

# IMPACT DES MÉTABOLITES CIRCULANTS DES FLAVANOLS SUR L'EXPRESSION DES MIRNA ET LEURS GÈNES CIBLES AU NIVEAU ENDOTHÉLIAL

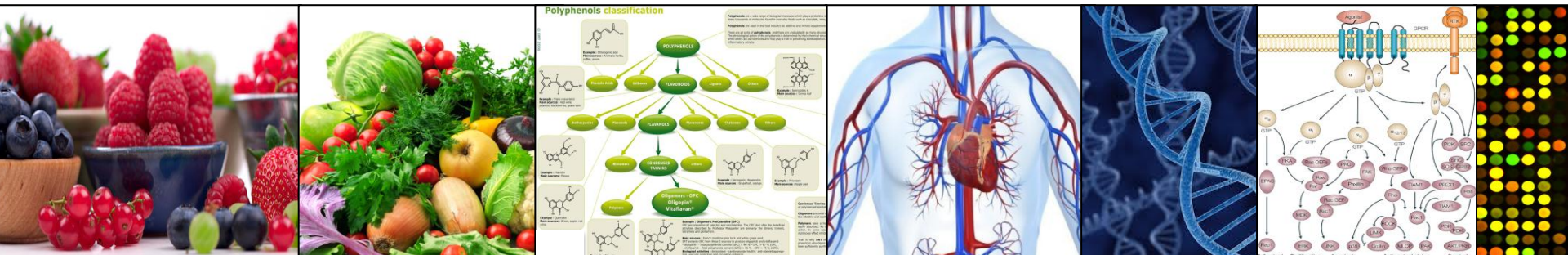
**Dragan MILENKOVIC, PhD**

Institut national de la recherche agronomique (INRA)

Unité Nutrition Humaine

Equipe MicroCard (Micronutriments & Santé Cardiovasculaire)

Clermont-Ferrand / Theix, France



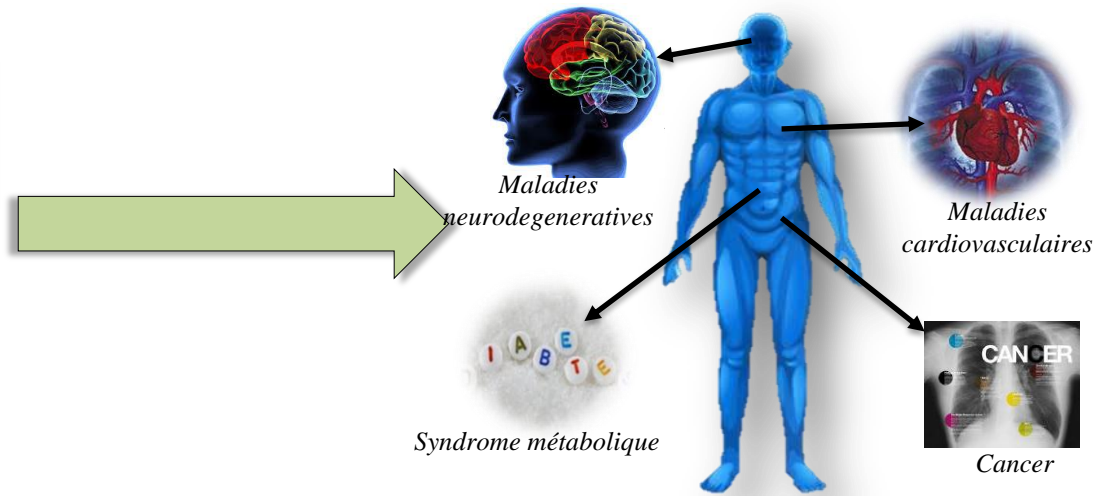
# PRODUITS VEGETAUX ET LA SANTÉ HUMAINE

## Produits végétaux



source exclusive de  
micronutriments

## Effets santé



Cassidy et al. *Circulation*, 2013  
Hooper et al., *AJCN*, 2012  
Del Rio et al., *Antiox & Redox Sig*, 2012

