 16 février 2010.

Considérant les modifications nécessaires à la continuité du programme Exichol, aujourd'hui rebaptisé "Symppa" et les ajustements financiers que cela a entraînés, il convient aujourd'hui de confirmer l'engagement de la communauté aux côtés des autres partenaires.

Un avenant à la convention cadre viendra entériner les nouveaux engagements publics. Pour sa part, la Communauté d'Agglomération continuera d'apporter son soutien à l'INSERM U866, à hauteur non plus de 156.089 € mais de 102.323 € ; un avenant à la convention d'application devra être également rédigé.

Vu l'avis de la Commission et du Bureau,

LE CONSEIL,
APRÈS EN AVOIR DÉLIBÉRÉ,
DÉCIDE :

- **d'approuver** le projet d'avenant à la convention cadre à intervenir entre l'Etat et les collectivités territoriales relative au financement du projet de R&D « Symppa »), prenant en compte les modifications apportées au programme initial "Exichol", ci-annexé ;
- **de dire** qu'au vu des engagements pris par les partenaires publics, la Communauté de l'Agglomération dijonnaise soutiendra l'INSERM U866, à hauteur de 102.323 € ;
- **de dire** qu'un avenant à la convention d'application signée le 28 janvier 2010 par l'Université de Bourgogne (UMR 866 INSERM) et la Communauté d'Agglomération dijonnaise, doit être conclu ;
- **d'autoriser** le Président à signer tous actes nécessaires à la bonne administration de ce dossier ;
- **de dire** que les sommes seront prélevées sur les budgets des exercices 2012 et suivants.

**AVENANT A LA CONVENTION CADRE ENTRE L'ETAT
ET LES COLLECTIVITÉS TERRITORIALES,
RELATIVE AU FINANCEMENT
DU PROJET DE R&D
"SYMPPA"
DU PÔLE DE COMPETITIVITE VITAGORA**

- Vu la convention cadre entre l'état et les collectivités territoriales en date du 6 aout 2009, relative au financement du projet de R&D "EXICHOL" du pôle de compétitivité VITAGORA.
- Vu la délibération en date du 23 mars 2009 du Conseil régional de Bourgogne portant sur le soutien au projet de recherche et développement "EXICHOL" du pôle de compétitivité VITAGORA retenu le 16 avril 2008 pour un financement par le fonds unique interministériel d'appui aux projets de R&D des pôles de compétitivité (cinquième appel à projet),
- Vu la délibération en date du 11 décembre 2008 du Conseil général de Côte d'Or, portant sur le soutien au projet de R&D "EXICHOL" sus-visé,
- Vu la délibération en date du 3 avril 2009 du Conseil général de l'Yonne, portant sur le soutien au projet de R&D "EXICHOL" sus-visé,
- Vu la délibération en date du 26 mars 2009 de la Communauté de l'agglomération Dijonnaise, portant sur le soutien au projet de R&D "EXICHOL" sus-visé,

Considérant que, depuis la labellisation du projet, la société EXICHOL a souhaité se désengager du projet de R&D "EXICHOL".

Considérant que, LARA SPIRAL a repris l'activité de recherche appliquée de la société EXHICOL et la coordination du programme SYMPPA.

Considérant les modifications nécessaires à la continuité du programme et compte tenu des résultats obtenus et du changement de partenaires le programme "EXICHOL" est dénommé dans sa deuxième phase le programme "SYMPPA".

Considérant l'ajustement de l'assiette éligible du programme "EXICHOL" rendu nécessaire par les modifications du programme de l'INSERM 866

Considérant l'avis du comité de suivi

Entre,

L'Etat, représenté par la Préfète de la région Bourgogne, préfète du département de Côte d'Or, Mme Anne BOQUET,

Et,

Le Conseil régional de Bourgogne, représenté par son Président, M. François PATRIAT,

Et,

Le Conseil général de Côte d'Or, représenté par son Président, M. François SAUVADET,

Et,

Le Conseil général de l'Yonne, représenté par son Président, M. Jean-Marie ROLLAND,

Et,

La Communauté de l'agglomération dijonnaise, ci-après désignée par « le Grand Dijon », représentée par son Président, M. François REBSAMEN,

IL EST EXPOSÉ ET CONVENU CE QUI SUIT

ARTICLE 1 – OBJET DE LA CONVENTION

La présente convention a pour objet :

- de porter précision, en application des articles L 1511-2 et L 1511-5 du code général des collectivités territoriales, des compétences des Conseils généraux de Côte d'Or et de l'Yonne et de la Communauté de l'agglomération dijonnaise, pour l'attribution d'une aide directe aux entreprises et organismes de toute nature, ci-après dénommés « partenaires », qui participent au projet "SYMPPA" du pôle de compétitivité VITAGORA retenu le 16 avril 2008 pour un financement par le fonds unique interministériel d'appui aux projets de R&D des pôles de compétitivité (cinquième appel à projet),
- de déterminer les engagements financiers respectifs de l'Etat, du conseil régional de Bourgogne, des Conseils généraux de Côte d'Or et de l'Yonne, et du Grand Dijon en faveur de ces partenaires pour leurs activités de recherche et développement effectuées dans le cadre de ce projet,
- de mettre en place les modalités de suivi communes de ce projet.

ARTICLE 2 – ENGAGEMENTS DES POUVOIRS PUBLICS

Le tableau détaillant, pour le projet "SYMPPA" et pour chaque partenaire, l'assiette éligible ainsi que le taux de subvention et le montant maximum de la ou des subvention(s) octroyée(s) par l'Etat ou par une ou plusieurs collectivités territoriales est porté en annexe de la présente convention.

Sont portés en annexe un descriptif des travaux réalisés, les partenaires impliqués ainsi que le chef de file du projet, désigné par leurs soins parmi les partenaires, et en charge de la coordination du projet.

Pour la mise en œuvre des soutiens des collectivités territoriales, les obligations respectives de l'Etat et des collectivités territoriales, ainsi que des partenaires sont précisées dans une convention d'application relative à chaque projet de recherche développement. Les obligations des partenaires peuvent, le cas échéant, être de nature autre que la stricte exécution du projet de R&D et concerner les effectifs des sites concernés, les investissements y compris productifs, des actions visant à développer des partenariats locaux avec les acteurs académiques et les PME, et plus largement toute action s'inscrivant dans les objectifs définis par le contrat de pôle visé par la présente convention. Cette convention d'application précise également les modalités de contrôle à la charge du comité de suivi (cf. ci-dessous) et de l'Etat (Direction Générale des Entreprises) et des collectivités territoriales.

L'octroi des aides des Collectivités Territoriales intervient dans les conditions et selon les modalités habituelles d'intervention financière de la Direction Générale des Entreprises du ministère de l'économie, des finances et de l'industrie (DGE) en faveur du projet de Recherche Développement mené par les entreprises.

Enfin le projet a été inscrit par le comité régional de programmation unique du 12 décembre 2008 au Programme Opérationnel du Fonds Européen de Développement Régional (FEDER) en Bourgogne.

Il a été décidé d'attribuer une aide FEDER sur deux opérations au titre de la mesure 1-1 du Programme Opérationnel. Une convention signée avec le maître d'ouvrage définit les conditions d'octroi de cette aide.

Le comité a par ailleurs inscrit les six autres opérations en contrepartie pure, au titre du paiement alternatif, au FEDER dans le cadre de la mesure 1-1 du Programme Opérationnel. Les obligations des porteurs de projet qui en résultent leur sont notifiées par courrier.

ARTICLE 3 – DURÉE DE LA CONVENTION

La présente convention prend effet à compter de la date de sa signature par l'ensemble des parties et expire 4 ans après la date de fin de réalisation du projet porté en annexe.

ARTICLE 4 – COMITE DE SUIVI DU PROJET DE RECHERCHE DÉVELOPPEMENT

Il est instauré un comité de suivi afin de s'assurer du bon déroulement du projet. Ce comité regroupe :

- des représentants de l'Etat (DGE et ministères compétents, préfecture de la région Bourgogne, DIRECCTE Bourgogne, DRAF Bourgogne et services déconcentrés de l'Etat compétents...),
- des représentants du Conseil Régional de Bourgogne, des Conseils généraux de la Côte d'Or et de l'Yonne et de la Communauté de l'agglomération dijonnaise qui participent au financement du projet suivant le tableau en annexe, prévu à l'article 2.

Ce comité de suivi se réunit une fois par an et, en cas de besoin, à la demande de l'une ou l'autre des parties. Un rapport d'avancement du projet est fait par les partenaires devant le comité, sous la responsabilité du chef de file. Les réunions de ce comité donnent lieu à des comptes-rendus, diffusés aux membres du comité.

Le comité de suivi veille au bon déroulement du projet.

Il peut acter des évolutions qui n'emportent pas modification de l'équilibre général du projet. En particulier, il se prononce sur les demandes de modifications du projet introduites par les partenaires et sur l'opportunité de modifier l'annexe technique du projet et, le cas échéant, les annexes financières des partenaires concernés par les modifications. Il est chargé de suivre des indicateurs relatifs à :

- la réalisation scientifique et technique du projet,
- la réalisation financière du projet,
- l'impact sur l'emploi du projet,
- le bon déroulement du partenariat entre les PME, les industriels et les laboratoires publics participants.

En lien avec l'examen du rapport d'avancement, le comité de suivi fait un bilan des versements des aides intervenus depuis sa précédente réunion. En cas de non exécution des obligations des partenaires, il peut proposer la suspension des paiements et toute mesure prévue aux articles 8 et 11 de l'annexe 1 aux conventions d'application.

Son secrétariat est assuré par le chef de projet sous contrôle de l'Etat.

ARTICLE 5 – MODALITÉS DE SOLDE DES CONVENTIONS D'APPLICATION

Pour le solde des conventions d'application prises dans le cadre de la présente convention, chaque partenaire titulaire d'une de ces conventions transmet à la collectivité assurant son financement :

- un rapport final d'exécution du projet, commun à tous les partenaires du projet et signé par chacun d'eux,
- un état récapitulatif des dépenses effectuées depuis la date de commencement des travaux, certifié exact par le titulaire selon les modalités définies par les conventions d'application.

Les financeurs publics vérifient, chacun pour ce qui le concerne, les états récapitulatifs des dépenses et les transmettent, le cas échéant avec leurs observations, au secrétaire du Comité de suivi. En lien avec ces éléments financiers, l'Etat examine le rapport final d'exécution du projet.

Le comité de suivi entend le compte rendu de l'Etat sur le rapport final d'exécution du projet et fait un bilan synthétique des dépenses.

Le versement du solde des aides prévues par les conventions d'application est subordonné à l'établissement par l'Etat, après avis du comité et sur la base du rapport final d'exécution du projet, d'un certificat administratif.

ARTICLE 6 – REGLEMENT DES LITIGES OU DIFFICULTES D'INTERPRETATION NES DE L'APPLICATION DE LA PRESENTE CONVENTION

En cas de difficultés d'interprétation des différentes obligations contenues dans la présente convention, les parties s'engagent à rechercher un accord amiable et ce, avant toute saisine des juridictions compétentes.

En l'absence d'une solution amiable recherchée préalablement par les parties, les contentieux nés de la présente convention relèveront de la juridiction compétente du ressort du tribunal administratif de Dijon.

ARTICLE 7 – CETTE CONVENTION ANNULE ET REMPLACE CELLE DU 06 AOÛT 2009

Fait à Dijon, en 5 exemplaires originaux,
le

La Préfète de la Région Bourgogne,
Préfète de Côte-d'Or,

Le Président du Conseil régional de Bourgogne,

Anne Boquet

François PATRIAT

Le Président du Conseil général
de la Côte-d'Or,

Le Président du Conseil général
de l'Yonne,

François SAUVADET

Jean-Marie ROLLAND

Le Président de la Communauté
de l'Agglomération Dijonnaise,

François REBSAMEN

ANNEXE 1 - ENGAGEMENTS DES POUVOIRS PUBLICS

Budget global du programme SYMPPA, intégrant les dépenses et les subventions de la phase Exichol

NB : Le partenaire EXICHOL apparait en tant que membre effectif de la première phase du programme.

	Dépenses effectuées (phase 1 Exichol 15/11/08 au 31/03/10) (statutaires inclus)	Montant total du programme SYMPPA (phase 2 Symppa du 01/04/10 au 31/03/11) (statutaires inclus)	Assiette éligible du programme SYMPPA :	Subvention totale demandée	Sub perçues Au 31/03/10	Etat	Feder	Région Bourgogne	Département Côte d'Or	Département l'Yonne	Grand Dijon	Total	Taux d'aide
EXICHOL*	868 216	0	868 216	482 714	390 697	178 255		163 830	48 612			390 697	45 %
LARA SPIRAL	0	320 655	320 655	144 295	0			144 295				144 295	45%
INSERM U866 Equipe 6	168 755	281 923	450 678	450 678	106 425	450 678***						450 678	100%
INSERM U866 Equipe 7	0	398 798	398 798	398 798	72 813	242 709			53 766		102 323	398 798	100%
INSERM U866 Equipe 8	112 380	231 623	344 003	344 003	0	54 000***	290 003					344 003	100%
INSERM U866 Equipe 9	186 732	177 826	364 558	364 558	0	86 400***	278 158					364 558	100%
SENOBLE	338 591	351 632	690 223	207 067	101 577	50 978		53 621		102 468		207 067	30%
SALINS DU MIDI	0	102 627	102 627	30 788	9 236	30 788						30 788	30%
Total	1 674 674	1 865 084	3 539 758	2 422 901		1 093 808	568 161	361 746	102 378	102 468	102 323	2 330 884	
Clé de répartition appliquée pour les subventions des CT								50%	16,6%	16,6%	16,6%		

NB :

** report de 144 295€ de subvention Exichol sur Lara Spiral

*** report de 236 326€ de subvention Exichol sur les équipes INSERM 6,8 et 9

Descriptif des travaux réalisés avec les partenaires impliqués :

Phase	Thème	Durée	Leader	Partenaires Partenaires impliqués
Phase 1 : Détermination des mécanismes d'action des micronutriments combinatoires XXS lors de l'absorption au niveau de la cavité buccale et du système gastro-intestinal	Th1 : Impact du XXS sur l'apport et l'utilisation de l'énergie	7 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6 SPIRAL
	Th2 : Impact du XXS sur le profil génique des papilles gustatives	6 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6 SPIRAL
	Th3 : Impact du XXS sur la préférence spontanée pour le gras et le sucré	14 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6 SPIRAL
	Th4 : Impact de la XXS sur la biologie de l'intestin grêle	6 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6 SPIRAL
	Th5 : Impact chez la souris de la XXS sur l'absorption intestinale	20 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6 SPIRAL
	Th6 : Rapport de thèse et publication	6 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6 SPIRAL

Phase 2 :
 Détermination des
 mécanismes d'action des
 micronutriments
 combinatoires XXS en phase
 post-absorption au niveau du
 métabolisme lipidique de
 l'organisme

Th1 : Profils lipidiques plasmatiques	6 mois
Th2 : Profils cytokinique plasmatique	6 mois
Th3 : Rapport masse grasse/masse maigre	6 mois
Th4 : Evaluation de la capacité globale de défenses anti radicalaire et du stress oxydatif	6 mois
Th5 : Composition des lipides hépatiques	7 mois
Th6 : Evaluation de la stéatose hépatique	7 mois
Th7 : Composition en acides biliaires de la bile	7 mois
Th8 : Courbes d'augmentation de la triglycéridémie sur une période de 4 heures après injection du poloxamer	8 mois
Th9 : Détermination du taux de production de VLDL hépatiques	8 mois
Th10 : Profils lipidiques plasmatiques	8 mois
Th11 : Composition en cholestérol et acide biliaire de la bile et des fécès	8 mois
Th12 : Identification de réseaux marqueurs de lipogenèse, de la lipolyse, de la synthèse d'acide biliaire et de la synthèse cholestérol dans le foie	8 mois

SPIRAL
SPIRAL

UMR U866 Equipe 8

SPIRAL
SPIRAL

UMR U866 Equipe 8

Phase 3 : Détermination des mécanismes d'action des micronutriments combinatoires XXS au niveau cellulaire et moléculaire	Th1 : Mécanisme d'action moléculaire de la XXS sur la cellule musculaire	8 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 9 SPIRAL
	Th2 : Validation de l'implication de la XXS sur la performance musculaire	8 mois		
	Th3 : Identification de « réseaux géniques marqueurs »	8 mois		
	Th4 : Information permettant le développement d'une nouvelle génération de XXS stimulant les voies oxydatives dans les muscles squelettiques	6 mois	SPIRAL	UMR U866 Equipe 9 SPIRAL
	Th5 : Rapport, brevet, publication	6 mois		
Phase 4 : Optimisation de la formulation initiale de la XXS et définition de nouvelles combinaisons d'actifs	Phase réalisée au préalable			

Phase 5 : Transposition des actifs au sein des matrices produits alimentaires pour évaluation et validation de leur efficacité	Th1 : Nouvelle génération de crèmes dessert allégées, enrichies en actif, avec maintien de la fonctionnalité de l'actif en conservation	21 mois	SENOBLE	SENOBLE
	Th2 : Nouvelle génération de produits à base de sel à propriété bénéfique pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique		SALINS DU MIDI	SALINS DU MIDI
	Th3 : Nouvelle génération de produits alimentaires à propriété bénéfique pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique		INSERM U866	SPIRAL UMR U866 Equipe 7 UMR 866 Equipe 8

ANNEXE 2 - Liste des Conventions à établir entre partenaires du projet et organismes financeurs

1. Entre l'Etat (FUI) et les sociétés SENOBLE et SALINS DU MIDI, l'INSERM - UMR 866 – Equipes 6,7,8,9
2. Entre l'Etat et l'INSERM - UMR 866 – Equipe 8, 9 relative à l'attribution d'une subvention dans le cadre du Programme Opérationnel FEDER en Bourgogne 2007-2013 ;
3. Entre le Conseil Régional de Bourgogne et les sociétés LARA SPIRAL et SENOBLE ;
4. Entre le Conseil Général de Côte d'Or et la société LARA SPIRAL et l'INSERM - UMR 866 – Equipe 7 ;

5. Entre le Conseil Général de l'Yonne et la société SENOBLE ;
6. Entre la Communauté de l'agglomération dijonnaise et l'organisme l'INSERM - UMR 866 - Equipe 7.