### Polyphénols alimentaires

Flavonoides



Acides phénoliques



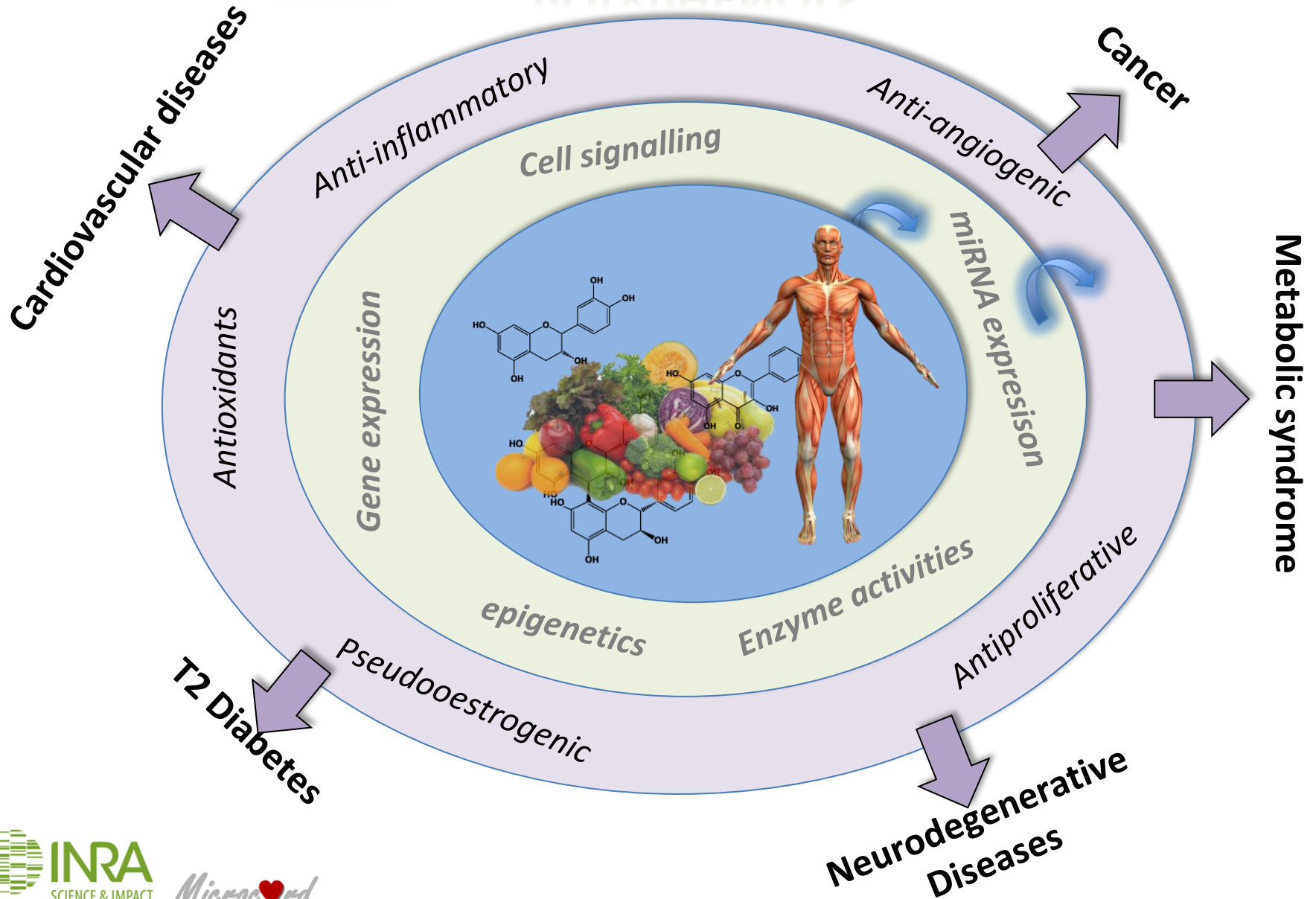
Stilbènes



Curcuminoïdes



# EFFETS BENEFIQUES DE LA CONSOMMATION DES POLYPHÉNOLS





## microARN (miARN)



MicroARNs sont des ARNs courts, d'environ 22 pb, simple brin non codants

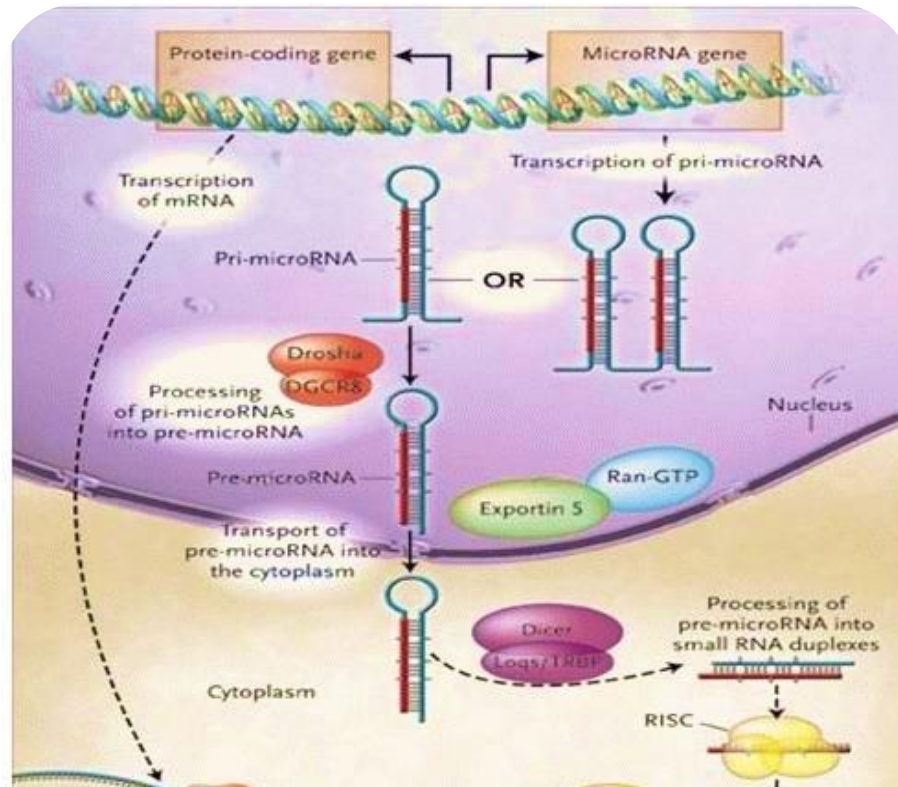
Le génome humain contient plus 1500 gènes codant pour des miARN



# BIOGÈNÈSE DE L'ARN

MicroARNs sont des ARNs courts, d'environ 22 pb, simple brin non codants

Le génome humain contient plus 1500 gènes codant pour des miARN



# BIOGÈNESE DES miARN

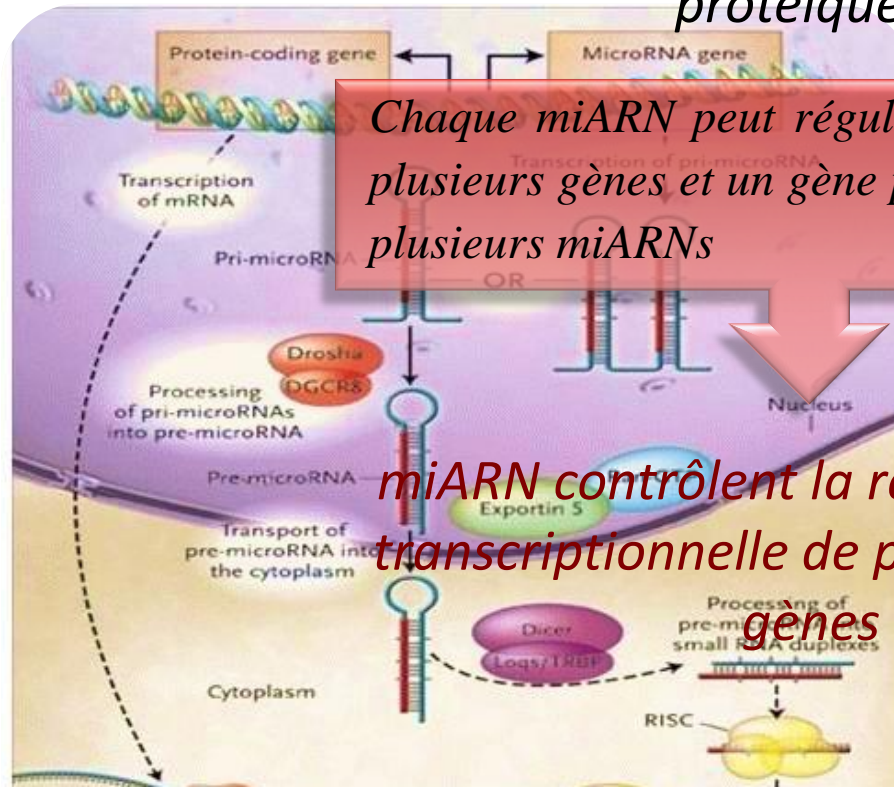
miARN sont des inhibiteurs de l'expression des gènes par hybridation simple brin non codante entre le miARN et l'ARNm

Le génome humain contient plus 1500 gènes codant pour des miARN

*miRNA induit une dégradation de l'ARNm ou inhibe la synthèse protéique*

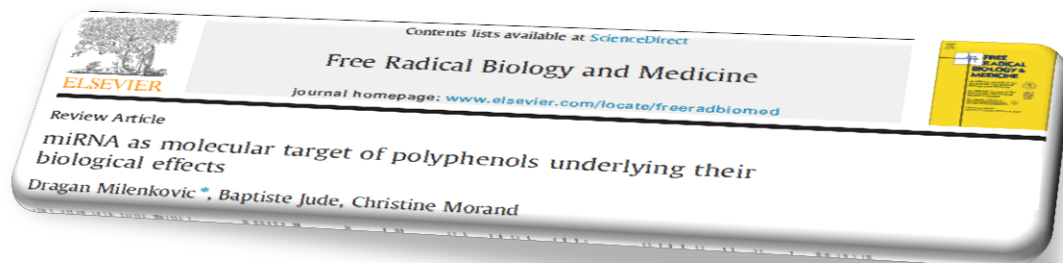
*Chaque miARN peut réguler l'expression de plusieurs gènes et un gène peut être réglé par plusieurs miARNs*

*miARN contrôlent la régulation post-transcriptionnelle de plus de 50% des gènes*



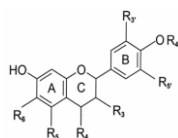


# IMPACT DES POLYPHÉNOLS SUR L'EXPRESSION DES miARNs

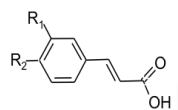


## Dietary Polyphenols

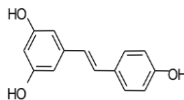
Flavonoids



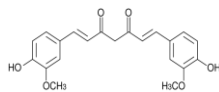
Phenolic Acids



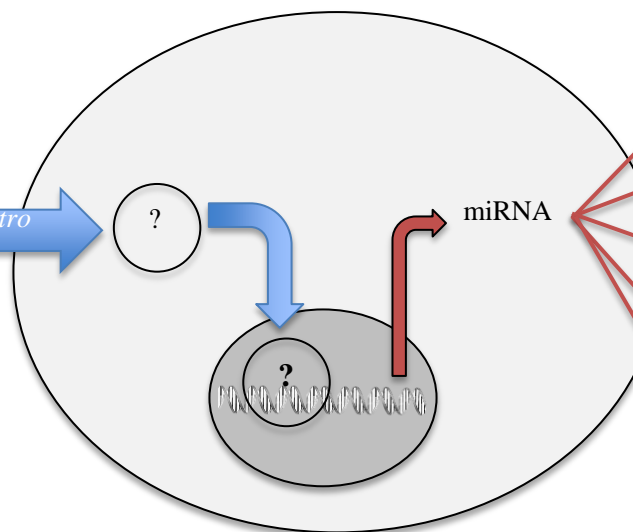
Stilbenes



Curcuminoids



*in-vivo/in-vitro*



- Inflammation:  
*miR-122, mir-125b, miR-155*
- Apoptosis:  
*miR-181d, miR-196a, miR-20a, miR-320, miR-98, .....*
- Cancerogenesis:  
*miR-101, mir-574, miR-323, miR-1256, miR29a, ....*
- Lipid metabolism:  
*miR-122*
- Migration / invasion:  
*miR-21*

or glucuronidated conjugates, i.e., structurally different from the native molecules, in the nano to few micromolar ranges. These polyphenol conjugates are likely to possess different biological properties and distribution patterns within tissues and cells than polyphenol aglycones [91]. However, in nearly all of the studies, the native form of polyphenols or extracts rich in these

compounds has been used and at high supraphysiological concentrations, up to 100  $\mu$ M. Consequently, the impact of native polyphenols at high concentrations on the expression of miRNA can be different from that of their plasma metabolites at low physiologically relevant concentrations. Together with in vitro studies, few in vivo studies have examined the capacity of these





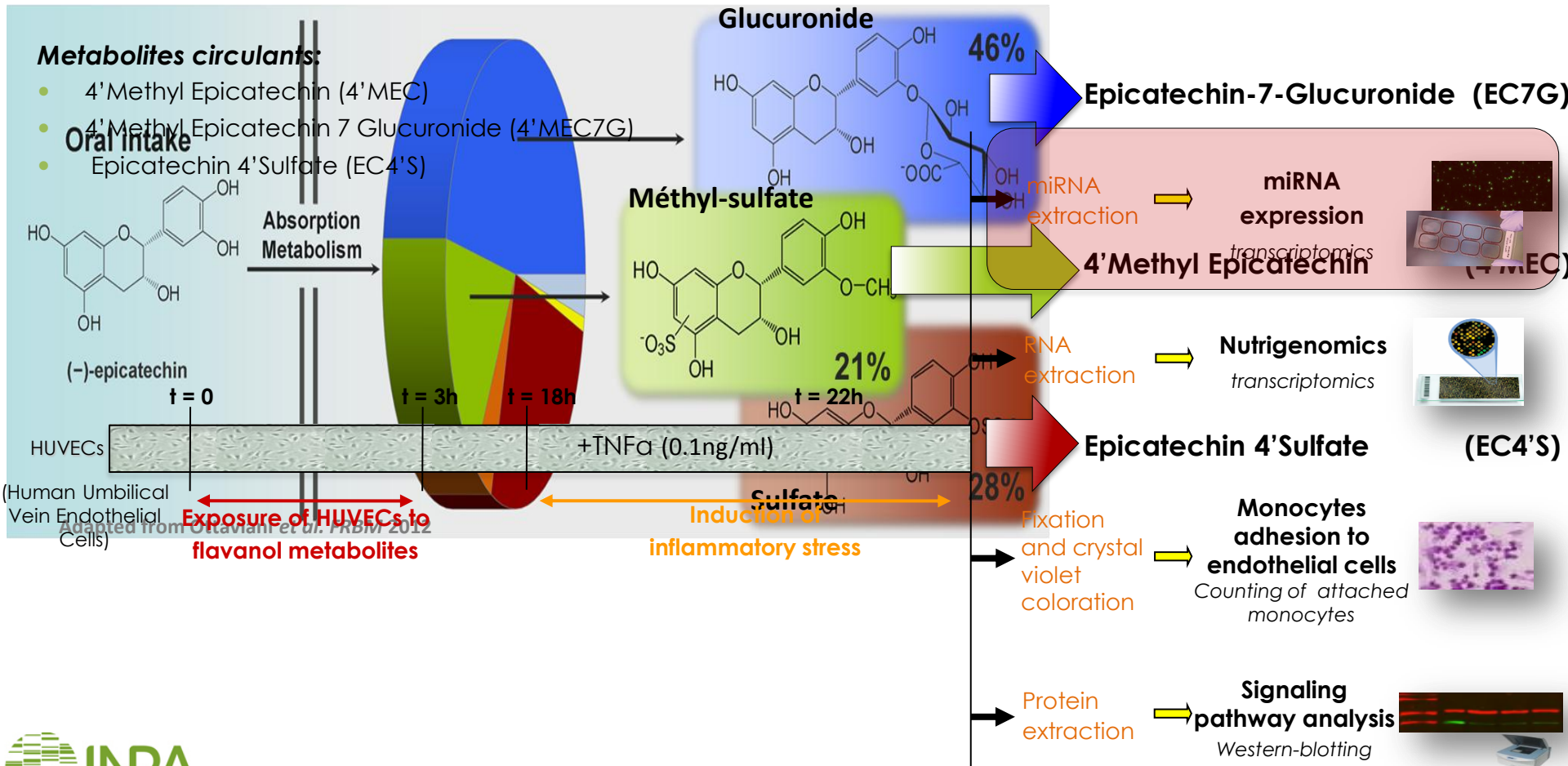
# **Impact des métabolites circulants des flavanols sur l'expression des miRNA au niveau endothélial**



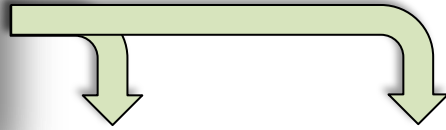
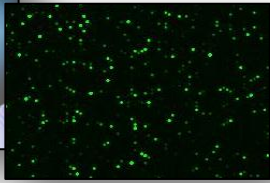
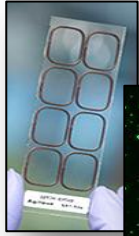
# APPROCHE EXPERIMENTALE

## Métabolites de flavanols:

- concentrations : 0.2 – 2  $\mu\text{M}$
- temps d'exposition: 3 h



# IMPACT DES METABOLITES DES FLAVANOLS SUR L'EXPRESSION DES MIRNAS DANS LES CELLULES ENDOTHELIALES

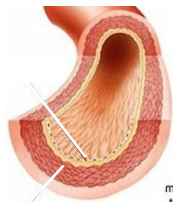
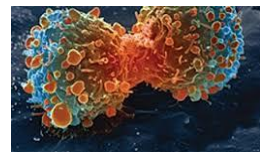
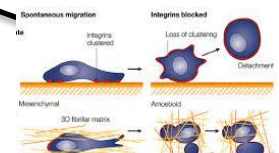
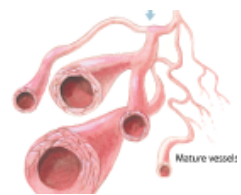
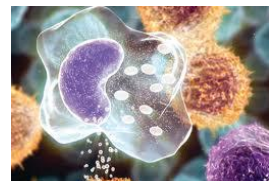
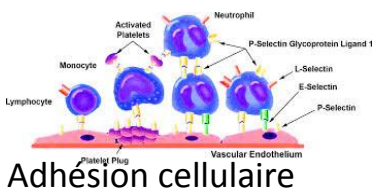
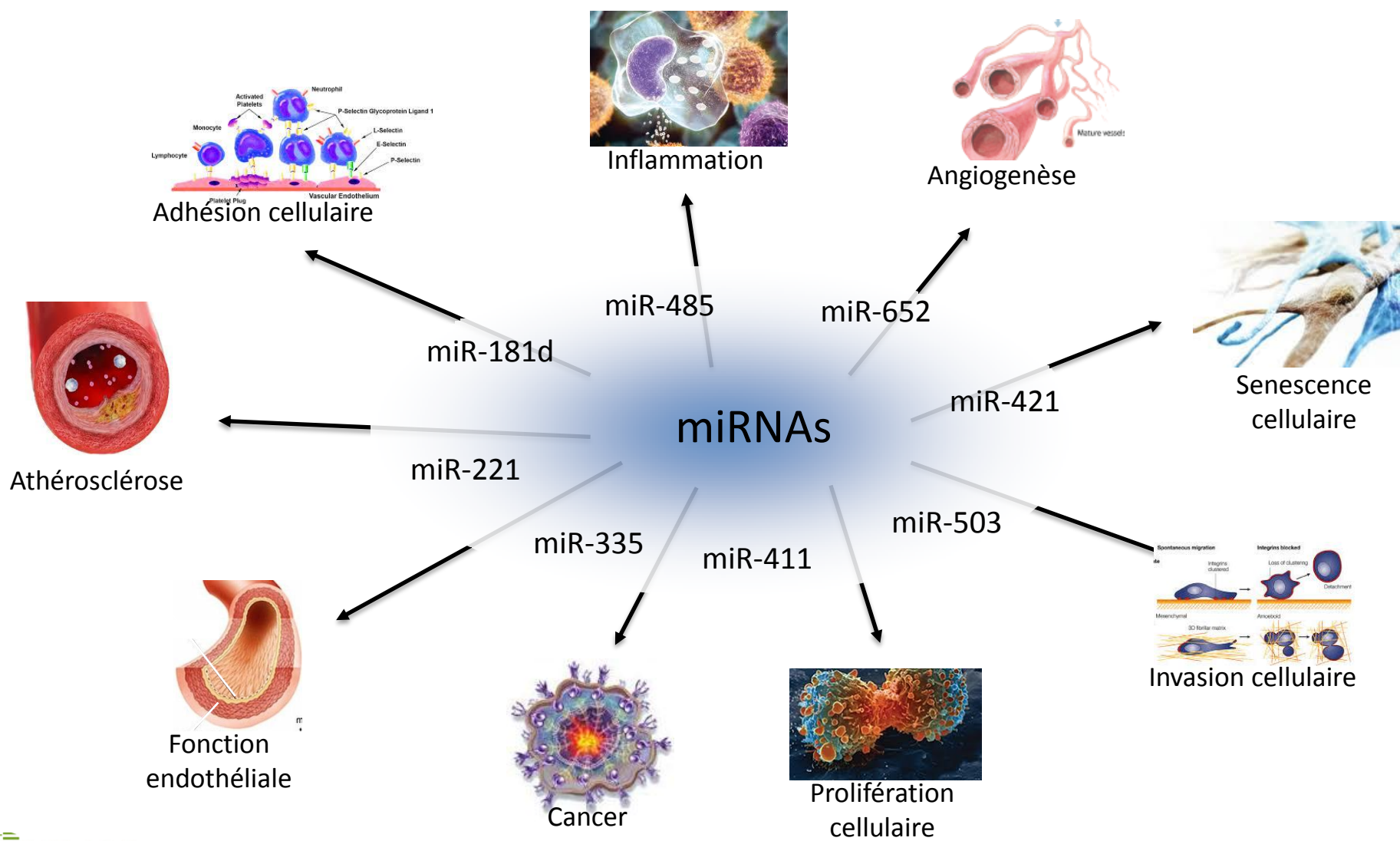