Pôle de Compétitivité VITAGORA

Projet de R&D

"SYMPPA"

ex. "EXICHOL"

AVENANT A LA CONVENTION D'APPLICATION

Entre :

La Communauté d'agglomération dijonnaise,
40, avenue du Drapeau, BP 17510 - 21075 DIJON cedex,
représentée par son Président, M. François REBSAMEN,
en vertu d'une délibération en date du
déposée en Préfecture le

et :

L'Université de Bourgogne (UMR 866 INSERM),
Maison de l'Université – Esplanade Erasme – BP 27877 – 21078 Dijon cedex
représentée par Mme Sophie Béjean, Présidente, dûment habilitée à cet effet

VU la délibération du Conseil en date du 26 juin 2008 donnant la capacité à la Communauté d'Agglomération dijonnaise d'apporter son soutien financier à tout projet labellisé F.U.I. (Fonds Unique Interministériel) se développant sur le territoire de l'agglomération dijonnaise, dans le cadre d'une convention spécifique à chaque projet,

VU la délibération du Conseil de Communauté en date du 26 mars 2009 approuvant le soutien financier apporté à l'Université de Bourgogne dans le cadre du projet de R&D "EXICHOL",

VU la convention cadre en date du 6 août 2009, entre l'Etat et les collectivités territoriales, relative au financement du projet de R&D "EXICHOL" du pôle de compétitivité VITAGORA, complétée par avenant signé le

VU la convention d'application signée le 28 janvier 2010, entre l'Université de Bourgogne (UMR 866 INSERM) et la Communauté d'Agglomération dijonnaise,

PREAMBULE

Considérant le désengagement de la Société EXICHOL dans le projet de R&D du même nom,

Considérant que des résultats encourageants ont été obtenus, qu'un nouvel industriel LARA SPIRAL a été identifié pour remplacer EXICHOL France, que le projet a été rebaptisé SYMPPA (Syndrome Métabolique Polyphénols Activités),

Considérant que les objectifs visés, le déroulement du projet, les moyens mis en oeuvre et les personnels impliqués restent inchangés, mais qu'il convient toutefois de prolonger le projet de 24 mois pour permettre la réalisation optimale des travaux de recherche,

Considérant l'ajustement de l'assiette éligible du programme rendu nécessaire par les modifications du programme de l'INSERM U866 et la nouvelle répartition financière entre les différents partenaires du projet,

Il est proposé de passer un avenant à la convention d'application passée le 28 janvier 2010 avec l'Université de Bourgogne (UMR 866 INSERM), afin de prendre en compte les modifications ci-dessus exposées.

CECI EXPOSÉ, IL A ÉTÉ CONVENU CE QUI SUIT :

Article 1 :

Le premier alinéa de l'article 2 « Délais » est complété comme suit :
Le délai initial de réalisation du programme de R&D est prolongé de 24 mois.

Article 2 :

Le troisième alinéa de l'article 4 "Engagements des pouvoirs publics" est complété comme suit :
L'annexe I "Engagement des pouvoirs publics" au titre du programme "SYMPPA" est annexé au présent avenant.

Article 3 :

L'article 5 "Régime de la subvention" se décline désormais comme suit :
Pour la réalisation de ce projet, une subvention d'un montant de 102.323 Euros est attribuée par la collectivité au titulaire sur la base suivante :

<i>Montant total des dépenses du titulaire au titre du projet</i>	<i>398.798 € TTC</i>
<i>Montant total de l'assiette retenue</i>	<i>398.798 €</i>
<i>Taux d'aide global</i>	<i>100 %</i>
<i>Taux d'aide apporté par le Grand Dijon</i>	<i>25,66 %</i>

Article 4 :

L'article 7 "Pièces contractuelles" est complété comme suit :

Les annexes technique et financière ci-jointes, se substituent aux documents joints à la convention d'application initiale.

Article 5 :

Les autres dispositions de la convention d'application signée le 28 janvier 2010 demeurent valables et inchangées.

Fait à Dijon, le
En 2 exemplaires originaux.

Le Président de la Communauté
d'Agglomération dijonnaise,

La Présidente
de l'Université de Bourgogne,

François REBSAMEN

Sophie BÉJEAN



PROJET SYMPPA : *Syndrome Métabolique PolyPhénols Activité*

Projet de R & D collaboratif

Pôle de compétitivité Vitagora®

Annexe technique du projet

Avril 2011 à Octobre 2013.

**Patrick Falconnier
et Patricia Ramos**

Michel Prost

Laurent Broquet



Philippe Besnard

Equipe 6

Bruno Vergès

Equipe 7

Laurent Lagrost

Equipe 8

Norbert Latruffe

Equipe 9



SOMMAIRE

1	PRESENTATION DU PROJET	3
2	CONTEXTE ET OBJECTIFS DU PROJET SYMPPA.....	4
3	DIFFERENCIATION ENTRE LES PROJETS EXICHOL ET SYMPPA	6
4	LE PLANNING DU PROJET SYMPPA.....	9
5	LE BUDGET ET LE FINANCEMENT DU PROJET SYMPPA.....	12
6	LES DELIVRABLES DU PROJET SYMPPA.....	14
7	DESCRIPTION DETAILLEE DU PROGRAMME D'INNOVATION	15
7.1	TH1 : DETERMINATION DES MECANISMES D'ACTION DES MICRONUTRIMENTS COMBINATOIRES XXS LORS DE L'ABSORPTION AU NIVEAU DE LA CAVITE BUCCALE ET DU SYSTEME GASTRO-INTESTINAL	15
	<i>Références du laboratoire</i>	22
7.2	TH2 : DÉTERMINATION DES MÉCANISMES D'ACTION D'UN SUPPLÉMENT NUTRITIONNEL A BASE DE POLYPHÉNOLS.....	23
7.3	TH3 : DETERMINATION DES MECANISMES D'ACTION DE MICRONUTRIMENTS COMBINATOIRES XXS AU NIVEAU DU METABOLISME CELLULAIRE MUSCULAIRE	27
7.4	TH4 : OPTIMISATION DE LA FORMULATION INITIALE DE LA XXS ET DEFINITION DE NOUVELLES COMBINAISONS D'ACTIFS.....	29
7.5	TH5 : TRANSPOSITION DES ACTIFS AU SEIN DES MATRICES PRODUITS ALIMENTAIRES POUR EVALUATION ET VALIDATION DE LEUR EFFICACITE	30

1 PRESENTATION DU PROJET

Le projet FUI-EXICHOL avait pour but la mise au point d'une nouvelle stratégie de prévention de l'Athérosclérose, du syndrome métabolique et du risque cardiovasculaire par la combinaison de faibles doses de divers actifs nutritionnels (acides gras polyinsaturés, vitamines, sels minéraux, antioxydants,...). L'hypothèse de travail était que cette approche combinatoire devait permettre d'obtenir au plan métabolique des effets synergiques supérieurs à ceux attendus d'une supplémentation monotypée en tel ou tel micronutriment. La force et l'originalité du projet EXICHOL était de s'adresser à l'ensemble des paramètres cliniques et biologiques de façon intégrée, combinant les approches de biochimie, de biologie moléculaire, de biologie cellulaire et de physiologie.

Conformément aux plans initiaux, le Laboratoire UMR866 s'est attaché dans un premier temps à mettre au point les modèles et conditions expérimentales optimales nécessaires à l'étude des conséquences des modifications qualitatives des apports nutritionnels sur le métabolisme cellulaire, la prise de poids, les paramètres lipidiques et glucidiques et le comportement alimentaire dans des modèles murins normaux et hyperlipidiques. La poursuite des travaux prévoyait ensuite d'étudier les mécanismes moléculaires sous-jacents, d'identifier les causes des dysfonctionnements métaboliques observés et de rechercher par quelle manipulation du régime alimentaire il serait possible de normaliser les principaux paramètres biologiques.

En bref, les données d'ores et déjà obtenues *in vivo* dans le cadre du projet EXICHOL ont permis de définir que l'utilisation d'un régime hypercalorique riche en graisses et en sucre (régime High Fat/High Sucrose-HFHS) conduit :

- 1) à une élévation de la prise alimentaire exprimée en kcal/jour
- 2) au développement rapide d'un syndrome métabolique chez près de 70% des souris de la souche C57Bl6. Après 6 mois de régime HFHS, les souris présentent une élévation de l'ordre de 50% du poids corporel, de 30% de la glycémie à jeun et de 100% de la cholestérolémie.
- 3) à une diminution du taux de survie des animaux dont la mort peut survenir dès le 200^{ème} jour de régime HFHS alors qu'aucune mortalité ne survient normalement chez les animaux après 300 jours de régime standard
- 4) à une élévation du nombre de lymphocytes et du syndrome inflammatoire
- 5) à une augmentation du pourcentage de masse grasse au dépens de la masse maigre
- 6) à une élévation de la masse du tissu adipeux épидidymaire
- 7) à une élévation de la masse du foie et à l'apparition d'une stéatose
- 8) à une diminution de la préférence spontanée pour l'acide oléique.

Au moment où intervient la défection du partenaire EXICHOL France, fournisseur de l'actif nutritionnel Lipistase, le Laboratoire UMR866 souhaite vivement poursuivre l'étude dont les premiers résultats indiquent que les développements déjà réalisés sont à même de démontrer l'intérêt d'une approche nutritionnelle combinatoire. Dans ce contexte, le laboratoire UMR866 a d'ores et déjà identifié un nouveau partenaire industriel qui partage les mêmes intérêts et objectifs que le Laboratoire UMR866 : Il s'agit de la société Lara-Spiral qui, convaincu de longue date par une approche nutritionnelle combinatoire, a développé l'actif XXS. Cette évolution du partenariat rétablira un contexte favorable à

la poursuite du programme initié et permettra ainsi de développer un actif qui peut être aisément substitué à l'actif Lipistase d'EXICHOL France et, en particulier, d'en déterminer le(s) mécanisme(s) d'action. Dans ce contexte, les objectifs visés, le déroulement du projet, les moyens mis en œuvre et les personnels impliqués s'inscrivent dans la continuité du projet EXICHOL initial. Seuls un délai supplémentaire (avec une prolongation de 24 mois du projet), le changement de fournisseur d'actif (en remplacement d'EXICHOL France), le changement d'acronyme pour le projet (SYMPPA en remplacement d'EXICHOL) et une reventilation des crédits sont requis.

Senoble est intéressé par l'étude de l'effet de l'actif XXS sur le syndrome métabolique, en substitution de la Lipistase, au même titre que les Salins du Midi, pour la mise sur le marché éventuelle d'une gamme de produits enrichis en fonction des résultats obtenus. En effet le XXS, étudié dans le projet Vitalim'senior pour ses effets sur la prise de poids chez le senior, a déjà montré des résultats prometteurs au stade animal. L'approfondissement des recherches sur la caractérisation de ses effets, et notamment l'explicitation de ses mécanismes d'action, pourront être mis à profit pour soutenir les dossiers scientifiques de demandes d'allégations auprès de l'autorité de santé européenne l'EFSA, pour les deux axes santé considérés, la prise de poids des séniors d'une part et le syndrome métabolique d'autre part. De plus, les essais conduits dans le projet Vitalim'senior sur les yaourts brassés aux fruits ont abouti à des résultats satisfaisants en terme de qualité produit, ce qui permet d'envisager d'étudier dans le projet SYMPPA son application à notre catégorie de desserts.

Senoble pourra assurer, en concertation avec Lara Spiral, la coordination du projet.

2 CONTEXTE ET OBJECTIFS DU PROJET SYMPPA

Le projet SYMPPA a pour objectif le **développement de nouveaux actifs purement nutritionnels favorisant la restauration du métabolisme des lipides et des glucides destinés à lutter contre le syndrome métabolique**

Loin devant le cancer, **les maladies cardiovasculaires sont à l'origine de 17 millions de décès chaque année. En France, il s'agit de la première cause de mortalité avec 180 000 décès par an.** Depuis les années 1990, les efforts de prévention et les innovations thérapeutiques semblent marquer le pas en matière de traitement. Au-delà des facteurs aggravants bien connus, **le syndrome métabolique ou syndrome X** joue un rôle majeur dans la détection et la prévention du risque cardiovasculaire en révolutionnant la définition des patients à risque et la prise en charge des maladies.

La définition clinique du syndrome métabolique repose sur cinq paramètres, mais la présence de trois suffit à porter le diagnostic :

- Tour de taille > 102 cm chez les hommes et > 88 cm chez les femmes
- Cholestérol HDL (bon cholestérol) < 40 mg/dl chez les hommes et < 50 mg/dl chez les femmes
- Triglycérides > 150 mg/dl (1,7 mmol/L)
- Glycémie à jeun > 1 g/dl
- Tension artérielle > 130-85 mm Hg

La somme des perturbations non pathologiques va constituer le facteur de risque. Ainsi, au lieu de diagnostiquer et de prendre en charge les facteurs isolément (obésité, diabète, hypertension, dyslipidémies), **le syndrome métabolique permet d'intervenir en amont en privilégiant une approche transversale et multidisciplinaire de type préventif et non curatif.**

Des traitements sont proposés sur le marché pour diminuer la concentration de Cholestérol LDL dans le sang, ou pour lutter contre l'élévation des triglycérides. La réponse actuelle au syndrome métabolique est **une réponse partielle apportée conjointement par l'industrie pharmaceutique et l'industrie agroalimentaire.** Deux pathologies sont aujourd'hui prioritairement concernées par les traitements conventionnels, l'hyperlipidémie (cholestérol, triglycérides) et le diabète de type 2.

Le projet SYMPPA vise à développer des traitements innovants d'origine alimentaire, permettant de favoriser la restauration du métabolisme des lipides et du métabolisme des glucides, dont les dysfonctionnements sont à l'origine de l'apparition du syndrome métabolique et de pathologies comme l'hypercholestérolémie et le diabète.

La problématique traitée par le projet SYMPPA est **la mise au point, le développement et l'industrialisation d'une nouvelle génération d'actifs pour proposer une micro-nutrition précise et adaptée au syndrome métabolique.**

Ainsi le projet SYMPPA entend :

- **Développer des actifs entièrement alimentaires, associant nutrition et traitement du risque cardiovasculaire**
- **Positionner les actifs dans le domaine préventif (réponse à une prépathologie par une meilleure alimentation), et non pas curatif (traitement médicamenteux)**
- **Développer des actifs innovants de 2^{ème} génération, plus performants, et à un coût adaptable** permettant de viser les marchés occidentaux mais également les pays en voies de développement
- **Développer des actifs adoptant une approche globale du syndrome métabolique par la connaissance des mécanismes d'action visant la restauration des métabolismes lipidiques et glucidiques**
- **Proposer des solutions sous forme d'aliments fonctionnels porteurs d'allégations nutrition-santé, avec une approche nutrition venant compléter l'approche médicament, et non se situer en alternative : nouveaux champs d'actions à terme pour le secteur pharmaceutique.**

Le projet SYMPPA est structuré en 5 lots de travail détaillés par la suite dans le programme d'innovation.