± TNF
hsa-miR-146a hsa-miR-155
hsa-miR-195 hsa-miR-199a-3p hsa-miR-199a-5p hsa-miR-214 hsa-miR-221* hsa-miR-29b-1*
hsa-miR-369-5p
hsa-miR-455-3p
hsa-miR-584



Métabolites de flavanol peuvent moduler l'expression des miRNA dans les cellules endothéliales

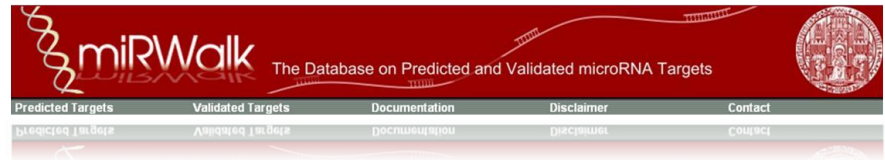
# FONCTIONS DES miRNAs DONT L'EXPRESSION A ÉTÉ MODULÉE PAR LES MÉTABOLITES





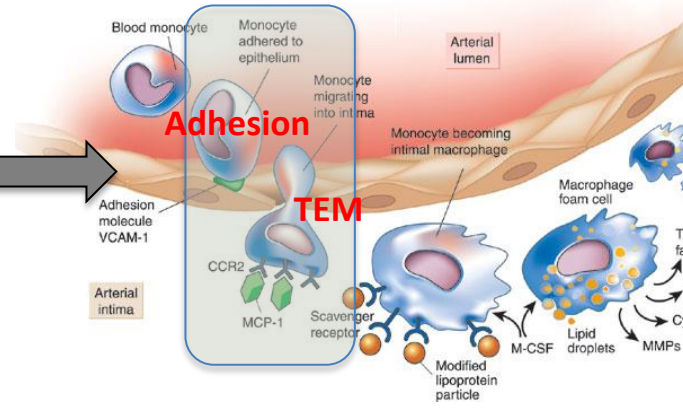
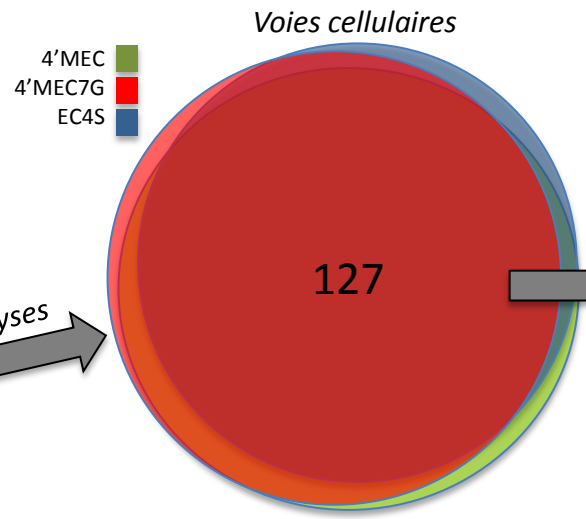
# IDENTIFICATION DES GÈNES ET DES PROCESSUS CELLULAIRES CIBLES DES miRNAs

± TNF	M4'EC/+TNF	M4'EC7G/+TNF	EC4'S/+TNF
hsa-miR-146a			
hsa-miR-155			
		hsa-miR-181d	hsa-miR-181a*
hsa-miR-195			
hsa-miR-199a-3p			
hsa-miR-199a-5p			
hsa-miR-214			
hsa-miR-221*			hsa-miR-221*
hsa-miR-29b-1*			
		hsa-miR-335	
hsa-miR-369-5p		hsa-miR-411*	
	hsa-miR-421		
hsa-miR-455-3p	hsa-miR-485-3p		
		hsa-miR-503	
		hsa-miR-563	
hsa-miR-584		hsa-miR-652	
		hsa-miR-886-5p	
		hsa-miR-933	



Gènes cibles  
 ↓  
 4'MEC: 2823  
 4'MEC7G: 12049  
 EC4S: 2986

Pathways analyses  
 KEGG



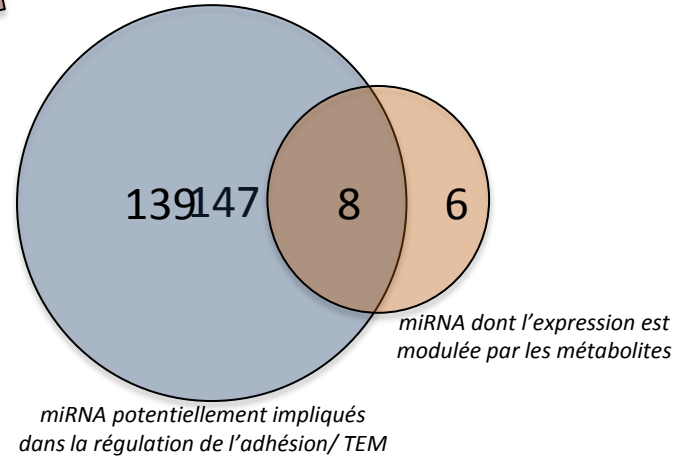
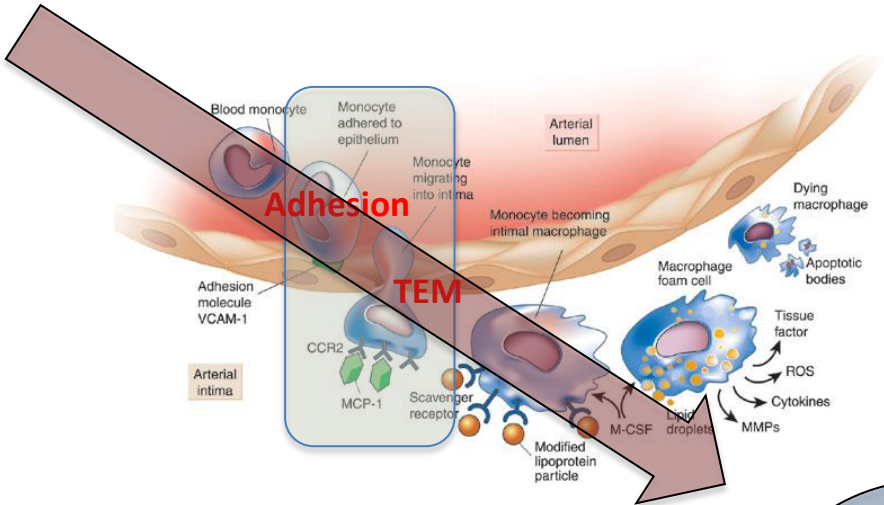
Les gènes cibles potentiels des miRNA sont impliqués dans les voies cellulaires similaires

Les voies cellulaires les plus représentées sont impliquées dans la régulation des processus de l'adhésion des monocytes et de leur migration transendothéliale

# IDENTIFICATION DES GÈNES ET DES PROCESSUS CELLULAIRES CIBLES DES miRNAs

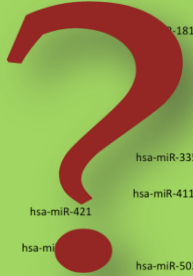
**miRWalk** The Database on Predicted and Validated microRNA Targets

Predicted Targets	Validated Targets	Documentation	Disclaimer	Contact
<a href="#">Predicted Targets</a>	<a href="#">Validated Targets</a>	<a href="#">Documentation</a>	<a href="#">Disclaimer</a>	<a href="#">Contact</a>



# IMPACTE DES miARNs SUR LES GÈNES CIBLES

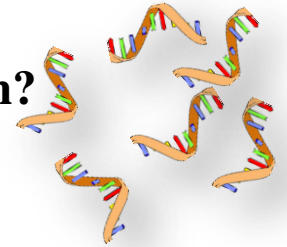
*miRNA induit une dégradation de l'ARNm ou inhibe la synthèse protéique*



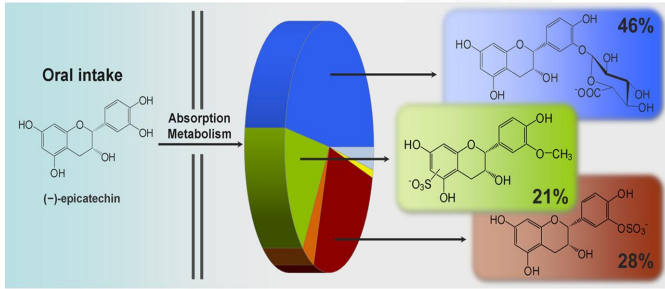
± TNF	M4'EC/+TNF	M4'EC7G/+TNF	EC4'S/+TNF
hsa-miR-146a			
hsa-miR-155			
			hsa-miR-181a*
			hsa-miR-181d
hsa-miR-195			
hsa-miR-199a-3p			
hsa-miR-199a-5p			
hsa-miR-214			
hsa-miR-221*			hsa-miR-221*
hsa-miR-29b-1*			
hsa-miR-369-5p		hsa-miR-335	
	hsa-miR-421	hsa-miR-411*	
hsa-miR-455-3p	hsa-miR-455-3p		
		hsa-miR-503	
		hsa-miR-563	
hsa-miR-584			
		hsa-miR-652	
		hsa-miR-886-5p	
		hsa-miR-933	