3 DIFFERENCIATION ENTRE LES PROJETS EXICHOL ET SYMPPA

- Tout d'abord, en TH1, il n'y a plus de collaboration avec le Centre Intégratif de Génomique de Lausanne pour l'évaluation génomique de l'impact du microaliment sur la paroi intestinale (modération, stimulation, sélection de la prise d'aliments) et la définition des mécanismes d'action de l'actif sur la cavité buccale et l'intestin (en s'appuyant sur les profils d'expression déterminés à l'aide de puces à ADN).
- L'ex TH1.2 (Evaluation chez la souris de l'impact de la Lipistase ou du mix sur l'expression des lipido-récepteurs linguaux et sur la phase céphalique de la digestion induite par les lipides alimentaires) et l'ex TH1.4 (Impact chez la souris de la Lipistase ou du mix sur la biologie de l'intestin grêle) seront adaptés pour l'étude du nouvel actif. Compte-tenu de l'expérience acquise au cours de ce projet il sera réalisé, pour ce nouvel actif, la tâche « Impact chez la souris du XXS ou du mix sur la biologie de l'intestin grêle » (actuelle TH1.3) avant la tâche « Evaluation chez la souris de l'impact du XXS sur l'absorption, le devenir entérocytaire, la sécrétion des lipides alimentaires » (actuelle TH1.4).
- Le TH2.1 s'attachera notamment à préciser les effets de l'actif XXS simultanément sur les paramètres lipidiques, le statut oxydatif et les paramètres d'inflammation chez des souris recevant un régime standard ou hypercalorique.
- Le TH2.2 (maintenant intitulé 'Etude des effets de l'actif XXS sur le métabolisme hépatique') est maintenu mais sera recentré sur l'étude des effets de XXS sur le métabolisme hépatique, l'absence d'effets majeurs de XXS sur le profil lipoprotéique plasmatique ayant d'ores et déjà été documenté.
- Le TH 2.5 comprend l'évaluation de la stéatose hépatique et la mesure de l'expression des gènes de la lipogenèse (SREBP1c, FAS, SCD), du métabolisme des lipoprotéines (MTP, PLTP, LDLr, VLDLr, LRP1), de la lipolyse (CPT1 α , AOX), de la synthèse de cholestérol (HMG-R, SREBP2) et de la synthèse des acides biliaires (CYP7A1, CYP27A1, CYP8B1)
- En TH3, l'analyse génomique (profils d'expression génique) se concentrera à nouveau sur les cellules musculaires humaines en culture. Cette approche bénéficiera d'une comparaison avec les profils obtenus sur biopsies musculaires de souris.
- Le TH4 (Optimisation de la formulation initiale de la Lipistase et définition de nouvelles combinaisons d'actifs) concernait l'optimisation de l'actif et le développement de nouveaux actifs combinatoires. Ce travail a déjà été réalisé dans le cadre du nouvel actif.

- Au sein du TH5, Exichol devait intervenir comme conseiller technique dans les activités de développement des industriels et les études cliniques conduites par l'Equipe 7 (Bruno Vergès). Spiral remplira la même fonction pour XXS.
- Ce qui a été rajouté par l'arrivée de Spiral et le remplacement de la lipistase par le XXS:
 - L'effet antioxydant (diminution du stress oxydatif + augmentation des défenses) du nouvel actif a été mis en évidence dans le cadre d'une autre étude. L'étude de son effet bénéfique dans le cadre du syndrome métabolique est donc pertinente.
 - De nouveaux tests associés au syndrome métabolique (en particulier du fait d'une forte implication des radicaux libres et du stress oxydatif dans la genèse et les complications des troubles caractéristiques du syndrome métabolique) ont été inclus: tests KRL, RESEDA, MDA, GSH/GSSG, profil LDL/HDL sur SpiraGel ...
- Dans le projet initial Exichol, Senoble intervenait au TH4 et au TH5.

Pour la partie Senoble du TH4 (TH4.3), c'est-à-dire l'étude de l'influence des ferments technologiques et de probiotiques sur la qualité des produits et la présence des actifs, les travaux avec les ferments du yaourt ont été menés dans le cadre de Vitalim'senior. L'activité antioxydante du XXS *in vitro* n'étant pas modifiée par la fermentation lactique, l'étude de l'interaction avec des probiotiques ne présente pas d'intérêt puisque ceux-ci ont un pouvoir fermentaire très faible voire nul dans les conditions de mise en œuvre considérées. Senoble n'interviendra donc pas au TH4.

Dans le TH5 du projet Exichol, il était prévu de tester 5 matrices : 2 produits laitiers fermentés, 1 base fruitée (TH5.1), 2 desserts (TH5.2). Pour le TH5.1, depuis le début du projet en novembre 2008 jusqu'à décembre 2010, Senoble a réalisé les travaux laboratoire, pilote et industriels qui ont abouti à l'incorporation de l'actif Exichol dans une gamme de yaourts à boire. Pour ce faire Senoble a investi un peu plus de 60% du temps total imparti pour le projet. Cependant, dans le cadre du projet Vitalim'senior, l'incorporation de XXS en yaourts fermes et brassés aux fruits a été investiguée, ce qui couvre l'essentiel de l'objectif du TH5.1. Nous proposons donc, dans le temps restant pour le projet SYMPPA, de centrer nos travaux sur l'application de XXS dans un produit de notre gamme desserts (TH5.2), plus particulièrement les crèmes desserts allégées plutôt que les crèmes et flans aux œufs initialement envisagés dans le projet Exichol. En effet, l'application en crème dessert nous paraît à l'heure actuelle plus opportune compte-tenu de sa plus large distribution au niveau des consommateurs : la part de marché des crèmes desserts est de l'ordre de 43%, alors que celle des crèmes aux œufs et flans de l'ordre de 9% (panel SECODIP).

Pour cette nouvelle gamme de crèmes desserts, en considérant qu'une allégation de santé puisse être obtenue auprès de l'EFSA, le CA envisagé serait de l'ordre de 8-10 M € / an pour un volume à terme de 5000T/an.

Concernant les allégations de santé, il faut rappeler qu'à l'origine du projet Exichol, les TH5.1 et 5.2 comprenaient des études nutritionnelles sur les produits Senoble, sous-traitées par Bioresearch pour un budget de 30 000 €. Ultérieurement dans le cours du projet, Senoble et Exichol avaient redéfini les études humaines, sur des bases conformes aux exigences de l'EFSA (étude en double aveugle randomisée, contre placebo). Le budget nécessaire pour ce type d'étude humaine dépassant largement l'enveloppe prévue, et de plus le montant prévu pour les analyses des actifs dans les produits laitiers étant jugé sous-estimé, les parties avaient privilégié la réaffectation des 30 000€ en analyses. Senoble avait demandé dans ce but une modification de son annexe financière en 2010. Cette modification avait été acceptée par les co-financeurs (Etat, Conseil Général de

l'Yonne) par avenant à la convention initiale, étant entendu que Senoble et Exichol faisaient leur affaire du budget de l'étude humaine.

En conséquence, pour le projet SYMPPA, il n'est pas prévu d'étude clinique sur le syndrome métabolique avec les produits laitiers contenant l'actif, mais seulement avec l'actif pris isolément sous forme de complément alimentaire (études cliniques menées par l'équipe 7 TH5.4). Quant à l'étude clinique prévue dans Vitalim'senior avec les yaourts enrichis en XXS, elle portera sur des volontaires seniors non sujets au syndrome métabolique.

Selon les informations actuellement disponibles émanant de l'EFSA, il est probable que pour pouvoir alléguer avec un actif contenu dans une matrice alimentaire, il soit nécessaire de démontrer à l'échelle de l'étude clinique sur la population cible que la fonctionnalité de l'actif n'est pas altérée du fait de son intégration dans la matrice considérée. Dans ce but, une nouvelle étude clinique serait alors éventuellement à envisager à la fin du projet SYMPPA, dans le cadre du syndrome métabolique, avec les produits laitiers Senoble enrichis en XXS, à la lumière des actualités de l'EFSA. Ce sujet sera discuté en fonction des résultats obtenus lors des études cliniques réalisées par l'INSERM Equipe 7 et conditionnera le timing des mises sur le marché des produits laitiers enrichis en actifs.

Extension de la durée du contrat et reventilation du budget restant

Conformément à ce qui a été annoncé dans la partie 1 pour le déroulement du projet, les moyens mis en œuvre et les personnels impliqués restent inchangés par rapport au projet EXICHOL initial. **Seuls une prolongation de 24 mois du projet et une reventilation des crédits prévus sont demandés.**

- **Pour l'équipe INSERM de Ph. Besnard (Equipe 6)**

La thèse conduite dans cette équipe a commencé le 1^{er} octobre 2009 et était prévue sur une durée de 3 ans jusqu'au 1^{er} décembre 2012. La première année de thèse a été centrée sur la Lipistase.

La poursuite du projet nécessiterait un nouveau démarrage de la thèse sur l'actif XXS en 2011. Le programme de recherche sur le nouvel actif restant conforme à ce qui avait été initialement prévu, les travaux de thèse devraient se dérouler sur 3 ans jusqu'au 30/09/2013.

Pour ce faire, il est souhaité :

- 1) La prolongation du projet jusqu'au 30 /09/2013.
- 2) **La réaffectation de 95926€^A à l'équipe Inserm 6** issus des fonds restants initialement fléchés à l'entreprise Exichol, couvrant le contrat de Marjorie Buttet et les frais de fonctionnement.

- **Pour l'équipe INSERM de B.Vergès (Equipe 7)**

Cette équipe ne fait pas l'objet de reventilation de crédits compte-tenu du fait que celle-ci intervenait à la fin du programme, et qu'elle n'a pour le moment pas démarré les travaux.

- **Pour l'équipe INSERM de L.Lagrost (Equipe 8)**

Au sein de l'équipe Inserm-L Lagrost, le projet FUI EXICHOL a démarré le 1er juillet 2009, date de recrutement de l'ingénieur d'étude. Les études avaient été planifiées sur 3 ans et prévoyaient dans une première phase la mise au point des modèles, de l'actif, et des protocoles expérimentaux.

Les approches méthodologiques mises en œuvre restent parfaitement valables et applicables dans le cadre de la poursuite du projet. Néanmoins, et en raison du changement d'actif, une prolongation et un complément de l'assiette financière seraient nécessaires. En effet, le protocole de supplémentation des animaux doit être repris depuis sa phase initiale, nécessitant :

- 1) de prolonger d'une part le protocole expérimental et d'autre part le contrat de l'ingénieur d'étude jusqu'au 30 juin 2013.
- 2) **La réaffectation de 54000€^B à l'équipe Inserm 8** issus des fonds restants initialement fléchés à l'entreprise Exichol, couvrant le contrat de Jérôme Labbé et les frais de fonctionnement.

A, B, C : cf tableau présentant le budget

- **Pour l'équipe INSERM de N. Latruffe (Equipe 9)**

Le programme Exichol a démarré dans l'équipe le 1^{er} novembre 2008. De ce fait, les moyens alloués initialement s'arrêtent dans moins de 6 mois (31 octobre 2011). Ils entraîneront la fin de deux contrats de travail (un thésard et un ingénieur) ainsi que le blocage des crédits de fonctionnement restant.

L'extension du projet sur une durée de 12 mois serait donc nécessaire (1^{er} novembre 2011-31 octobre 2012) pour poursuivre les travaux sur XXS et entraîne :

- 1) L'utilisation des crédits de fonctionnement restant jusqu'au 1^{er} janvier 2012.
- 2) La réaffectation de 86400 €^c à l'équipe Inserm 9 issus des fonds restants initialement fléchés à l'entreprise Exichol, couvrant les contrats de :
 - Jacques Kaminski, doctorant. A noter que ce financement faisait l'objet d'un Contrat avec la Région en parallèle du programme FUI Exichol, financé à 60% par la Région Bourgogne, et à 40% via les subventions attribuées à l'INSERM dans le cadre du FUI, suite à l'accord de la Région Bourgogne.
 - Allan Lançon, Ingénieur de recherche.

Si le projet n'était pas rallongé, l'ensemble des expérimentations ne pourraient pas être menées à leur terme et le projet se verrait amputé de sa phase la plus productive, à savoir l'obtention et le traitement des données biologiques (notamment sur animaux génétiquement modifiés et sur animaux présentant un syndrome métabolique à l'issue d'une phase initiale de pré-conditionnement). En outre, la plupart des approches mécanistiques rendant compte de l'effet de l'actif sur la prise de poids et les paramètres biologiques (notamment régulation de la prise alimentaire chez l'animal ; études biochimiques et transcriptionnelles des métabolismes hépatiques et musculaires chez l'animal) ne pourraient pas être menées à leur terme. Ces données mécanistiques se révéleront très précieuses au moment de la soumission du dossier de demande d'autorisation pour la supplémentation en alimentation humaine. Enfin, l'étude clinique chez des patients dyslipidémiques requiert une prolongation et constituera l'étape finale et décisive pour la transposition des résultats expérimentaux à l'Homme, ce qui ouvrira la voie à une supplémentation nutritionnelle efficace.

A noter enfin que l'ensemble des équipes impliquées travaillent de façon concertée et en étroite collaboration, notamment à travers des échanges permanents d'échantillons biologiques et de données expérimentales. L'arrêt du soutien à un partenaire se révélerait donc préjudiciable à la poursuite de l'ensemble du programme.

5 LE BUDGET ET LE FINANCEMENT DU PROJET SYMPA

Rappel : Budget du projet EXICHOL

Budget Projet EXICHOL	Décomposition Subventions correspondantes au taux d'aide				Décomposition Subventions perçues						Décomposition Subventions n'ayant pas été versées															
	Assiette	Taux d'aide	Subventions correspondantes au taux d'aide	Etat	Feder	CRB	CG21	CG 89	Grand Dijon	Depenses effectives	Subventions perçues	Etat	Feder	CRB	CG21	CG 89	Grand Dijon	Assiette restant	Etat	Feder	CRB	CG21	CG 89	Grand Dijon	Subventions n'ayant pas été versées	
EXICHOL	2 484 360	45%	1118234,7	493 346		469 000	156 089			868 216	532 713	320 272		163 830	48611,6			1 616 750	172 874		304 170	107 477				585 521
INSERM U86 Equipe 6 (P.Besnard)	354 752	100%	354 752	354 752						168 755	106 425	106 425						185 997	248 327							248 327
INSERM U86 Equipe 7 (B.Verges)	398 798	100%	398 798	242 711					156 089		72 813	72 813						398 798	169 898					156 089		325 985
INSERM U86 Equipe 8 (L.Laigros)	290 003	100%	290 003		290 003					112 380	0	0						290 003	177 623							290 003
INSERM U86 Equipe 9 (N.Lauffe)	278 158	100%	278 158	50 978	278 158					186 732	0	0						278 158	278 158							278 158
SENOBLE	690 223	30%	207 066,9	50 978			156 089			3 38 591	101 577	25 022			76555			351 632	25 956				79 534			106 099
SALINS DU MIDI	102 627	30%	30 788,1	30 788,1						92 36,4	92 36,4							102 627	21 552							21 552
	4 589 527		2677840,7	1172375	568161	469000	156089	156089	156689	1 674 574	822 765	533 768	0	163 830	48 612	76 555	0	2 924 853	638 607	568 161	305 170	107 477	79 534	156 089		1 855 088

Subvention en attente

Budget global du programme SYMPPA, intégrant les dépenses et les subventions de la phase Exichol

NB : Le partenaire EXICHOL apparaît en tant que membre effectif de la première phase du programme

	Dépenses effectuées (phase 1 Exichol 15/11/08 au 31/03/10) (statutaires inclus)	Montant total du programme SYMPPA (phase 2 Sympa du 01/04/10 au 31/03/11) (statutaires inclus)	Assiette éligible du programme SYMPPA :	Subvention totale demandée	Sub perçues Au 31/03/10	Etat	Feder	Région Bourgogne	Département Côte d'Or	Département l'Yonne	Grand Dijon	Total	Taux d'aide
EXICHOL*	868 216	0	868 216	482 714	390 697	178 255		163 830	48 612			390 697	45 %
LARA SPIRAL	0	320 655	320 655	144 295	0			144 295				144 295	45%
INSERM U866 Equipe 6	168 755	281 923	450 678	450 678	106 425	450 678***						450 678	100%
INSERM U866 Equipe 7	0	398 798	398 798	398 798	72 813	242 709			53 766		102 323	398 798	100%
INSERM U866 Equipe 8	112 380	231 623	344 003	344 003	0	54 000***	290 003					344 003	100%
INSERM U866 Equipe 9	186 732	177 826	364 558	364 558	0	86 400***	278 158					364 558	100%
SENOBLE	338 591	351 632	690 223	207 067	101 577	50 978		53 621		102 468		207 067	30%
SALINS DU MIDI	0	102 627	102 627	30 788	9 236	30 788						30 788	30%
Total	1 674 674	1 865 084	3 539 758	2 422 901	1 093 808	568 161	361 746	102 378	102 468	102 323	16,6%	2 330 884	16,6%

Clé de répartition appliquée pour les subventions des CT

NB :