**Stabilité des ARNm?**



# IMPACT DES METABOLITES SUR L'EXPRESSION DES GÈNES

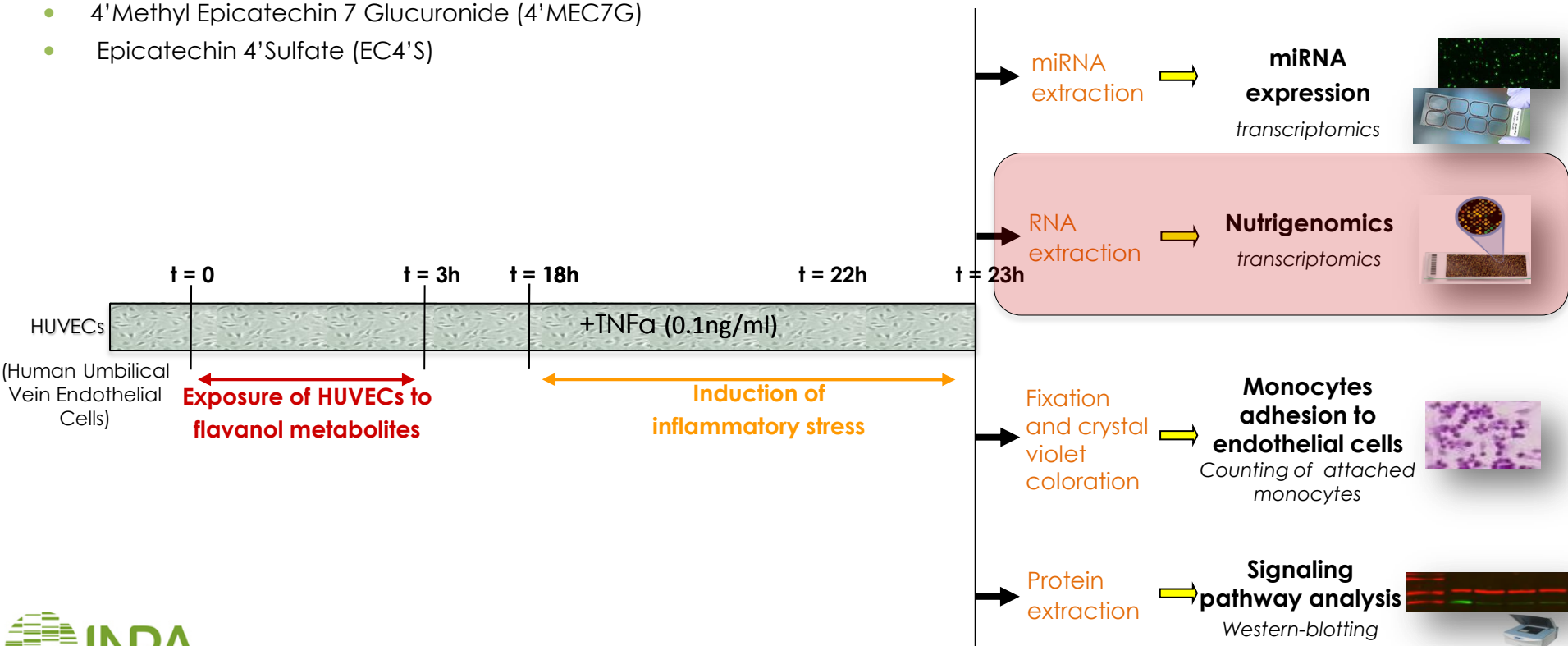


## Métabolites de flavanols:

- concentrations : 0.2 – 2  $\mu\text{M}$
- temps d'exposition: 3 h

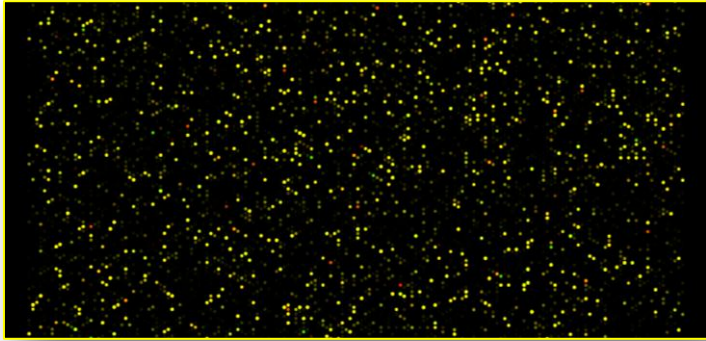
## Métabolites:

- 4'Methyl Epicatechin (4'MEC)
- 4'Methyl Epicatechin 7 Glucuronide (4'MEC7G)
- Epicatechin 4'Sulfate (EC4'S)

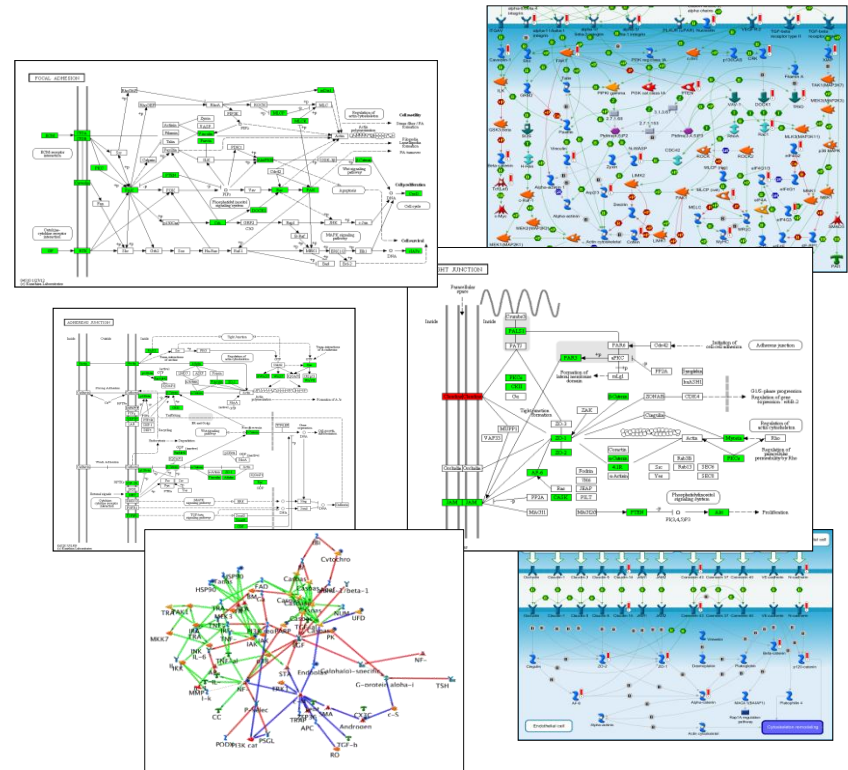
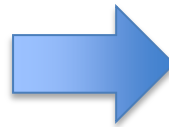




# IMPACT DES METABOLITES SUR L'EXPRESSION DES GÈNES

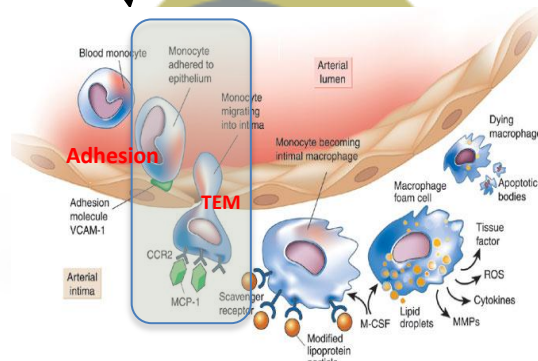
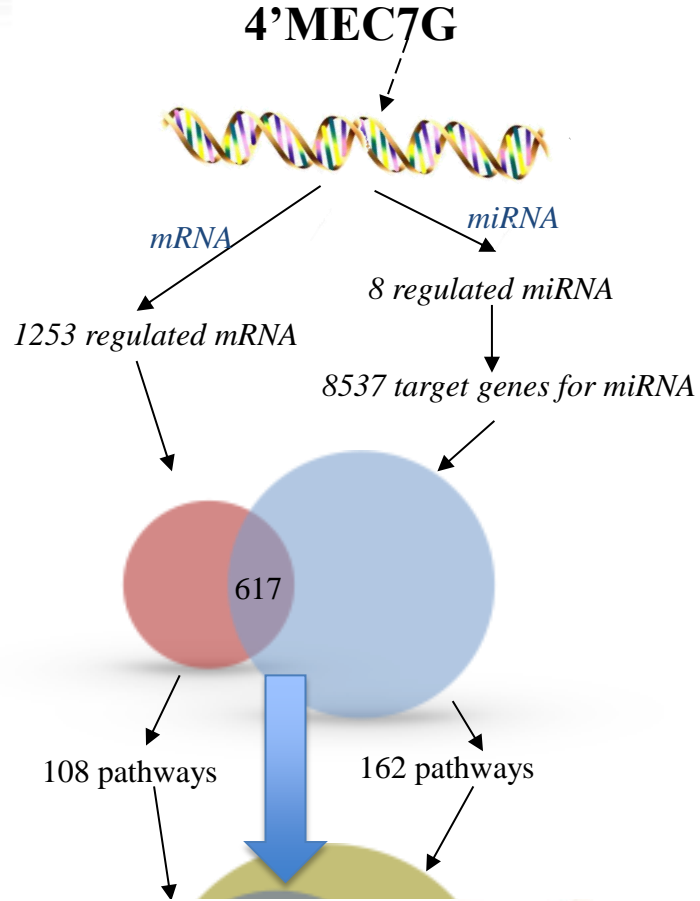