** report de 144 295€ de subvention Exichol sur Lara Spiral

*** report de 236 326€ de subvention Exichol sur les équipes INSERM 6,8 et 9

6 LES DELIVRABLES DU PROJET SYMPA

TH	Tâches	Durée des tâches (mois)	Nature des délivrables	Dates de livraison réelle des délivrables intermédiaires et finaux + date des jalons ne correspondant pas forcément à un délivrable (Go/NoGo)	Partenaires	
					Leader du délivrable	Partenaires impliqués
TH 1 : Détermination des mécanismes d'action des micronutriments combinatoires XXS lors de l'absorption au niveau de la cavité buccale et du système gastro-intestinal	TH1.1	T 35 à T 42	D1 : Impact du XXS sur l'apport et l'utilisation de l'énergie	T 42	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6, SPIRAL
	TH1.2	T 32 à T 38	D2 : Impact du XXS sur le profil générique des papilles gustatives	T 38	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6, SPIRAL
	TH1.2	T 42 à T56	D2 : Impact du XXS sur la préférence spontanée pour le gras et le sucré	T 56	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6, SPIRAL
	TH1.3	T 32 à T 38	D3 : Impact chez la souris de la XXS sur la biologie de l'intestin grêle	T 38	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6, SPIRAL
	TH1.4	T 37 à T 57	D4 : Impact chez la souris de la XXS sur l'absorption intestinale	T 57	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6, SPIRAL
	TH1.4	T 54 à T 60	D4 : Rapport de thèse et publications	T 60	SPIRAL	UMR U866 Equipe 6, SPIRAL
TH 2 : Détermination des mécanismes d'action des micronutriments combinatoires XXS en phase post-absorption au niveau du métabolisme lipidique de l'organisme	TH2.1	T33 à T39	D5 : Profils lipidiques plasmatiques	T35, T39	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.1	T33 à T39	D6 : Profils cytochrome plasmatique	T35, T39	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.1	T33 à T39	D7 : Rapport masse grasse / masse maigre	T35, T39	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.1	T33 à T39	D8 : Evaluation de la capacité globale de défenses antioxydante et du stress oxydant (KRL, RESEDA, Glutathion, MDA, profil lipoprotéines)	T35, T39	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.2	T33 à T40	D9 : Composition des lipides hépatiques	T35, T40	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.2	T33 à T40	D10 : Evaluation de la stéatose hépatique	T36, T40	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.2	T33 à T40	D11 : Composition en acides biliaires de la bile	T36, T40	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.3	T40 à T48	D12 : Courbes d'augmentation de la triglycéridémie sur une période de 4 heures après injection du Poloxamer	T43, T48	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.3	T40 à T48	D13 : Détermination du taux de production de VLDL hépatiques	T43, T48	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.4	T48 à T56	D14 : Profils lipidiques plasmatiques	T56	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.4	T48 à T56	D15 : Composition en cholestérol et acides biliaires de la bile et des fèces	T56	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH2.5	T33 à T41	D16 : Identification de « réseaux marqueurs » de la lipogenèse, de la lipolyse, de la synthèse d'acide biliaire et de la synthèse de cholestérol dans le foie	T56	SPIRAL	UMR U866 Equipe 8, SPIRAL
	TH 3 : Détermination des mécanismes d'action des micronutriments combinatoires XXS au niveau cellulaire et moléculaire	TH3.1	T30 à T48	D17 : Mécanisme d'action moléculaire de la XXS sur la cellule musculaire	T48	SPIRAL
TH3.1		T30 à T48	D18 : Validation (ou invalidation) de l'implication de la XXS sur la performance musculaire	T48	SPIRAL	UMR U866 Equipe 9, SPIRAL
TH3.2		T30 à T48	D19 : Identification de « réseaux géniques marqueurs » (signatures XXS dans les cellules musculaires humaines en culture	T48	SPIRAL	UMR U866 Equipe 9, SPIRAL
TH3.2		T36 à T48	D20 : Information permettant le développement d'une nouvelle génération de XXS stimulant les voies oxydatives dans les muscles squelettiques	T48	SPIRAL	UMR U866 Equipe 9, SPIRAL
TH3.2		T36 à T48	D21 : rapports, brevets, publications	T48	SPIRAL	UMR U866 Equipe 9, SPIRAL
TH 4 : Optimisation de la formulation initiale de la XXS et définition de nouvelles combinaisons d'actifs	TH réalisé au préalable					
TH 5 : Transposition des actifs au sein des matrices produits alimentaires pour évaluation et validation de leur efficacité	TH5.1	T39 à T60	D22 : nouvelle génération de crèmes desserts allégées enrichies en actif, avec maintien de la fonctionnalité de l'actif en conservation.	T44 T50 T56 T60	SENOBLE	SENOBLE
	TH5.2		D23 : Nouvelle génération de produits à base de sel à propriétés bénéfiques pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique	T44 T50 T56 T62	SALINS DU MIDI	SALINS DU MIDI
	TH5.3		D24 : Nouvelle génération de produits alimentaires à propriétés bénéfiques pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique	T62	INSERM U866	SPIRAL, UMR U866 Equipe 7, UMR U866 Equipe 8

7 DESCRIPTION DETAILEE DU PROGRAMME D'INNOVATION

7.1 TH1 : DETERMINATION DES MECANISMES D'ACTION DES MICRONUTRIMENTS COMBINATOIRES XXS LORS DE L'ABSORPTION AU NIVEAU DE LA CAVITE BUCCALE ET DU SYSTEME GASTRO-INTESTINAL

L'objectif du TH1

OBJECTIF : L'actif XXS protège-t-il du syndrome métabolique : Impact sur les apports et les utilisations énergétiques, la préférence spontanée pour les lipides et les sucres et les capacités d'absorption des lipides.

CONTEXTE : De plus en plus de données indiquent que la sphère oro-digestive participe à la mise en place du syndrome métabolique.

En ce qui concerne l'intestin, nos travaux récents ont montré que l'intestin est le premier organe qui répond à une augmentation de la teneur en lipides du régime chez la souris. En effet, un régime hyperlipidique conduit à l'augmentation de la prolifération intestinale et de l'expression des gènes clés impliqués dans le mécanisme d'absorption des acides gras et la formation des chylomicrons. Ces modifications ont pour conséquence d'augmenter les capacités d'absorption des lipides (Petit, Arnould *et al.* 2007). Ainsi, contrairement à ce qui est généralement admis, la forte capacité d'absorption des lipides alimentaires est la résultante d'une adaptation morphologique et génétique dépendant de la teneur en lipides du régime chez la souris. De plus, nous avons montré que ces modifications retentissent également sur la qualité des chylomicrons sécrétés (taille et nombre). Puisque l'efficacité de la clairance sanguine des chylomicrons est étroitement corrélée à ces paramètres (elle est d'autant plus efficace que la taille est grande et le nombre petit), le métabolisme lipidique intestinal a un impact non négligeable sur la cinétique de l'hypertriglycéridémie post-prandiale. Ces données émergentes, démontrant la plasticité lipides-dépendante de l'intestin grêle, supportent l'implication de l'intestin dans la mise en place des maladies liées à des surconsommations de lipides (Figure 1).

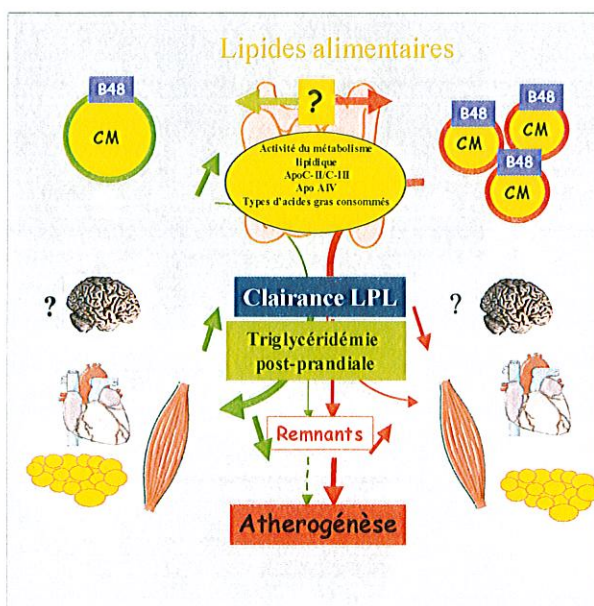


Figure 1: Rôle de l'intestin dans la régulation de la triglycéridémie postprandiale et l'apparition des maladies cardiovasculaires.

Le métabolisme lipidique, l'Apo AIV, le type d'acides gras, le rapport ApoCII/CIII affectent la taille et le nombre des chylomicrons sécrétés. La dégradation des chylomicrons est d'autant plus efficace que la taille des particules est grande et que le

Au niveau oral, les données récentes du Laboratoire ont montré qu'il existe un système de détection des lipides alimentaires au niveau des papilles gustatives (Laugurette, Passilly-Degrace *et al.* 2005; El-Yassimi, Hichami *et al.* 2008; Gaillard, Laugurette *et al.* 2008) Au niveau lingual, la protéine CD36 semble être un lipidorécepteur gustatif ayant impact sur le comportement alimentaire (participation à la préférence pour les lipides) et les sécrétions digestives (participation à l'activation de la boucle céphalique de la digestion). Un tel système, favorisant la sélection et la digestion des aliments riches en lipides peut constituer un avantage évolutif contribuant à la survie des espèces en période de pénurie alimentaire. En revanche, il peut participer à la mise en place des pathologies de pléthores en période d'abondance permanente.

En bref, le système oro-digestif semble jouer un rôle important pour la santé *via* son implication dans la consommation, l'absorption et le devenir métabolique des lipides alimentaires au niveau de l'organisme.

C'est dans ce contexte que l'impact de l'actif XXS sera exploré sur le système oro-digestif.

PROTOCOLES

Le but de l'ensemble de notre projet est d'évaluer l'effet **PREVENTIF** de l'actif **XXS** chez des souris males (C57Bl6) soumises soit à un régime de laboratoire standard (3% de lipides m/m, traces de cholestérol), soit à un régime hyperlipidique déséquilibré riche en acides gras saturés et en cholestérol et riche en sucre (Western diet).

Travaux préliminaires.

Une première expérience dite « pilote » a été réalisée pour définir la cinétique d'apparition des différents critères du syndrome métabolique ainsi que des effets au niveau de la sphère oro-digestive. C'est pourquoi des lots d'animaux ont été sacrifiés à 3j, 3 semaines et 20 semaines de régimes. Les différentes mesures et analyses réalisées pendant la durée de ces régimes sont résumées ci-dessous...

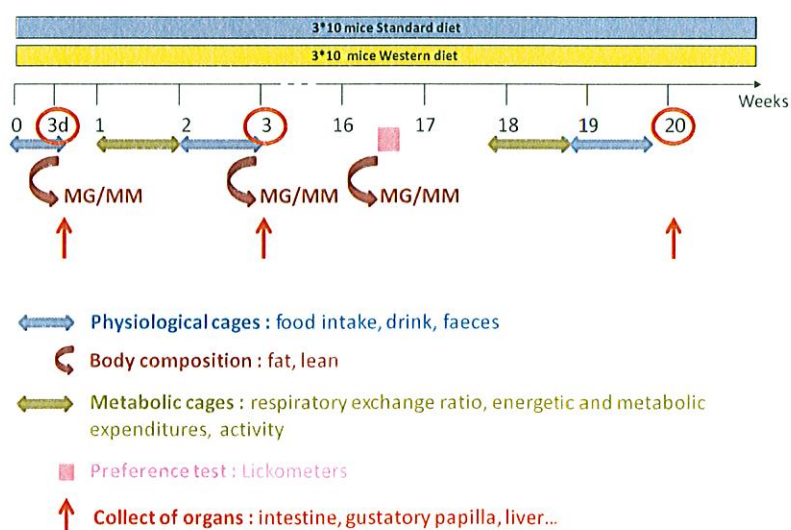


Figure 2 : Protocole du traitement « pilote ». Détermination chaque semaine de la triglycéridémie (10µl plasma), glycémie (10µl plasma), cholestérolémie (10µl plasma) et insulinémie (30 à 50 µl plasma).

Sacrifice à T= 3j, T= 3semaines et T8 semaines pour étudier les paramètres intestinaux observés comme étant modulés par la teneur en lipides du régime à ces temps (Petit et al 2007).

HFHS diet			
↗		↘	
Body composition	Body weight Body fat mass Liver mass Epididymis fat mass	Lean tissue mass	3 weeks
Energetic parameters	Food intake	Respiratory exchange ratio Metabolic expenditure	3 days 18 weeks
Plasma parameters	Cholesterolemia Insulinemia		3 days 3 weeks
Postprandial Parameters	Hypertriglyceridemia		20 weeks
Preference		Fat preference	16 weeks

Figure 3 : Synthèse des effets liés à un régime HFHS chez des souris mâles C57Bl6.

- La triglycémie postprandiale n'a été évaluée qu'à ces temps.
- Seule la dépense énergétique n'est modulée qu'à 18 semaines de régime pour n= 6 animaux
- Dans nos expériences 65% des animaux traités avec le « western diet » ont les caractéristiques principales retrouvées dans le syndrome métabolique.

Compte tenu des ces résultats préliminaires, nous proposons d'évaluer l'impact de l'actif XXS après au moins 3 semaines de régime soit 8 semaines.

L'étude sera réalisée sur 4 groupes de souris C57Bl6 comportant au minimum 30 souris par groupe :

- Standard
- Standard + XXS
- HFHS
- HFHS + XXS

Contribution des partenaires au TH1

- **INSERM U866 Equipe 6** (Prof. Besnard) : Equipe spécialisée dans la perception oro-sensorielle et l'absorption des lipides alimentaires. Expertise in vivo sur les modèles murins (souris de type sauvage ou génétiquement modifiées), ex vivo via la culture organo-typique d'explants intestinaux et in vitro sur culture primaire d'entérocytes et culture de lignées cellulaires permanentes de type entérocytaire (e.g. Caco-2) ou entéroendocrines (e.g. STC1). Equipe intervenant à chaque étape de l'étude TH1
- **Lara Spiral** : Formulation et fourniture de l'actif XXS

Descriptif des tâches du TH1

Partenaires impliqués	Lara Spiral	UMR U866 Equipe 6	UMR U866 Equipe 7	UMR U866 Equipe 8	UMR U866 Equipe 9	SENOBLE	SALINS DU MIDI	Durée du TH1
	X	X						29 mois

□ **TH 1.1 : Quel est l'impact de l'actif XXS sur l'apport et l'utilisation de l'énergie en situation de régime standard et western diet (30 souris/ groupe)**

- Objectif de la tâche : Existe-t-il un impact comportemental (prise alimentaire et choix alimentaire) de la XXS et/ou du mix chez la souris?

- Description du travail :

- ❖ Mesure de la prise alimentaire toute les semaines dans les cages conventionnelles ; tous les jours pendant le passage en cages physiologiques et de la masse corporelle (Figure 2)
- ❖ Détermination des dépenses énergétiques par calorimétrie indirecte. Pour ce faire les animaux seront placés 1 semaine dans des cages métaboliques (Figure 2) .
- ❖ L'évaluation de l'absorption globale des lipides sera déterminée par le Coefficient d'Utilisation Digestive (CUD = quantité absorbée/quantité ingérée) des lipides pendant le passage en cages physiologiques. Pour ce faire, la quantité des lipides fécaux sera déterminée chez les souris de chaque régime (au début et à la fin du régime, selon la méthode de Folch (Folch et al, 1957) à partir de 0.75 g de fèces.
- ❖ Evolution du rapport masse grasse/masse maigre par RMN quantitative (EchoMRI)
- ❖ Paramètres sanguins : glycémie, cholestérolémie, insulïnémie et taux d'acides gras libres circulants. Ces paramètres nous permettrons de suivre précisément la mise en place du syndrome métabolique chez la souris et l'effet de la XXS sur ces paramètres.
- ❖ Le sacrifice des animaux sera réalisé à 9h du matin à la lumière depuis 1h soit en situation post-prandiale (la nourriture ayant été retirée 4h avant). L'analyse de la masse du tissu adipeux péri-epididymaire et viscéral nous permettra d'évaluer la mise en place de l'obésité. De plus la mesure du taux de triglycérides hépatiques nous permettra de connaître l'évolution de la stéatose hépatique. L'analyse du rapport de la longueur de l'intestin sur sa masse nous permettra d'évaluer grossièrement l'impact du traitement sur la surface intestinale.

- Délivrables :

- **D1**: Impact du XXS sur l'apport et l'utilisation de l'énergie

- Partenaire impliqué : INSERM UMR866 Equipe 6

- Durée de la tâche : 7 mois (T35 à T42)

□ **TH 1.2 : Evaluation chez la souris de l'impact de la XXS sur l'expression des lipido-récepteurs linguaux et sur la phase céphalique de la digestion induite par les lipides alimentaires**

- Objectif de la tâche : le XXS affecte-t-il les mécanismes impliqués dans la perception orale des lipides alimentaires et du sucré en régime standard et en western diet ?

Description du travail :

a) *Le XXS modifie-t-il le profil génique des papilles gustatives ?*

L'impact des régimes avec ou sans l'actif XXS sera analysé sur le profil génique de l'épithélium lingual gustatif et non gustatif (témoin) en particulier CD36 et GPR120 sera étudié. Les papilles gustatives (fongiformes, foliées et caliciformes) ainsi que l'épithélium non gustatif les environnant seront prélevés par voie chirurgicale selon un protocole mis au point au laboratoire (Laugerette et al. 2005, J. Clin. Invest.). Cette étape sera réalisée par une analyse par qPCR des gènes d'intérêt mis en évidence.

b) *Le XXS modifie-t-il les préférences pour le sucré ou les lipides ?*

Cet aspect du programme sera réalisé au moyen de lickomètres qui permettent d'évaluer la préférence spontanée vis-à-vis d'une molécule en soumettant un animal (Rat ou souris) à un double choix. Cet appareil permet de mesurer le nombre de lapées que l'animal donne sur la tétine de deux biberons présents simultanément dans la cage. Le système utilisé est un lickomètre dit « à contact », c'est-à-dire que la lapée est enregistrée directement par le contact de la langue sur la tétine (Figure 17).

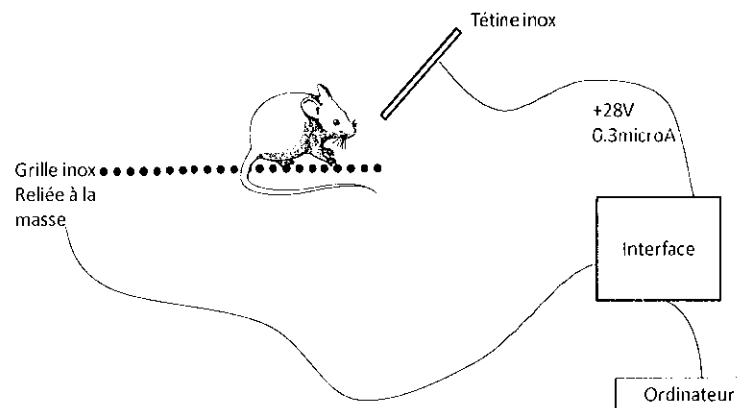


Figure 4 : L'appareil utilise la propriété du corps à conduire l'électricité. Lorsque la souris boit, il faut qu'elle soit au contact de la grille afin que le courant de 0.3 microA qui passe dans la tétine soit conduit jusqu'à la masse et que la lapée soit comptabilisée.