Métabolites de flavanols modulent l'expression de plusieurs centaines de gènes dans les cellules endothéliales



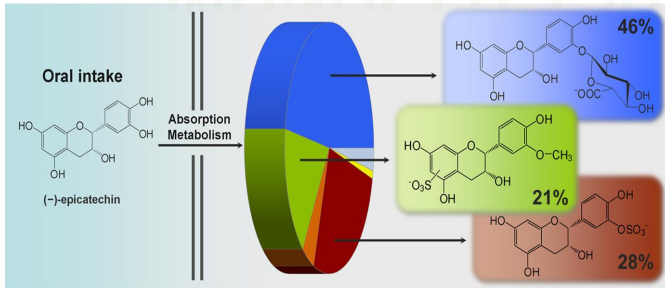
Les gènes différentiellement exprimés sont impliqués dans la régulation de différents processus cellulaires

# COMPARAISON ENTRE LES GÉNESCIBLES DES miARNs ET LES GÈNES DIFFÉRENTIELLEMENT EXPRIMÉS



*Gènes cibles des miARN et des gènes différentiellement exprimés sont impliqués dans les processus cellulaires similaires*

# IMPACT DES METABOLITES SUR L'ADHÉSION DES MONOCYTES SUR LES CELLULES ENDOTHÉLIALES

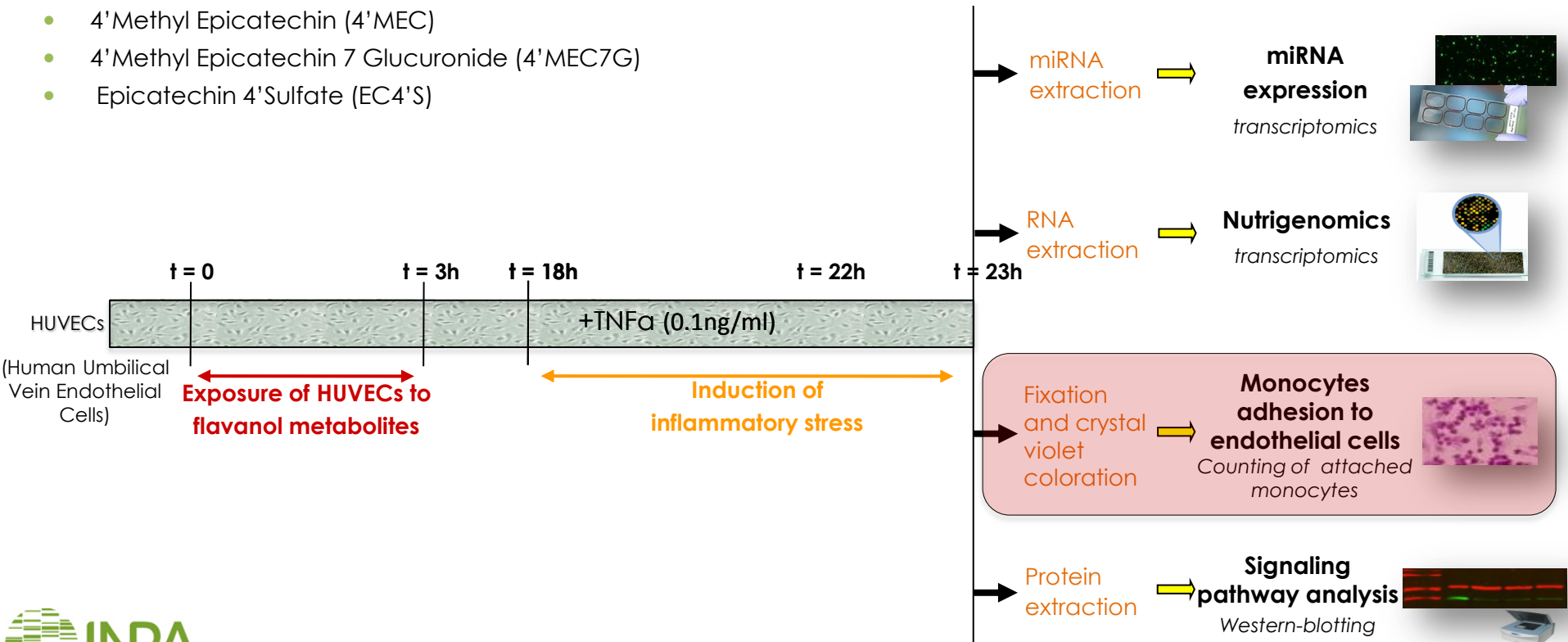


## Métabolites de flavanols:

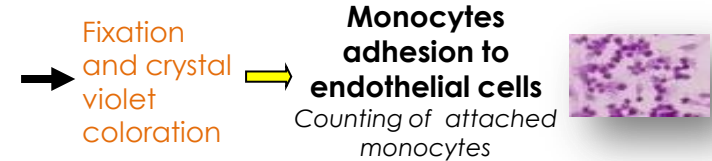
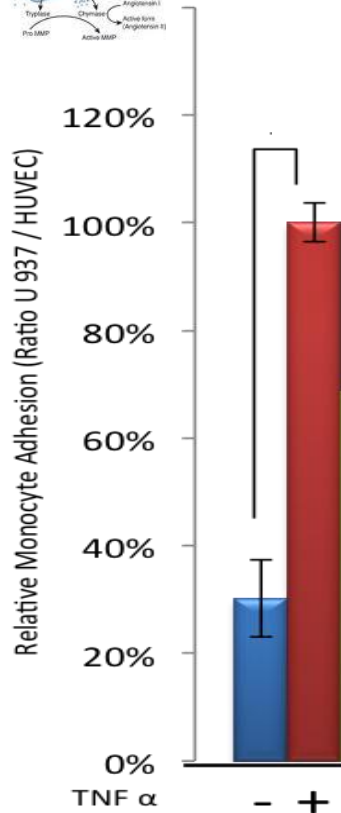
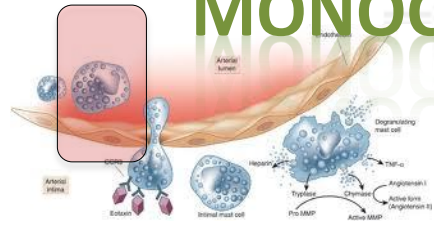
- concentrations : 0.2 – 2  $\mu\text{M}$
- temps d'exposition: 3 h

## Métabolites:

- 4'Methyl Epicatechin (4'MEC)
- 4'Methyl Epicatechin 7 Glucuronide (4'MEC7G)
- Epicatechin 4'Sulfate (EC4'S)



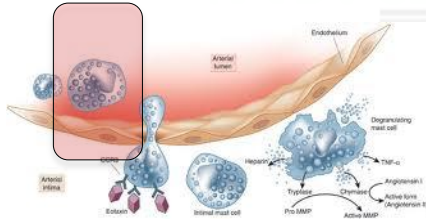
# IMPACT DES METABOLITES SUR L'ADHÉSION DES MONOCYTES SUR LES CELLULES ENDOTHÉLIALES