Au moins 12 souris seront utilisées par lot. Ce nombre permettra de sélectionner les animaux en fonction de l'importance de leur préférence avant le régime. L'ensemble du lot sera ensuite soumis aux différents régimes afin de savoir si la modification de préférence observée avec le régime HFHS (figure 3) évolue avec l'actif XXS.

- Délivrables :

- D2 : - impact du XXS sur le profil génique des papilles gustatives ; 6 mois (de 32 à 38) en même temps que l'intestin (D4)
- Impact du XXS sur la préférence aux lipides et au sucré 12 mois T42 à T56

- Partenaires impliqués : INSERM UMR866 Equipe 6

- Durée de la tâche : 24 mois de T32 à T38 puis de T42 à T56

□ **TH 1.3 Impact chez la souris du XXS ou du mix sur la biologie de l'intestin grêle**

a) Le XXS modifie-t-il le profil génique intestinal ?

Les gènes impliqués dans le mécanisme d'absorption des lipides et la formation des chylomicrons comme les Lipid-Binding Proteins FATP4, CD36, I-FABP, L-FABP, etc...), les enzymes de la ré-estérification (MGAT, DGAT), et les enzymes et protéines connues comme étant limitantes de l'absorption intestinales des lipides (MTP, SAR 1b, Phospholipase). Les transporteurs au cholestérol seront également mesurés NPC1L1, ABCG5/G8, ABCA1. Puis afin de savoir si l'actif et les régimes affectent également l'absorption des autres nutriments cette étude sera élargie à l'étude des transporteurs aux glucides SGLT1, GLUT 5 et GLUT et à ceux acides aminés PEPT-1. Puisque la teneur en Apo CII et APO CIII des chylomicrons conditionnent leur dégradation sanguine, le niveau de leur ARNm sera évalué. De plus le taux d'ARNm des cytokines (IL 6, IL8, TNF a) sera mesuré. Ce travail sera réalisé par une analyse par qPCR.

b) Le XXS modifie-il la prolifération cellulaire ?

Après sacrifice, l'intestin grêle sera prélevé pour tous les animaux, rincé avec du sérum physiologique (NaCl 0.9%). La masse relative de l'intestin correspond à la masse de l'intestin rapporté à la masse corporelle de la souris sera déterminée ainsi que le rapport masse/longueur. de l'intestin Ces deux derniers paramètres permettront d'évaluer l'impact de la micronutrition sur de la surface intestinale. L'étude de la prolifération intestinale sera ensuite plus précisément réalisée. L'index mitotique cryptique du jéjunum sera évalué par une approche immunohistochimique (Ki-67) déjà éprouvée avec succès par l'équipe (Petit et al., 2007).

Délivrables

D3 : Validation de l'activité de la XXS au niveau de la biologie intestinale

- Expression des gènes en même temps que D 2 du mois T 32 au mois T38
- Prolifération intestinale : KI 67

Durée de la tâche : 6 mois (du mois T32 au mois T38)

Partenaires impliqués :

INSERM UMR866 Equipe 6, Lara Spiral

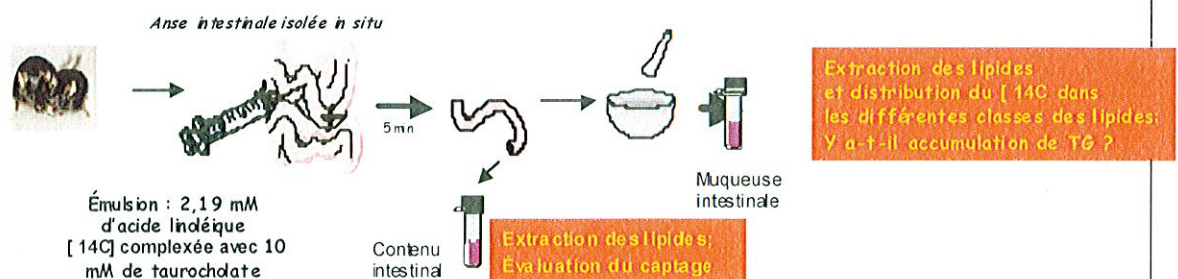
□ **TH1-4** Evaluation chez la souris de l'impact du XXS sur l'absorption, le devenir entérocytaire, la sécrétion des lipides alimentaires

Objectif de la tâche : Est-ce que le XXS affecte la biodisponibilité intestinale des lipides alimentaires (acides gras à longue chaîne et cholestérol) ?

• Description du travail :

a) **Le XXS modifie-t-il la capacité d'absorption des lipides alimentaires ?**

Si des modifications importantes sont observées sur l'expression des gènes intestinaux, la capacité de captage et le devenir métabolique des lipides au niveau intestinal sera étudié par la technique de l'anse intestinale isolée *in situ* qui présente l'avantage de maintenir fonctionnelles les voies sanguines, lymphatique et nerveuses conservant ainsi toute la dynamique de l'absorption (Petit, Arnould et al. 2007). Cette méthode est illustrée sur la Figure 4. Elle consiste à isoler un segment jéjunal de 10 cm entre deux ligatures et d'y infuser une émulsion lipidique contenant 2,19 mM d'acide linoléique (dont 10% de [1-¹⁴C] acide linoléique) émulsifié par de l'acide taurocholique à 10 mM. Cinq minutes après l'infusion, l'anse jéjunale isolée sera récupérée et les lipides contenus dans la lumière intestinale et dans la muqueuse seront extraits par la technique de Delsal (Delsal 1954). DE plus, il est possible de mesurer la radioactivité incorporée dans les différentes classes de lipides de la muqueuse (TG, DG, MG, AGL, PL) par chromatographie sur couche mince de gel de silice dans un mélange de solvant comprenant de l'hexane, de l'éther éthylique et de l'acide acétique glacial (v/v/v : 140/60/2) (Petit, Arnould et al. 2007).



b) **Le XXS modifie-t-il la triglycéridémie postprandiale ?**

La triglycéridémie post prandiale est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires c'est pourquoi elle sera mesurée chez les souris. Les souris à jeun depuis 16 heures seront gavées avec 0.5mL d'huile Isio 4 (™Lesieur) ayant été traitées ou non avec un inhibiteur de la lipoprotéine lipase (LPL). L'utilisation de l'inhibiteur de la dégradation sanguine des TG permettra de savoir si les modifications observées résultent de modification de la sécrétion intestinale ou de l'efficacité de l'épuration sanguine constitue une méthode indirecte pour évaluer la sécrétion intestinale (cinétique et quantité). Cette analyse sera poursuivie par l'isolement et la détermination de la quantité et de la qualité des chylomicrons (nombre, taille relative et composition en lipides) évaluée par Western blotting (Apo B48) et dosage des triglycérides, du cholestérol et phospholipides. Pour déterminer si la micronutrition peut affecter la

vitesse du transit entérocytaire des lipides alimentaires, la teneur en lipides de la muqueuse intestinale sera quantifiée par la méthode de (Delsal et al., 1944).

c) Le XXS modifie-t-il la sécrétion des hormones intestinales ?

Les hormones intestinales comme CCK, GIP, GLP-1 régulent à la fois les fonctions digestives et la prise alimentaire. C'est pourquoi ces hormones seront mesurées à l'aide de kits commerciaux.

• Délivrables :

- **D3** : Validation de l'activité de la XXS au niveau de l'absorption intestinale et sécrétions des lipoprotéines
Partenaires impliqués : INSERM UMR866 Equipe 6, Lara Spiral

- Durée de la tâche : 20 mois de T37 à T 57

Partenaires impliqués : INSERM UMR866 Equipe 6, Lara Spiral

Les livrables du TH1

- **D1** : Impact du XXS sur l'apport et l'utilisation de l'énergie (comportement alimentaire)
- **D2** : Validation de l'activité de la XXS au niveau de la cavité buccale
- **D3** : Validation de l'activité du XXS au niveau de la biologie de l'intestin
- **D4** : Validation de l'activité du XXS au niveau de l'absorption intestinale et sécrétions des lipoprotéines
- + rapport de thèse et publications (T56 à T60).

Références du laboratoire

- El-Yassimi, A., A. Hichami, et al. (2008). "Linoleic acid induces calcium signaling, SRC-kinase phosphorylation and neurotransmitters release in mouse CD36-positive gustatory cells." J Biol Chem.
- Gaillard, D., F. Laugerette, et al. (2008). "The gustatory pathway is involved in CD36-mediated orosensory perception of long-chain fatty acids in the mouse." Faseb J **22**(5): 1458-68.
- Laugerette, F., P. Passilly-Degrace, et al. (2005). "CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions." J Clin Invest **115**(11): 3177-84.
- Petit, V., L. Arnould, et al. (2007). "Chronic high-fat diet affects intestinal fat absorption and postprandial triglyceride levels in the mouse." J Lipid Res **48**(2): 278-87.

7.2 TH2 : DÉTERMINATION DES MÉCANISMES D'ACTION D'UN SUPPLÉMENT NUTRITIONNEL A BASE DE POLYPHÉNOLS.

L'objectif du TH2

L'objectif du TH2 est de **déterminer l'action de l'actif XXS au niveau du métabolisme lipidique de l'organisme, en phase post-absorption.**

Les sites visés appartiennent à l'ensemble du système des régulations systémiques (organe et circulation sanguine) et impliquent en priorité le foie.

Le TH2 visera également à caractériser les interactions entre certains gènes et les actifs développés par Lara Spiral pour traiter le syndrome métabolique.

Contribution des partenaires au TH2

- **INSERM U866 Equipe 8 (Dr. Lagrost)** : travaux de recherche sur les mécanismes d'actions sur le foie : caractériser les effets du XXS sur la lipogenèse, la biosynthèse hépatique du cholestérol, la production des lipoprotéines à apolipoprotéine B par le foie et l'élimination biliaire et fécale du cholestérol et de ses dérivés. Au-delà, un effet du XXS sur le métabolisme des lipides chez la souris présentant un profil lipidique humanisé (souris génétiquement modifiées exprimant la protéine plasmatique de transfert des esters de cholestérol (CETP)). La CETP est exprimée dans le plasma humain, mais est normalement absente du plasma murin. Enfin, une analyse transcriptomique sera conduite dans les différents groupes d'animaux afin d'identifier des gènes dont l'expression est modulée par le XXS (signatures XXS) dans le foie.
- **Lara Spiral** : Lara Spiral a mis au point l'actif XXS. Dans le cadre du présent projet l'effet de l'actif XXS sur la capacité globale de défenses antiradicalaires (Test KRL) et sur les réserves antiradicalaires (RESEDA) sera évalué. L'évaluation du niveau de stress oxydatif par le dosage des malondialdéhydes plasmatiques (MDA, marqueurs de l'oxydation des lipides) et la mesure du rapport glutathion réduit/glutathion oxydé hépatique (GSH/GSSG) permettront de mieux comprendre les mécanismes d'action du XXS. La détermination du profil des lipoprotéines (électrophorèse sur SpiraGel) permettra, quant à elle, de mettre en évidence une éventuelle diminution du risque cardiovasculaire associé à une oxydation des lipoprotéines LDL. L'ensemble de ces paramètres sera évalué ici pour la première fois dans des modèles murins humanisés, notamment chez la souris CETP transgénique chez qui le profil de distribution et le métabolisme des lipoprotéines plasmatiques est proche de celui de l'Homme (avec redistribution du cholestérol de la fraction HDL vers les fractions VLDL et LDL), alors que c'est le HDL cholestérol qui prédomine normalement chez la souris de type sauvage.

Descriptif des tâches du TH2

Partenaires impliqués	Lara Spiral	UMR U866 Equipe 6	UMR U866 Equipe 7	UMR U866 Equipe 8	UMR U866 Equipe 9	SENOBLE	SALINS DU MIDI	Durée du TH2
	X			X				24 mois

□ **TH 2.1 : Etude des effets du XXS sur la lipidémie, le statut oxydant et l'inflammation**

- Objectif de la tâche : Déterminer si le XXS a un effet hypolipémiant, anti-oxydant et anti-inflammatoire *in vivo*.
- Description du travail : Des souris 'type-sauvage' sur fond génétique C57Bl/6 recevront un régime standard ou hypercalorique, supplémenté ou non en XXS. Des prélèvements sanguins seront effectués à 0, 1.5 et 3 mois. La cholestérolémie et la triglycéridémie plasmatiques seront déterminées par dosages enzymatiques. Les taux de cytokines inflammatoires seront dosés dans le plasma par cytométrie en flux (plateau technique de cytométrie). La capacité globale de défenses antiradicalaires et les réserves antiradicalaires sont dosées par les tests biologiques dynamiques KRL et RESEDA (brevets Spiral-M.Prost). Les malondialdéhydes plasmatiques (MDA) sont dosés par réaction spécifique à l'acide thiobarbiturique et chromatographie liquide haute performance (HPLC). Le glutathion réduit et oxydé est dosé par HPLC. Le profil de la population de lipoprotéines plasmatiques est déterminé par électrophorèse verticale sur gel en gradient de polyacrylamide (SpiraGel Spiral). La proportion masse grasse / masse maigre sera déterminée aux temps 1.5 et 3 mois (plateau technique de phénotypage du petit animal).
- Délivrables :
 - **D5 à D8** : Composition en cholestérol, triglycérides et cytokines inflammatoires dans le plasma. Rapport masse grasse / masse maigre. Capacité globale de défenses antiradicalaires (Test KRL), réserves antiradicalaires (RESEDA), stress oxydatif (MDA plasmatique, GSH/GSSG) et biomarqueurs associés (profil des lipoprotéines).
- Partenaires impliqués : Lara Spiral, INSERM UMR866 Equipe 8
- Durée de la tâche : 7 mois

□ **TH 2.2 : Etude des effets du XXS sur le métabolisme hépatique.**

- Objectif de la tâche : Déterminer si le XXS peut influencer la composition des lipides hépatiques et peut protéger de la stéatose hépatique.
- Description du travail : Des souris 'type-sauvage' sur fond génétique C57Bl/6 recevront un régime standard ou hypercalorique, supplémenté ou non en XXS. Des prélèvements hépatiques et biliaires seront effectués à 0, 1.5 et 3 mois. Les lipides hépatiques seront dosés après extraction. La stéatose hépatique sera évaluée par marquage Oil Red O (plateau technique d'histologie). La composition en acides biliaires sera déterminée.
- Délivrables :
 - **D9** : Composition des lipides hépatiques
 - **D10** : Evaluation de la stéatose hépatique.
 - **D11** : Composition en acides biliaires de la bile.
- Partenaires impliqués : Lara spiral, INSERM UMR866 Equipe 8
- Durée de la tâche : 8 mois

□ **TH 2.3 : Etude de l'effet du XXS sur la production de VLDL par le foie**

- Objectif de la tâche : Déterminer si le XXS peut influencer la production de lipoprotéines de très faible densité (VLDL) par le foie
- Description du travail : Des souris 'type-sauvages' sous fond génétique C57Bl/6 recevront un régime standard ou hypercalorique, supplémenté ou non en XXS pendant 3 et 6 mois. Les animaux recevront une injection intrapéritonéale de Poloxamer P407 afin de bloquer la lipolyse des VLDL par la lipoprotéine lipase, et ainsi le catabolisme de ces lipoprotéines. L'accumulation de triglycérides et cholestérol dans le plasma sera suivi sur une période de 4 heures. Elle reflétera la production hépatique des lipoprotéines à apoB.
- Délivrables :
 - **D12**: Courbes d'augmentation de la triglycémie et cholestérolémie sur une période de 4 heures après injection du Poloxamer.
 - **D13**: Détermination du taux de production de VLDL hépatiques
- Partenaires impliqués : Lara Spiral, INSERM UMR866 Equipe 8
- Durée de la tâche : 9 mois

□ **TH 2.4 : Etude de l'effet du XXS et de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP) sur le métabolisme lipidique**

- Objectif de la tâche : Evaluer l'impact de l'expression de la protéine plasmatique de transfert des esters de cholestérol (CETP) sur les effets du XXS dans le modèle de souris de souris exprimant le gène humain de la CETP (souris HuCETPTg) disponible au laboratoire.
- Description du travail : Des génitrices CETP transgéniques hétérozygotes seront produites en nombre suffisant pour obtenir une population de 80 Mâles et Femelles de 'type-sauvage' et de 80 Mâles et Femelles CETP transgéniques hétérozygotes, homogènes en âge. Les souris devront être génotypées et phénotypées. Les souris mâles et femelles seront supplémentées ou non en XXS. Des prélèvements sanguins, hépatiques, biliaires et fécaux seront réalisés aux temps 0, 3, et 6 mois afin de doser le cholestérol et les triglycérides (par techniques enzymatiques) et de quantifier les acides biliaires (par analyses chromatographiques et spectrométriques). Le profil de distribution des lipoprotéines plasmatiques sera déterminé par FPLC (*Fast Protein Liquid Chromatography*) à chaque temps
- Délivrables :
 - **D 14** : Profils lipidiques plasmatiques à t=0, 3 et 6 mois.
 - **D 15** : Composition en cholestérol et acides biliaires de la bile et des fèces à t=0, 3 et 6 mois
- Partenaires impliqués : Lara Spiral, INSERM UMR866 Equipe 8
- Durée de la tâche : 9 mois

□ **TH 2.5 : Etude de l'effet du XXS sur le profil d'expression génique.**

- **Objectif de la tâche :** Etude génomique du métabolisme hépatique sous XXS.
- **Description du travail :** Après traitement (même traitement et même souches de souris pour l'ensemble des travaux TH 2) avec XXS, l'expression des gènes de la lipogenèse (SREBP1c, FAS, SCD), du métabolisme des lipoprotéines (MTP, PLTP, LDLr, VLDLr, LRP1), de la lipolyse (CPT1 α , AOX), de la synthèse d'acide biliaire (CYP7A1, CYP27A1, CYP8B1) et de la synthèse de cholestérol (HMG-R, SREBP2) seront déterminés dans le foie.
- **Délivrables :**
 - **D 16 :** Identification de « réseaux marqueurs » de la lipogenèse, de la lipolyse, de la synthèse d'acide biliaire et de la synthèse de cholestérol dans le foie.
- **Partenaires impliqués :** Lara Spiral, INSERM UMR866 Equipe 8
- **Durée de la tâche :** 9 mois

Les délivrables du TH2

- **D5 à D8 :** Composition en cholestérol, triglycérides et cytokines inflammatoires dans le plasma. Rapport masse grasse / masse maigre. Capacité globale de défenses antiradicalaires (Test KRL), réserves antiradicalaires (RESEDA), stress oxydatif (MDA plasmatique, GSH/GSSG) et biomarqueurs associés (profil des lipoprotéines).
- **D 9 :** Composition des lipides hépatiques
- **D10 :** Evaluation de la stéatose hépatique.
- **D 11 :** Composition en acides biliaires de la bile.
- **D12:** Courbes d'augmentation de la triglycéridémie et cholestérolémie sur une période de 4 heures après injection du Poloxamer.
- **D13:** Détermination du taux de production de VLDL hépatiques
- **D 14 :** Profils lipidiques plasmatiques à t=0, 3 et 6 mois.
- **D 15 :** Composition en cholestérol et acides biliaires de la bile et des fèces à t=0, 3 et 6 mois
- **D 16 :** Identification de « réseaux marqueurs » de la lipogenèse, de la lipolyse, de la synthèse d'acide biliaire et de la synthèse de cholestérol dans le foie.

7.3 TH3 : DETERMINATION DES MECANISMES D'ACTION DE MICRONUTRIMENTS COMBINATOIRES XXS AU NIVEAU DU METABOLISME CELLULAIRE MUSCULAIRE

L'objectif du TH3

L'objectif du TH3 est de déterminer l'action de l'actif « XXS » au niveau de la cellule et de son matériel génétique.

Le TH3 visera 1°) à caractériser les interactions entre certains gènes et les actifs contenus dans la préparation XXS

2°) Afin d'apprécier l'impact au niveau de la cellule de l'actif XXS, des études métaboliques fonctionnelles permettront d'évaluer : la captation du glucose et des acides gras par les cellules musculaires, l'effet sur le catabolisme mitochondrial et sur la biogenèse des mitochondries.

Contribution des partenaires au TH3

INSERM U866 Equipe (éq.9 Prof. Latruffe) : travaux de recherche au niveau de l'ADN (expression de gènes cibles) sur du tissu musculaire provenant de souris traitées dans l'équipe n° 8 du Dr L. Lagrost ; et au niveau cellulaire (biochimique). Etudes métaboliques fonctionnelles permettant d'évaluer l'effet de la préparation XXS (fournie par la Sté Lara Spiral) sur la captation du glucose et des acides gras par les cellules musculaires, sur le métabolisme énergétique mitochondrial et sur la biogenèse de cet organe.

Descriptif des tâches du TH3

Partenaires impliqués	LARA-SPIRAL	UMR U866 Equipe 8	UMR U866 Equipe 9						Durée du TH3
	X	X	X						20 mois

□ **TH 3.1 : Détermination de l'effet de la préparation XXS sur le profil d'expression génétique dans le muscle squelettique ou les cellules musculaires en culture, afin d'identifier les réseaux de gènes sous contrôle de la préparation XXS et ceux pouvant servir de marqueurs pour l'étude des nouvelles combinaisons d'actifs**

• **Objectif de la tâche :**

Préciser le mécanisme d'action pour mieux apprécier les possibilités en comparaison avec des préparations à activités effet similaires comme le resvératrol qui accentue la longévité et qui stimule le métabolisme énergétique (cf. Lagouge et coll, *Cell* 2006)

• **Description du travail :**

• Etudes mécanistiques des voies de régulation géniques et de signalisation cellulaires en utilisant les techniques de biologie moléculaire ; isolement d'ARNm à partir de tissus musculaire* ou de cellules musculaires en culture** ; RT-qPCR, western blotting.

• Etude de gènes cibles : *UCP3, MCAD, CPT1, Sirt1, PPARα, PGC1α, glut, fabp, MyoD*.

*Prélevé à partir de souris C57blK6 nourries avec un régime normal (SD) ou un régime riche en graisse/riche en sucre (HF-HS), avec des groupes contrôles et des groupes traités avec XXS (collaboration avec l'équipe 8 Dr L. Lagrost).

**cultures primaires de cellules myoblastiques de souris C2C12) différenciées en myocytes ou avec l'équivalent en cellules humaines SKMc traitées avec XXS et en comparaison avec le resvératrol (connu pour avoir une action anti-âge et de maintien de l'activité physique).

Délivrables :

D17, D18 (rapport, brevets, publications)

- Partenaires impliqués : Lara Spiral, équipes 8 et 9
- Durée de la tâche : 18 mois (T30 à T48)

□ **TH 3.2 : Etudes métabolique fonctionnelles sur cellules musculaires humaines en cultures ou issues de souris**

- Objectif de la tâche :
- Traduction des effets génomiques de la préparation XXS sénior en quantification fonctionnelle sur le métabolisme énergétique musculaire.
- Description du travail :

Effets de la préparation XXS sur des fonctions clé du métabolisme énergétique dans des cellules musculaires humaines en culture (ex. lignée SkM) ou issues de souris (C2C12) sur :

- la captation cellulaire du glucose et des acides gras à l'aide de précurseurs marqués non métabolisables ;
- le catabolisme mitochondrial (oxydation du pyruvate, bêta-oxydation des acides gras, transfert d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire, conversion de l'énergie électrochimique en énergie chimique sous forme d'ATP (ATP synthase) ou sa dissipation calorifique (UCPs) à l'aide de méthodes biochimiques ;
- le pool cellulaire des mitochondries sera étudié par cytométrie en flux et/ou microscopie de fluorescence ainsi que par l'évaluation du nombre de copies d'ADN mitochondrial par PCR

- Délivrables :
D19, D20, D21
- Partenaire impliqué : Plateaux techniques de l'IFR 100, équipes 8 et 9
- Durée de la tâche : 18 mois (T30 à T48)

Les livrables du TH3

- **D17** : Mécanisme d'action moléculaire de XXS sur la cellule musculaire
- **D18** : Validation (ou invalidation) de l'implication de XSS sur la performance musculaire
- **D19** : Identification de "réseaux géniques marqueurs" dans le domaine de l'alimentation thérapeutique
- **D20** : Eléments pour l'optimisation de la formulation de XXS
- **D21** : Rapport, publications

7.4 TH4 : OPTIMISATION DE LA FORMULATION INITIALE DE LA XXS ET DEFINITION DE NOUVELLES COMBINAISONS D'ACTIFS

Le TH4 (Optimisation de la formulation initiale de la Lipistase et définition de nouvelles combinaisons d'actifs) concernait l'optimisation de l'actif et le développement de nouveaux actifs combinatoires. Ce travail a déjà été réalisé dans le cadre du nouvel actif.

7.5 TH5 : TRANSPOSITION DES ACTIFS AU SEIN DES MATRICES PRODUITS ALIMENTAIRES POUR EVALUATION ET VALIDATION DE LEUR EFFICACITE

L'objectif du TH5

Le TH5 a pour objectif de développer des matrices alimentaires produits intégrant l'actif XXS et de l'évaluer chez des sujets hyperlipidémiques.

- Développement des matrices produits alimentaires intégrant XXS, susceptibles d'être bénéfique vis-à-vis du syndrome métabolique
- Selon les résultats des essais sur animaux, des profils type (signatures) d'expression génétique seront déterminés.
- Première évaluation et validation de l'efficacité de l'actif XXS en études humaines

Contribution des partenaires au TH5

- **SENOBLE** : pré-tests en matrice crème dessert. SENOBLE réalisera pour cela des essais pilotes et industriels, le développement d'arômes, l'évaluation sensorielle des essais pilote et des essais industriels, et l'analyse du maintien de l'efficacité des actifs dans les matrices produits en conservation (test KRL, ...).
- **SALINS DU MIDI** : les SALINS DU MIDI réaliseront l'intégration de XXS dans les matrices produits en travaillant l'homogénéité des mélanges. Les SALINS DU MIDI valideront également l'utilisation de l'actif en process semi-industriel et les conditions de stockage et de conservation des produits.
- **Lara SPIRAL** : Formulation et fourniture des actifs naturels XXS. Suivi de la capacité globale de défenses antiradicalaires des actifs dans les matrices alimentaires. Suivi de la capacité globale de défenses antiradicalaires (KRL), des réserves antiradicalaire (RESEDA) et des MDA plasmatiques chez les volontaires des pré-études cliniques.
- **INSERM U866 Equipe 7 (Pr. Vergès)** : L'INSERM réalisera les études suivantes : deux études actif versus placebos
- **INSERM U866, Equipe 8 (Dr. Lagrost)**

Descriptif des tâches du TH5

Partenaires impliqués	Lara SPIRAL	UMR U866 Equipe 6	UMR U866 Equipe 7	UMR U866 Equipe 8	UMR U866 Equipe 9	SENOBLE	SALINS DU MIDI	Durée du TH4
	X		X	X		X	X	24 mois

TH 5.1 : Pré-tests en matrice crème dessert allégée

- Objectif de la tâche : Développer au stade pilote et industriel une nouvelle gamme de crèmes desserts allégées enrichies en actif en garantissant la fonctionnalité pendant toute la durée de vie du produit.
- Description du travail :
 - Essais pilotes permettant de mettre au point les crèmes desserts allégées : étude de l'impact du procédé, en particulier le traitement thermique de stérilisation et de la formulation sur les propriétés organoleptiques des produits et sur l'efficacité antioxydante du XXS ; évaluations sensorielles
 - Développement des arômes avec fournisseurs
 - Analyses extérieures des essais pilote : dosage de la teneur en ingrédients actifs jusqu'à DLC, et mesure de la biodisponibilité-fonctionnalité de l'actif
 - Essais usine : validation du produit / procédé
 - Evaluation sensorielle des essais usine et test de mise au point finale des produits
 - Validation du maintien de l'efficacité des actifs dans les matrices produits : analyses des essais usine externalisés par dosage de la teneur en ingrédients actifs jusqu'à DLC, et mesure de la biodisponibilité-fonctionnalité des actifs (tests KRL...).
- Délivrables :
 - **D22**: nouvelle génération de crèmes desserts allégées enrichies en actif, avec maintien de la fonctionnalité de l'actif en conservation.
- Partenaires impliqués : SENOBLE, Lara Spiral
- Durée de la tâche : 22 mois (mois 39 à mois 60)

□ TH 5.2 : pré-tests de 2 matrices (sel pour l'alimentation humaine et animale)

- Objectif de la tâche : Développer au stade pilote et industriel une nouvelle gamme de produits à base de sel enrichis avec les actifs en préservant leur fonctionnalité pendant toute la durée de vie du produit
- Description du travail :
 - Intégration des actifs XXS dans les matrices sels sur des lots tests. Les supports utilisés seront un sel fin séché (alimentation humaine) et un bloc de sel (alimentation animale).
 - Développement laboratoire des mélanges par intégration d'un traceur permettant de vérifier que le produit est bien réparti dans la matrice sel (ex. : agents de coulabilité, agents antiagglomérants, autre...).
 - Travail sur l'homogénéité et évaluation de la concentration maximale du mélange qui permet de préserver les caractéristiques d'un sel de

- consommation (ex. : coulabilité, goût...) ou d'un bloc à lécher (ex. : tenue).
- Validation de l'utilisation de l'actif en process semi-industriel
 - Production test, analyses (suivi qualité/précision/reproductibilité ; vieillissement)
- Validation des conditions de stockage et de conservation des produits finis intégrant les actifs

- Délivrables :

- **D 23** : Nouvelle génération de produits à base de sel à propriétés bénéfiques pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique

- Partenaires impliqués : SALINS DU MIDI

- Durée de la tâche : 24 mois (mois 39 à mois 62)

□ **TH 5.3 : études humaines pour la mise au point finale des produits**

- Objectif de la tâche : réalisation d'études humaines et animales pour permettre la mise au point finale des produits
- Description du travail :
 - Etude actif versus placebo sur support aqueux : évaluation biologique

- Description détaillée :

5.3.1 - PRESENTATION DU PROTOCOLE CLINIQUE 1

TITRE DE L'ETUDE : « Evaluation de l'effet d'un micronutriment composé (produit xxs) sur le profil lipidique chez des sujets hyperlipidémiques »

MISE EN PERSPECTIVE DE L'ETUDE :

Situation du problème :

Les maladies cardio-vasculaires sont un des plus importants problèmes de santé des pays développés. Elles sont une cause de mortalité importante et d'amoindrissement de la qualité de vie et sont aussi un fardeau économique considérable. Les maladies cardio-vasculaires sont la conséquence de l'interaction de plusieurs facteurs qui incluent l'hérédité et le mode de vie (alimentation et activité physique, tabagisme). L'hypercholestérolémie est connue comme un facteur majeur de risque des maladies cardio-vasculaires. Le taux d'incidents de cardiopathies ischémiques est multiplié par 4 lorsque le taux de cholestérol total passe à un taux supérieur à 6.71mmol/l (2,60g/l). On enregistre par exemple un risque de 9,60‰ cardiopathies ischémiques pour un taux supérieur à 6.71mmol/l, alors qu'il n'est que de 2,5‰ pour un taux inférieur à 5.16mmol/l (2g/l).

On considère généralement que 10 % de réduction de LDL-cholestérol réduit de 2% le risque de cardiopathie ischémique et que l'augmentation de 1% d'HDL cholestérol réduit ce risque de 3-4%.

Problématique de Santé Publique :

Les maladies cardio-vasculaires sont considérées par l'OMS comme une des principales causes de mortalité mondiale. Chaque année 17 millions de personnes dans le monde meurent d'un accident cérébro-vasculaire ou d'une cardiopathie ; parmi ces décès, 11 millions se produisent dans les régions en développement, dont l'Asie. L'OMS estimait en 2000 que un tiers des décès étaient liés aux maladies cardio-vasculaires. L'OMS estime que les maladies cardio-vasculaires

seront la première cause de mortalité en 2010 dans tous les pays (W.H.O. – Global strategy on diet, physical and health – Cardiovascular disease). Les dyslipidémies sont considérées comme un facteur de risque majeur dans le développement des maladies cardio-vasculaires.

Dans les pays développés, les maladies cardio-vasculaires pèsent lourdement sur le coût de la Santé. Ainsi dans un pays développé comme le Canada, le coût lié aux maladies cardio-vasculaires représente environ 40 % du coût global des principales maladies (7,4 milliards sur 17,5 milliards de \$; cf annexe « Exemple : Canada / Santé Canada, Fardeau économique de la maladie au Canada 1993 » (paru en 1997). D'après les estimations, dans les 10 prochaines années, la Chine à elle seule perdra 558 milliards USD suite aux décès précoces liés aux cardiopathies, aux accidents cérébro-vasculaires et au diabète.

Le traitement de l'hypercholestérolémie est considéré comme le principal objectif à poursuivre dans la lutte contre les maladies cardio-vasculaires. Au niveau des institutions internationales concernées par la Santé Publique comme au niveau des gouvernements, le traitement et la prévention des maladies cardio-vasculaires par une action sur les hyperlipidémies (informations-conseils- produits alimentaires fonctionnels- médicaments) devient une priorité.

Les réponses :

Les moyens de régulation des hyperlipidémies (hypercholestérolémie-hypertriglycéridémie) sont les restrictions alimentaires, l'exercice physique et les médicaments (statines, fibrates...). D'autres approches thérapeutiques telles que les phytostérols et l'huile de poisson des mers froides, riches en Omega 3, sont en cours de développement et présentent également un intérêt préventif.

La micronutrition à visée hypolipémiante est une nouvelle approche très prometteuse dans le traitement des hyperlipidémies. Les résultats d'études préliminaires montrent une diminution des taux de cholestérol et de triglycérides sanguins, aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Or, les médicaments hypolipémiants les plus utilisés actuellement ne sont efficaces que partiellement sur le taux des lipides sanguins : les Statines diminuent principalement le taux de cholestérol alors que les Fibrates réduisent surtout le taux de triglycérides. Mais bien souvent, les patients hyperlipidémiques présentent une augmentation combinée des taux de cholestérol et de triglycérides, ce qui est un facteur de risque majeur de l'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires. L'association des statines et des fibrates présente un risque d'effets secondaires importants (rhabdomyolyse) qui en limite l'utilisation.