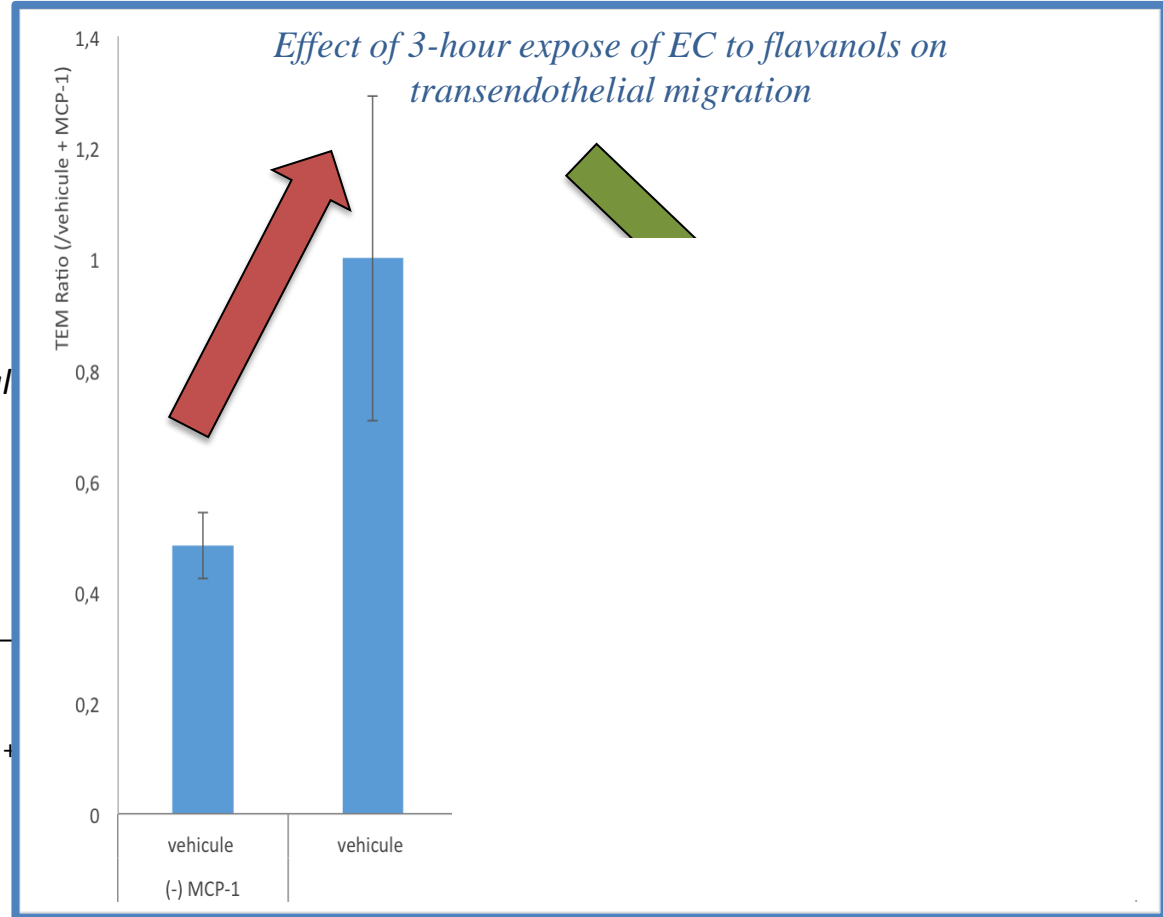
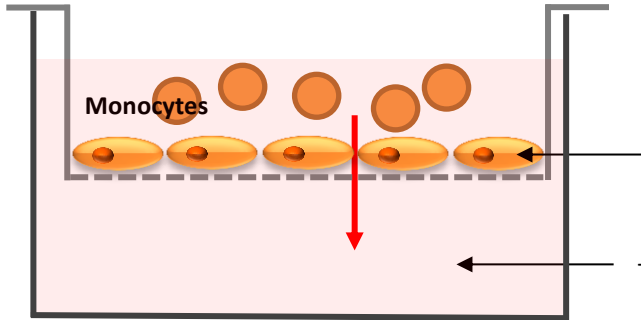
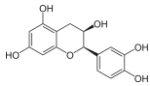
**Métabolites de flavanols diminuent l'adhésion des monocytes à endothélium**



# IMPACT DES METABOLITES SUR LA MIGRATION TRANSENDOTHELIALE



Modèle in-vitro de la migration transendothéliale



**L'exposition des cellules endothéliales aux polyphénols peut diminuer la migration transendothéliale des monocytes**

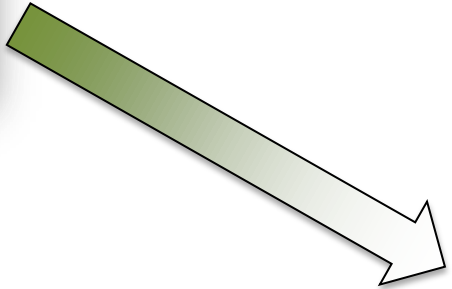
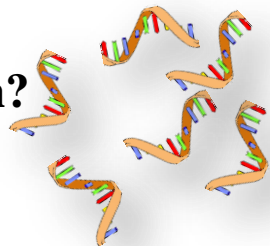
# IMPACTE DES miARNs SUR LES GÈNES CIBLES

*miRNA induit une dégradation de l'ARNm ou inhibe la synthèse protéique*

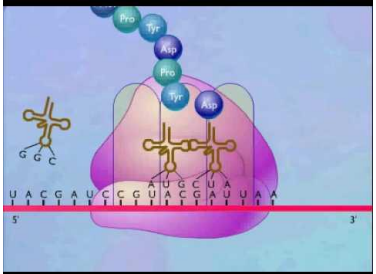
± TNF	M4'EC/+TNF	M4'EC7G/+TNF	EC4'S/+TNF
hsa-miR-146a			
hsa-miR-155			
			hsa-miR-181a*
			hsa-miR-181d
hsa-miR-195			
hsa-miR-199a-3p			
hsa-miR-199a-5p			
hsa-miR-214			
hsa-miR-221*			
hsa-miR-29b-1*			
			hsa-miR-221*
hsa-miR-369-5p			
			hsa-miR-335
			hsa-miR-411*
hsa-miR-455-3p			
			hsa-miR-503
			hsa-miR-563
hsa-miR-584			
			hsa-miR-652
			hsa-miR-886-5p
			hsa-miR-933