La micronutrition à visée hypolipémiante présente donc des avantages thérapeutiques majeurs que sont une meilleure efficacité (hyperlipidémie mixte), une absence de toxicité et une action bénéfique très probable sur l'équilibre du métabolisme lipidique qui semble se maintenir pour un certain temps même après l'arrêt de cette nutrition, contrairement au traitement médicamenteux.

En raison de cette bipolarité d'action et de l'absence d'effets indésirables, le produit micronutritionnel dans la régulation du métabolisme des lipides peut être un excellent produit de prévention ou d'accompagnement des prescriptions médicales (statines et fibrates), et peut définir également un excellent complément des voies de réelle nutrition comme les Omega3 et de par leur nature s'associer à la réponse vis à vis de la carence nutritionnelle, tout particulièrement dans le domaine préventif des risques cardio-vasculaires.

*** But de l'étude :**

Evaluation de l'efficacité et de la tolérance d'un micronutriment composé(produit xxs) sur le profil lipidique chez des sujets hyperlipidémiques.

*** Objectif :**

Etudier les effets de la consommation quotidienne du complément nutritionnel xxs sur les taux:

- de LDL-cholestérol
 - de triglycérides
 - de HDL-cholestérol
- au bout de 6 semaines chez une population d'hyperlipidémiques.

*** But de cette correction :**

Les méthodes mises en œuvre pour atteindre le but fixé :

- sur un groupe de 80 adultes hyperlipidémiques ; CT \geq 5,0mmol/l et $<$ 7,8mmol/l ; C-LDL \geq 3,4mmol/l et $<$ 4,9mmol/l ; TG \geq 1,7mmol/l et $<$ 5,0mmol/l
- critères de jugement principal : variation de LDL-cholestérol avant et après intervention
- critères de jugement secondaire : variation du profil lipidique (TC, HDL-cholestérol, non-HDL-cholesterol et TG),
- critères tertiaires : marqueurs hépatiques (transaminases, bilirubine, gamma GT, phosphatase alcaline), glucose et insuline (à jeun), test de HOMA, protéine C Réactive (CRP ultrasensible).

PLAN GENERAL :

*** Précisions méthodologiques :**

- inclusion des sujets par le(s) investigateur(s) à J0, attribution des produits à l'essai par randomisation à J0
- visite de « mise en confiance » à J10 : conseils et réponses aux questions éventuelles pour bonne compréhension, suivi prise produit et consommations alimentaires et activités physiques
- visite intermédiaire (J30) : bilan intermédiaire (clinique et biologique), interrogatoire (effets indésirables et observance thérapeutique)
- période 1 : J1 à J30, prise du produit à l'essai, pendant 3 semaines et suivi des consommations alimentaires et activités physiques
- période 2 : J31 à J60, prise du produit à l'essai, pendant 3 semaines et suivi des consommations alimentaires et activités physiques
- visite de fin d'étude (J60) : bilan final (clinique et biologique), consommations alimentaires et activités physiques, compliance
- les consommations alimentaires et activités physiques sont recueillies d'après le questionnaire alimentaire de la Société suisse de Nutrition (en rapport avec la pyramide alimentaire) et du questionnaire de l'activité physique (selon le questionnaire de l'Enquête suisse sur la santé et de la pyramide de l'activité physique de l'Office fédéral du sport) précédant les visites à J30 – J60

*** Type d'étude :** étude clinique contrôlée phase 2 ; randomisée en cross-over contre placebo, en aveugle ; monocentrique ;
contrôles: clinique et biologique

SELECTION DES SUJETS :

*** Nombre de sujets prévus :**

- 80 sujets
- avec une répartition selon les critères de classification lipidique :

	Hypercholestérolémie pure	Hyperlipidémie combinée	Hypertriglycéridémie pure
C-LDL	\geq 3.4mmol/L	\geq 3.4mmol/L	$<$ 3.4mmol/L
TG	$<$ 2.0mmol/L	\geq 2.0mmol/L	\geq 2.0mmol/L
% souhaité	40% (n=30)	20% (n=20)	40% (n=30)

*** Critères de sélection :**

Critères d'inclusion :

- présentant une hypercholestérolémie avec ou sans hypertriglycéridémie modérée non traitée; CT \geq 5,0mmol/l et < 7,8mmol/l ; LDL \geq 3,4mmol/l et < 4,9mmol/l ; TG \geq 1,7mmol/l et < 5,0mmol/l
- présentant un poids stable au cours des 6 derniers mois (\pm 5kg)
- sans antécédents de prise de traitements hypolipémiants, ni d'utilisation de substances ayant une action sur le métabolisme lipidique : phytostérols, inhibiteurs de l'absorption du cholestérol, soja, omega 3 (dans les 3 mois précédant le test et au cours du test)
- sans consommation régulière de suppléments vitaminés (dans les 3 mois précédant le test et au cours du test)
- ne présentant pas de problèmes de santé pouvant influencer le statut lipidique : non diabétique, pas d'excès pondéral marqué (BMI < 28kg/m²)
- femmes suivant une contraception et non susceptible d'interruption pendant toute la durée de l'étude

Critères d'exclusion :

- les valeurs excessives : CT > 7,8mmol/l et/ou LDL > 4,9mmol/l et/ou Triglycérides > 5,0mmol/l
- les traitements médicamenteux : β bloquants ; diurétiques thiazidiques ; corticostéroïdes per os ; dérivés de l'acide rétinoïque, anti-protéases (VIH) ; neuroleptiques
- l'hypercholestérolémie familiale
- les femmes enceintes
- les consommateurs réguliers de plus de 7 (pour les femmes) ou 14 (pour les hommes) unités d'alcool par semaine ; 1 unité = 300ml de bière, 1 verre de vin, 1 mesure de spiritueux
- les sujets porteurs de pathologies cancéreuses en cours
- les sujets porteurs de maladies cardio-vasculaires : insuffisance cardiaque traitée, maladie coronarienne (revascularisation après infarctus, angor traité)
- hypertension artérielle non traitée ou mal contrôlée (TA > 160 et/ou 95 mmHg)
- les sujets porteurs d'insuffisance rénale évoluée avec une créatininémie \geq 140 μ mol/l
- les sujets porteurs d'hépatite virale évolutive, de recto-colite hémorragique, de maladie de Crohn, de status après bypass iléal et gastric banding
- les sujets porteurs de maladie thyroïdienne non stabilisée, d'hypothyroïdie substituée
- les sujets porteurs de maladie diabétique
- l'obésité (BMI > 28kg/m²)
- les sujets porteurs de maladies psychiques (état anxieux, syndrome dépressif) ou psychiatriques pouvant altérer la capacité de jugement ou l'observance thérapeutique
- les sujets soumis à une dépendance aux médicaments, à l'alcool, aux drogues
- les sujets sous tutelle et/ou n'ayant pas une capacité de jugement intacte

DEROULEMENT DU PROTOCOLE :

*** Nature et fréquence des contrôles :**

V1- Période préliminaire :

- 3 semaines à J0 - Pré inclusion dans l'essai
- contrôle lipidique et biologique initial
- conseils alimentaires et suivi des consommations alimentaires pendant une période de 3 semaines
- habitudes de vie et activité physique

V2- Inclusion à J0 (si les conseils alimentaires n'ont pas donné de résultat significatif) et après

dosage réalisé en laboratoire d'analyse (préalablement à la consultation) :

- contrôle lipidique initial : CT, LDL-cholestérol, HDL-cholestérol, TG ;
- bilan métabolique complet : glycémie, insuline, uricémie, créatininémie
- ionogramme sanguin ; créatine kinase
- bilan hépatique : bilirubine libre et conjuguée, gamma GT, transaminases, phosphatase alcaline
- bilan hormonal thyroïdien : T4, TSH
- CRP ultrasensible, LDL oxydés
- attribution des produits à l'essai par randomisation (produit xxs ou placebo) à J0, pour la première période de traitement (6 semaines)
- information sur l'étude
- recueil du consentement
- remise de la lettre d'information (mode d'utilisation du produit – conservation des habitudes alimentaires antérieures et activités sportives – dates des visites et contrôles biologiques)
- remise du questionnaire alimentaire et du questionnaire de l'activité physique

V3- Contact téléphonique de « mise en confiance » à 3 semaines: conseils et réponses aux questions éventuelles pour bonne compréhension, suivi prise produit et consommations alimentaires et activités physiques

V4- visite de fin de la première période (6 semaines) :

- bilan final (clinique et biologique), consommations alimentaires et activités physiques, compliance thérapeutique
- attribution des produits à l'essai par randomisation (produit xxs ou placebo), pour la deuxième période de traitement (6 semaines)

V5- Contact téléphonique de « mise en confiance » à 3 semaines: conseils et réponses aux questions éventuelles pour bonne compréhension, suivi prise produit et consommations alimentaires et activités physiques

V6- visite de fin de la deuxième période (6 semaines) :

- bilan final (clinique et biologique), consommations alimentaires et activités physiques, compliance thérapeutique
- attribution des produits à l'essai par randomisation (produit actif ou placebo), pour la deuxième période de traitement (6 semaines)

*** Critères d'exclusion en cours d'étude :**

- changement radical du comportement alimentaire et prise pondérale > 4kg en 6 semaines
- absence totale de compliance
- survenue d'une maladie intercurrente grave susceptible de modifier le profil lipidique et/ou d'altérer l'adhésion au traitement
- sujet se retirant de lui-même de l'étude

Quantité totale de sang prélevé pour l'étude et par adulte : 3 x 20 ml

5.3.2 - PRESENTATION DU PROTOCOLE CLINIQUE 2

Effet du produit XXS sur le métabolisme des VLDL, IDL, LDL et HDL. Etude cinétique, in vivo, chez

l'homme

MISE EN PERSPECTIVE DE L'ÉTUDE :

Situation du problème : Voir 5.3.1

Problématique de Santé Publique : Voir 5.3.1.

Questions posées:

Si les résultats de l'étude clinique 1 mettent en évidence une modification significative des lipides plasmatiques: baisse du LDL-cholestérol et/ou baisse des triglycérides et/ou augmentation du HDL-cholestérol, il sera nécessaire de préciser les modifications du métabolisme des lipoprotéines induites par le produit. Une étude cinétique, in vivo chez l'Homme, permettra d'apporter une réponse.

HYPOTHESE DE RECHERCHE ET RESULTATS ATTENDUS:

Cette étude permettra de définir l'effet de l'actif XXS sur le taux de production (PR) et le catabolisme (FCR) des VLDL, IDL, LDL et HDL. Il sera possible de définir non seulement les modifications du catabolisme direct mais aussi indirect. En outre les modifications de transfert entre les différentes lipoprotéines pourront être précisées.

1. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

1.1. DESCRIPTION DE LA POPULATION A ETUDIER

Sujets adultes (35-70 ans) ayant une hyperlipidémie mixte (LDL \geq 3.4mmol/l et < 6mmol/l et TG \geq 1,7mmol/l et < 5,0mmol/l.

Il s'agit d'une étude monocentrique, sans bénéfice individuel direct.

1.2 OBJECTIF PRINCIPAL

Evaluer les effets du produit xxs chez les patients présentant une hyperlipidémie combinée, sur:

- les taux de production de l'apoB des VLDL1, de l'apoB des VLDL2, de l'apoB des IDL, de l'apoB des LDL et de l'apoA1 des HDL
- le catabolisme (Fractional Catabolic Rate) de l'apoB des VLDL1, de l'apoB des VLDL2, de l'apoB des IDL, de l'apoB des LDL et de l'apoA1 des HDL

1.3 OBJECTIFS SECONDAIRES

Evaluer les effets du produit xxs chez les patients présentant une hyperlipidémie combinée, sur:

- les pools plasmatiques de l'apoB des VLDL1, de l'apoB des VLDL2, de l'apoB des IDL, de l'apoB des LDL et de l'apoA1 des HDL

2. CONCEPTION DE LA RECHERCHE

2.1. CRITERES D'ÉVALUATION DE L'ÉTUDE

Les critères d'évaluation de l'étude seront:

les taux de production de l'apoB des VLDL1, de l'apoB des VLDL2, de l'apoB des IDL, de l'apoB des LDL et de l'apoA1 des HDL.

Le Fractional Catabolic Rate de l'apoB des VLDL1, le Fractional Catabolic Rate de l'apoB des

VLDL2, le Fractional Catabolic Rate de l'apoB des IDL, le Fractional Catabolic Rate de l'apoB des LDL et le Fractional Catabolic Rate de l'apoA1 des HDL.

les pools plasmatiques de l'apoB des VLDL1, de l'apoB des VLDL2, de l'apoB des IDL, de l'apoB des LDL et de l'apoA1 des HDL

Ils seront mesurés avant la mise en route du traitement par le produit xxs (J0) des patients hyperlipidémiques ; puis après 8 semaines de traitement par le produit xxs .

2.2 DESCRIPTION DE LA METHODOLOGIE DE LA RECHERCHE

2.2.1 Sélection des sujets

Les patients hyperlipidémiques seront screenés par le laboratoire.

Les patients seront ensuite recrutés par le Pr Bruno VERGES dans le service d'Endocrinologie du CHU de Dijon

2.2.2 Visite V1 (semaine -4), pre-Inclusion des patients

Au cours de cette visite l'information sur la mise en place et les objectifs de la recherche est donnée au sujet (lecture et remise de la note d'information au sujet.)

Signature du consentement éclairé

Examen clinique complet incluant poids, taille et tour de taille.

Vérification des critères cliniques d'inclusion et d'exclusion

Prélèvements sanguins pour dosages de: triglycérides, cholestérol total, HDL-Cholestérol, LDL-Cholestérol (par calcul).

Dosage de bêta-HCG chez les femmes en âge de procréer.

Enregistrement des traitements concomitants (dans le cahier d'observation)

2.2.3 Visite 2 J0 : Inclusion

Au cours de cette visite l'inclusion définitive du patient s'effectue sur les critères biologiques lipidiques et un bilan complet incluant : glycémie à jeun, HbA1c, fructosamine, triglycérides, cholestérol total, HDL-Cholestérol, LDL-Cholestérol (par calcul), apoB, apoA-I, créatinine, insulïnémie, Numération Formule Sanguine, enzymes hépatiques et CPK, réalisé quelques jours avant la consultation.

- Examen clinique complet incluant le tour de taille.
- Enregistrement des traitements concomitants (dans le cahier d'observation)

2.2.4 Visite 3 (semaine 1) hospitalisation pour cinétique 1 :

Jour 1:

- Examen clinique complet incluant le tour de taille.
- Enregistrement des traitements concomitants (dans le cahier d'observation)

Jour 2:

- Etude cinétique par isotopes stables (voir détails ci-dessous)

Jour 3:

- Le patient peut quitter l'hôpital
- Dispensation du traitement : remise du premier pilulier du produit xxs. Les patients seront informés de prendre quotidiennement ce produit jusqu'à la prochaine visite 1 mois plus tard (visite 4).

2.2.5 Visite 4 (semaine 5) :

- Examen clinique complet incluant le tour de taille.

- Enregistrement des traitements concomitants (dans le cahier d'observation)
- Enregistrement d'éventuels effets secondaires survenus depuis la visite précédente
- Prélèvements sanguins pour dosages de: triglycérides, cholestérol total, HDL-Cholestérol, LDL-Cholestérol (par calcul), HbA1c, fructosamine, apoB, apoA-I, créatinine, insulïnémie, Numération Formule Sanguine, enzymes hépatiques et CPK.
- Dispensation du traitement : remise du deuxième pilulier de produit xxs. les patients seront informés de prendre quotidiennement ce produit jusqu'à la dernière visite 1 mois plus tard (visite 5)

2.2.6 Visite 5 (semaine 9) : Hospitalisation 2 (visite finale)

Jour 1:

- Examen clinique complet incluant le tour de taille.
- Enregistrement des traitements concomitants (dans le cahier d'observation)
- Enregistrement d'éventuels effets secondaires survenus depuis la visite précédente
- Prélèvements sanguins pour dosages de: glycémie à jeun, HbA1c, fructosamine, triglycérides, cholestérol total, HDL-Cholestérol, LDL-Cholestérol (par calcul), apoB, apoA-I, créatinine, insulïnémie, Numération Formule Sanguine, enzymes hépatiques et CPK

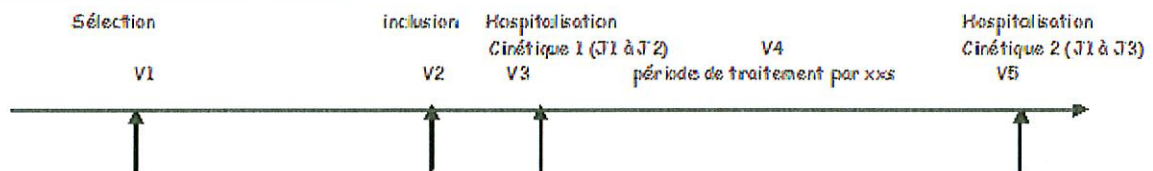
Jour 2:

- Etude cinétique par isotopes stables (voir détails ci-dessous)

Jour 3:

- Le patient peut quitter l'hôpital
- Fin de l'étude.

Figure 1: Schéma général de l'étude



2.2.7 Protocole de l'étude Cinétique

- Le protocole et les techniques utilisées sont détaillées dans les références fournies en annexe
- Sujet à jeun depuis la veille 20h et pendant toute la durée de l'étude. Boissons non sucrées autorisées à volonté
- Début de l'étude à 8h :
- Bolus de D³ leucine (0.7 mg.kg-1)
- Perfusion continue pendant 16 h de D³ leucine à la dose de 0.7 mg.kg-1.h-1.
- Prélèvements veineux à 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16 h
- A partir de ces prélèvements, isolement des différentes lipoprotéines (VLDL1, VLDL2, IDL, LDL et HDL) par ultracentrifugation
- Isolement des apolipoprotéines, au sein de chaque lipoprotéine, par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.
- Hydrolyse des apolipoprotéines.
- Séparation des acides aminés par chromatographie gazeuse et quantification de l'enrichissement en D³ de la leucine par spectrométrie de masse isotopique avec interface de

combustion

- Calcul du débit de production et de la vitesse de catabolisme des apolipoprotéines par modélisation compartimentale (logiciel SAAM II)

3. MODALITES DE L'ETUDE

3.1 DESCRIPTION DES MESURES PRISES POUR REDUIRE ET EVITER LES BIAIS.

3.1.1 Tirage au sort

NA

3.1.2 Méthodes de mise en aveugle

Tous les documents concernant le sujet de recherche et les données recueillies au cours des étapes du suivi d'étude, ne portent ni initiales, ni date de naissance, l'identification du sujet de recherche ne se faisant que par le numéro de code.

La clé des codes est détenue par l'investigateur / le coordinateur, celui-ci étant responsable de la protection identitaire des sujets.

Les produits sont distribués au fur et à mesure de l'entrée dans l'étude des sujets de recherche et portent le code correspondant.

3.2 DUREE DE L'ETUDE

3.2.1 Durée totale de l'étude

3 ans

3.2.2 Durée de participation d'un patient ayant accepté de participer à la Recherche

16 semaines

3.3 MODALITES D'ARRET TEMPORAIRE OU DEFINITIF DE L'ETUDE

3.3.1 Arrêt définitif ou temporaire de l'étude pour un patient

- ✓ Arrêt temporaire de l'étude pour le patient : NA
- ✓ Arrêt définitif de l'étude pour le patient :
 - le patient peut se retirer de sa propre initiative à tout moment de l'étude
 - le patient ne respecte pas le Plan de l'étude
 - lors de besoin d'un autre traitement pour phénomène intercurrent et pouvant interférer sur le métabolisme des lipides ou perturber le déroulement de l'étude
 - le patient présente une atteinte à sa santé en relation avec l'étude
 - le patient présente un effet indésirable important
 - autre raison (activité professionnelle entraînant un départ à l'étranger, ...)

3.3.2 Arrêt définitif ou temporaire de l'étude/la recherche

- ✓ Arrêt temporaire de l'étude dans sa globalité :
- ✓ dans les cas d'effets indésirables transitoires, non menaçants, de maladie intercurrente résolutive ou d'intervention chirurgicale de durée inférieure à 15j, sans séquelles pouvant entraver les résultats.
- ✓ Arrêt définitif de l'étude dans sa globalité :
- ✓ dans le cas d'absence d'efficacité
- ✓ dans le cas d'un recrutement et inclusion des sujets insuffisants ne permettant pas

d'atteindre les objectifs d'étude significatifs

3.4 PROCEDURES DE COMPTABILITE DU OU DES MEDICAMENTS EXPERIMENTAUX

- ✓ L'investigateur doit confirmer la réception des produits étudiés par écrit et doit utiliser ces produits uniquement selon les recommandations de cette étude clinique et conformément au protocole. Il enregistre la délivrance des produits dans le CRF.
- ✓ Toutes les unités de produits non utilisées ou partiellement utilisées et les conditionnements vides sont retournés à la pharmacie par l'investigateur au plus tard à la fin de l'étude. La réception, la délivrance, et le retour des produits de l'étude doivent être convenablement documentés comprenant les informations suivantes : numéro de l'étude, expéditeur, destinataire, date, mode de transport, quantité, numéro de lot et date de péremption.

3.5 PROCEDURES DE LEVEE D'AVEUGLE

Les modalités de levée d'insu s'effectueront une fois l'étude terminée et le rapport final établi.

Dans certains cas exceptionnels (en raison d'événements indésirables responsables d'atteinte à la santé du sujet de recherche), les modalités de levée d'insu peuvent s'effectuer à n'importe quel moment de l'étude.

L'analyse des cas d'effets indésirables sera placée sous la surveillance de l'investigateur principal.

3.6 IDENTIFICATION DE TOUTES LES DONNEES A RECUEILLIR DIRECTEMENT DANS LES CAHIERS D'OBSERVATION, QUI SERONT CONSIDEREES COMME DES DONNEES SOURCES

Les données seront recueillies sur un cahier d'observation rempli par le médecin investigateur ou la personne autorisée.

4. SELECTION DES SUJETS

4.1 INFORMATION ET RECUEIL DU CONSENTEMENT ECLAIRE

Selon l'article L1122-1 du CSP, préalablement à la réalisation d'une recherche biomédicale sur une personne, l'investigateur l'informerá (ou ses représentants légaux si le sujet est mis sous tutelle) de la nature de l'essai, de ses objectifs, de sa méthodologie, de sa durée, des bénéfices attendus, des contraintes et risques prévisibles y compris en cas d'arrêt de l'essai avant son terme, les alternatives médicales, des modalités de prise en charge médicale prévues en fin de recherche si nécessaire,

Il lui fera part de l'avis du CPP, et le cas échéant de l'interdiction de participer simultanément à une autre recherche.

Cette discussion informative sera basée sur une note d'information au patient fournie par le promoteur (cf. annexe).

Le patient (ou ses représentants légaux) aura toute latitude pour poser toute question concernant l'essai et sera informé de son droit de refuser de participer à l'essai ou de retirer son consentement à tout moment sans préjudice aucun et sans avoir à justifier les raisons de sa décision.

Après cette information et préalablement à l'inclusion dans l'étude, le patient devra signer un formulaire de recueil du consentement fourni par le promoteur.

L'investigateur conserve un original du formulaire de consentement. L'investigateur devra consigner dans le dossier médical et le cahier d'observation (le cas échéant) de chaque patient le fait que le patient a bien été informé et qu'il a bien signé le formulaire de consentement.

L'autre original du formulaire est remis au patient.

L'information destinée au patient et toute autre information écrite donnée aux patients devra

être actualisée si de nouvelles données sont disponibles, susceptibles de modifier l'avis du patient ou si un amendement au protocole impose une correction de l'information et du formulaire de consentement. L'investigateur informe le patient de ces modifications et lui demande de confirmer son accord en datant et signant un nouveau formulaire de consentement. Toute modification de ces documents doit être approuvée par le CPP et l'autorité compétente.

4.2 CRITERES D'INCLUSION

- Sujets adultes (35-70 ans) ayant une hyperlipidémie mixte (LDL \geq 3,4mmol/l et < 6mmol/l et TG \geq 1,7mmol/l et < 5,0mmol/l), pour lesquels les conseils alimentaires (pré-inclusion) n'ont pas donné de résultat significatif ; et présentant un poids stable depuis 6 mois (\pm 5kg)
- Ne présentant pas de problèmes de santé pouvant influencer le statut lipidique : non diabétique, pas d'excès pondéral marqué (BMI < 30kg/m²)
- Absence de traitement médicamenteux hypolipémiant ou de substances ayant une action sur le métabolisme des lipides : soja, stanols, inhibiteurs de l'absorption du cholestérol, Omega 3 (dans le mois précédant le test et au cours du test)
- Femmes suivant une contraception et non susceptible d'interruption pendant toute la durée de l'étude.

4.3 CRITERES D'EXCLUSION

- traitements médicamenteux : β bloquants ; diurétiques thiazidiques ; corticostéroïdes per os ; dérivés de l'acide rétinoïque, anti-protéases (VIH) ; neuroleptiques
- substances ayant une action sur le métabolisme des lipides : soja, stanols, inhibiteurs de l'absorption du cholestérol, omega 3
- femmes enceintes
- sujets mineurs
- hypercholestérolémie familiale
- insuffisance rénale (créatininémie \geq 140 μ mol/l) et cardio-vasculaires (insuffisance cardiaque, maladie coronarienne)
- hypertension artérielle non traitée ou mal contrôlée (TA > 160 et/ou 95 mm Hg)
- pathologies cancéreuses en cours
- hépatite virale évolutive
- maladie thyroïdienne non stabilisée
- maladies psychiatriques pouvant altérer la capacité de jugement ou l'observance thérapeutique
- maladies psychiques (état anxio-dépressif, syndrome dépressif)
- certaines pathologies digestives (Crohn, recto-colite hémorragique, de status après bypass iléal et gastric banding)
- diabète
- obésité (BMI \geq 30 kg/m²)
- dépendance aux médicaments, à l'alcool, aux drogues ; sujets sous tutelle et/ou n'ayant pas une capacité de jugement intacte

4.4 TRAITEMENTS AUTORISES ET INTERDITS DANS LE PROTOCOLE

En raison d'une action sur le métabolisme des lipides, les traitements médicamenteux et substances suivants sont exclus du protocole :

- traitements médicamenteux : β bloquants ; diurétiques thiazidiques ; corticostéroïdes per os ; dérivés de l'acide rétinoïque, anti-protéases (VIH) ; neuroleptiques
- substances autres: soja, stanols, inhibiteurs de l'absorption du cholestérol, Omega 3

4.5 CRITERES DE SORTIE D'ETUDE

4.5.1 Critères et modalités d'arrêt prématuré du traitement à l'étude

- Lors d'intolérance ou d'évènements indésirables suspectés de relation directe avec le traitement
- Absence de compliance (oublis fréquents par ex.) ou refus du sujet de poursuivre la prise du traitement

4.5.2 Critères et modalités d'exclusion d'une personne se prêtant à la recherche

- Non respect du protocole
- Lors d'évènements indésirables responsables d'une atteinte à la santé du sujet

4.5.3 Modalités et calendrier de recueil des données de ces personnes

Ces sorties d'étude seront à inclure selon les cas dans la base de données en ITT ou analyse de sécurité.

4.5.4 Modalités de remplacement des personnes prématurément sorties d'étude

Le plus rapidement après cette sortie prématurée.

Recrutement d'après les modalités de sélection et les critères inclusion-exclusion.

4.5.5 Modalités de suivi des personnes sorties prématurément de la Recherche

Les personnes sorties prématurément de la Recherche seront suivies comme suit :

- a) personnes qui quittent l'étude de leur propre gré : contact téléphonique entre le 10ème et 20ème jour
- b) personnes qui quittent l'étude en raison d'effets indésirables : prise en charge "conventionnelle", selon la nature et la gravité de l'effet indésirable

4.6 DUREE D'EXCLUSION ET INSCRIPTION AU FICHIER NATIONAL POUR LES RECHERCHES ET INDEMNISATION

Les recherches biomédicales (RBM) portant sur des produits de santé ET sur les volontaires sains OU sur des Malades pour lesquels l'objet de la RBM est sans rapport avec leur pathologie.

OU

Les recherches biomédicales sur décision du CPP (au vue des risques et contraintes de la RMB), Entrent dans le périmètre du Fichier National des Volontaires. Ce fichier à pour objectifs de respecter la période d'exclusion et de vérifier le non dépassement du plafond annuel des indemnités. Il est alimenté par les investigateurs.

4.6.1 Fichier National pour les recherches

L'investigateur informera les volontaires de l'existence du fichier national et des données qui y seront contenues en précisant que les informations sont systématiquement détruites à l'issue d'un délai de 12 mois. Cette information est rappelée dans le formulaire d'information et de consentement qui sera remis aux intéressés

Justification de l'existence :

d'une interdiction de participer simultanément à une autre recherche : attitude conforme aux principes de bonnes pratiques en recherche clinique.

d'une période d'exclusion pendant laquelle la participation à une autre recherche est interdite : vu la nature naturelle du produit étudié, cette période d'exclusion est fixée à 15 jours à l'issue de l'étude

4.6.2 Indemnisation

Ne concerne pas les recherches portant sur les populations suivantes : les mineurs, les personnes majeures faisant l'objet d'une mesure de protection légale, les personnes majeures hors d'état

d'exprimer leur consentement, les personnes privées de liberté, les personnes hospitalisées sans leur consentement, les personnes admises dans un établissement sanitaire et social à d'autres fins que la recherche

L'investigateur s'assurera que la somme de l'indemnité éventuellement due et de celles que l'intéressé a déjà pu percevoir au cours des douze mois précédents n'excède pas le maximum annuel fixé par le Ministre de la Santé (soit 4500 €).

Pour appliquer la règle du maximum annuel d'indemnités, celles-ci sont versées à la date de début de participation à la recherche biomédicale.

En compensation des contraintes dues à l'étude, le patient percevra une indemnité de 500 euros (règlement au prorata des visites réalisées soit 250 euros pour la cinétique 1 et 250 euros pour la cinétique 2).

• Délivrables :

- **D24** : Nouvelle génération de produits alimentaires à propriétés bénéfiques pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique

• Partenaires impliqués : LARA SPIRAL, INSERM U866 Equipe 7, Equipe 8

• Durée de la tâche : 36 mois

Les délivrables du TH5

- **D22**: nouvelle génération de yaourts à boire et brassés à taux de fruits variable et enrichis en actif, avec maintien de la fonctionnalité de l'actif en conservation.
- **D 23** : Nouvelle génération de produits à base de sel à propriétés bénéfiques pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique
- **D24** : Nouvelle génération de produits alimentaires à propriétés bénéfiques pour prévenir ou retarder le développement du syndrome métabolique

Référence	[Modèle "FCE- autres"]
Nom du projet	SYMPPA
Nom du titulaire	INSERM U866 Equipe 7

Code de la ligne	Description	Coût unitaire (€) (1) (2)	Nombre d'unités (2)	Coût total (€) (1)(3)
------------------	-------------	---------------------------	---------------------	-----------------------

Tableau 1 : dépenses de personnel (4) (comptes éligibles du PCG (5) : 6247, 631, 633, 641, 645, 647, 648)

1a	Médecin, CDD, 1 homme/an	43,75	1 600	70 000,00
1b	Infirmière de recherche, CDD, 1,2 hommes/an	20,00	1 950	39 000,00
1c	Attachée recherche clinique, CDD, 1,1 hommes/an	25,00	1 800	45 000,00
1d	Technicien laboratoire, CDD, 1,5 hommes/an	24,00	2 500	60 000,00
1e	Dietéticienne, CDD, 0,75 hommes/an	25,00	1 200	30 000,00
T1	Total			244 000,00

Tableau 2 : amortissement d'équipements de R&D (comptes éligibles du PCG (5) : 6122, 6135, 6811)

	description	année d'acquisition	valeur d'acquisition	durée de l'amortissement (en années)			
2a	Ultracentrifugeuse + rotor	2008	45 000	8	5 625,00	3,0	16 875,00
2b	Chromatographie gazeuse+ Spectrometre de masse	2006	160 000	8	20 000,00	3,0	60 000,00
2c							0,00
2d							0,00
2e							0,00
T2	Total						76 875,00

Tableau 3 : dépenses de sous-traitance (compte éligible du PCG (5) : 611)

3a							
3b							
3c							
3d							
3e							
T3	Total						0,00

Tableau 4 : frais de missions (comptes éligibles du PCG (5) : 6251, 6256)

4a	7 voyages pour 2 personnes Dijon-Lausanne (soit 14 trajets) à environ 140 € l'unité						2 000,00
4b							
4c							
4d							
4e							
T4	Total						2 000,00

Tableau 5 : autres dépenses comptabilisées (comptes éligibles du PCG (5) : 601, 6021, 6022, 604, 605, 617, 621, 651)

5a	Réactifs Biochimie/Biologie Moléculaire (kits de dosage enzymatique, kits ELISA,...)						26 000,00
5b	Consommables (plastiques, tubes, pointes, gants, ...)						11 231,46
5c	Achats isotopes stables						6 000,00
5d	Dédommagement financier des patients						6 000,00
5e							
T5	Total						49 231,46

Tableau 6 : frais forfaitisés (1)

6a	Part assise sur les dépenses d'équipement	T2 x 4%	3 075,00
6b	Part assise sur les dépenses de fonctionnement	(T1+T3+T4+T5) x 8%	23 618,52
T6	Total		26 693,52
T	Total des dépenses prévues	T1 + T6	398 799,98

(1) Pour les tableaux 2 à 6, les montants indiqués sont calculés TTC, y compris avec la TVA, si elle n'est pas récupérée par le bénéficiaire de l'aide.

(2) L'unité est l'heure pour le tableau 1, l'annuité d'amortissement d'un équipement pour le tableau 2.

(3) Le coût total est égal au produit du coût unitaire par le nombre d'unités, pour les tableaux 1 et 2 ; il est rempli directement pour les tableaux 3 à 5

(4) Catégories de personnel. Personnel non statutaire directement affecté au projet. Les dépenses éligibles se limitent aux salaires et aux charges sociales.

(5) Plan comptable général, s'il est appliqué.