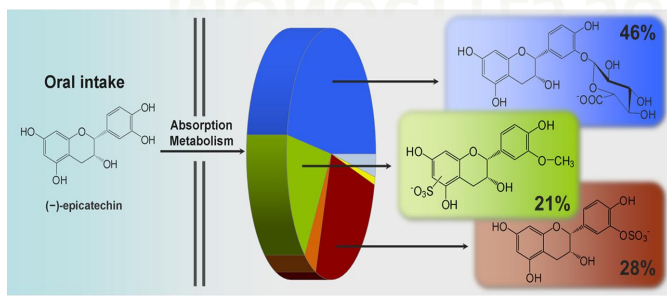
**Stabilité des ARNm?**



**Synthèse des protéines?**



# IMPACT DES METABOLITES SUR L'ADHÉSION DES MONOCYTES SUR LES CELLULES ENDOTHÉLIALES

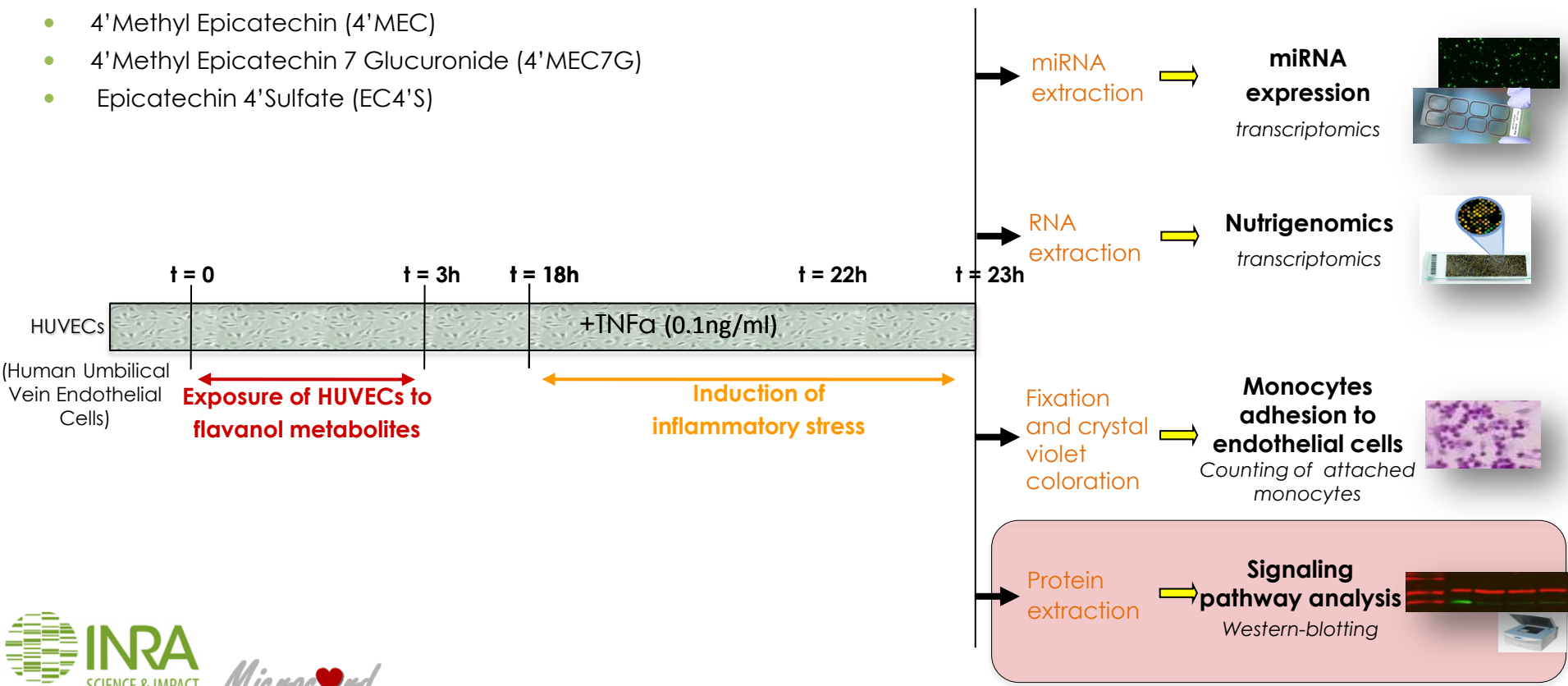


## Métabolites de flavanols:

- concentrations : 0.2 – 2  $\mu\text{M}$
- temps d'exposition: 3 h

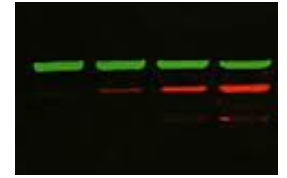
## Métabolites:

- 4'Methyl Epicatechin (4'MEC)
- 4'Methyl Epicatechin 7 Glucuronide (4'MEC7G)
- Epicatechin 4'Sulfate (EC4'S)

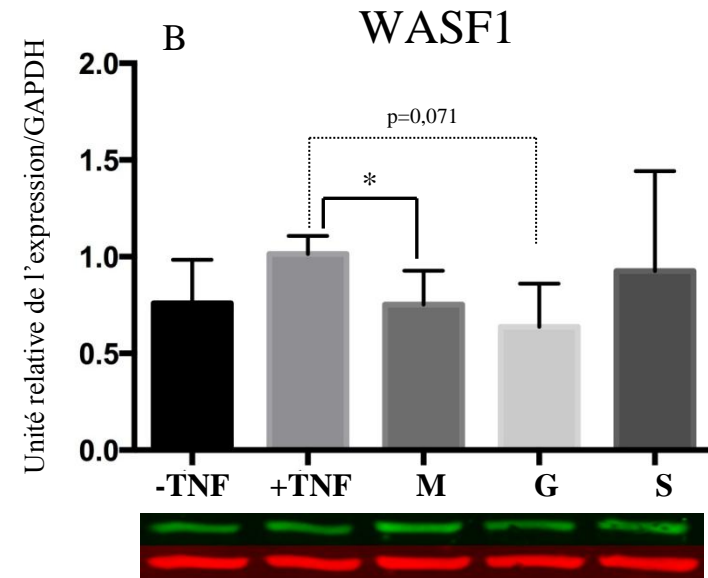
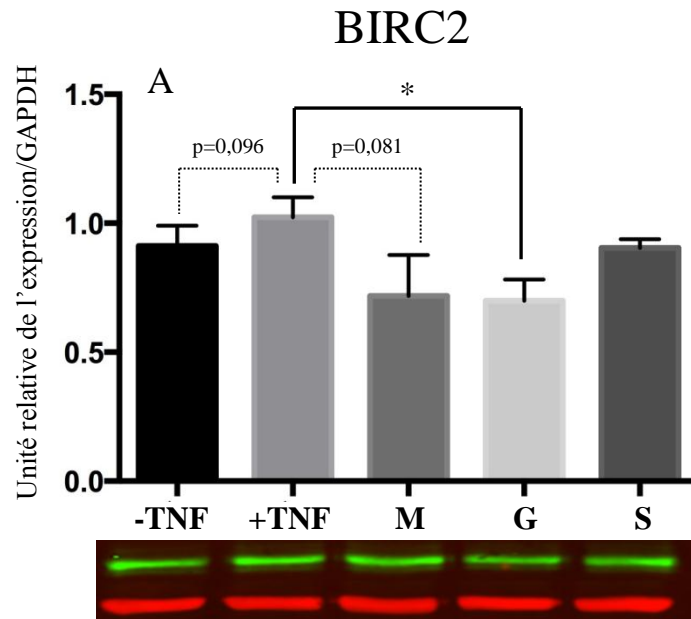


# L'IMPACT DE LA MODULATION DE L'EXPRESSION DES miARNs SUR L'EXPRESSION PROTÉIQUE

- APPROCHE CIBLÉE -



Parmi des gènes cibles potentiels des miR421, miR411\*, miR181-d, miR221\* impliqués dans la régulation de l'adhésion et transendothélial migration sont BIRC2 et WASF1

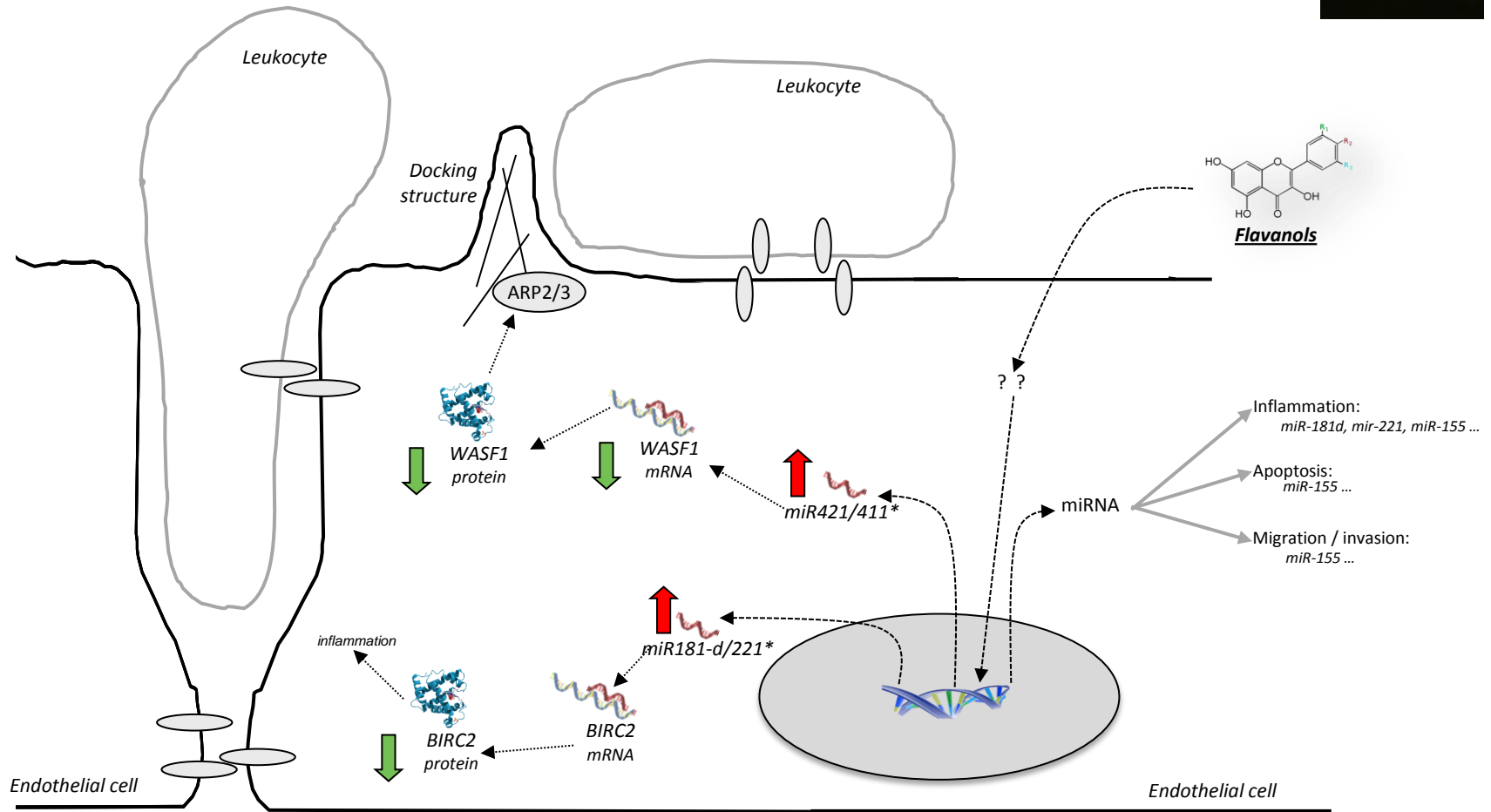
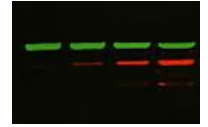


Métabolites de flavanols diminuent l'expression protéiques des gènes BIRC2

WASF1

# L'IMPACT DE LA MODULATION DE L'EXPRESSION DES miARNs SUR L'EXPRESSION PROTÉIQUE

- INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES -

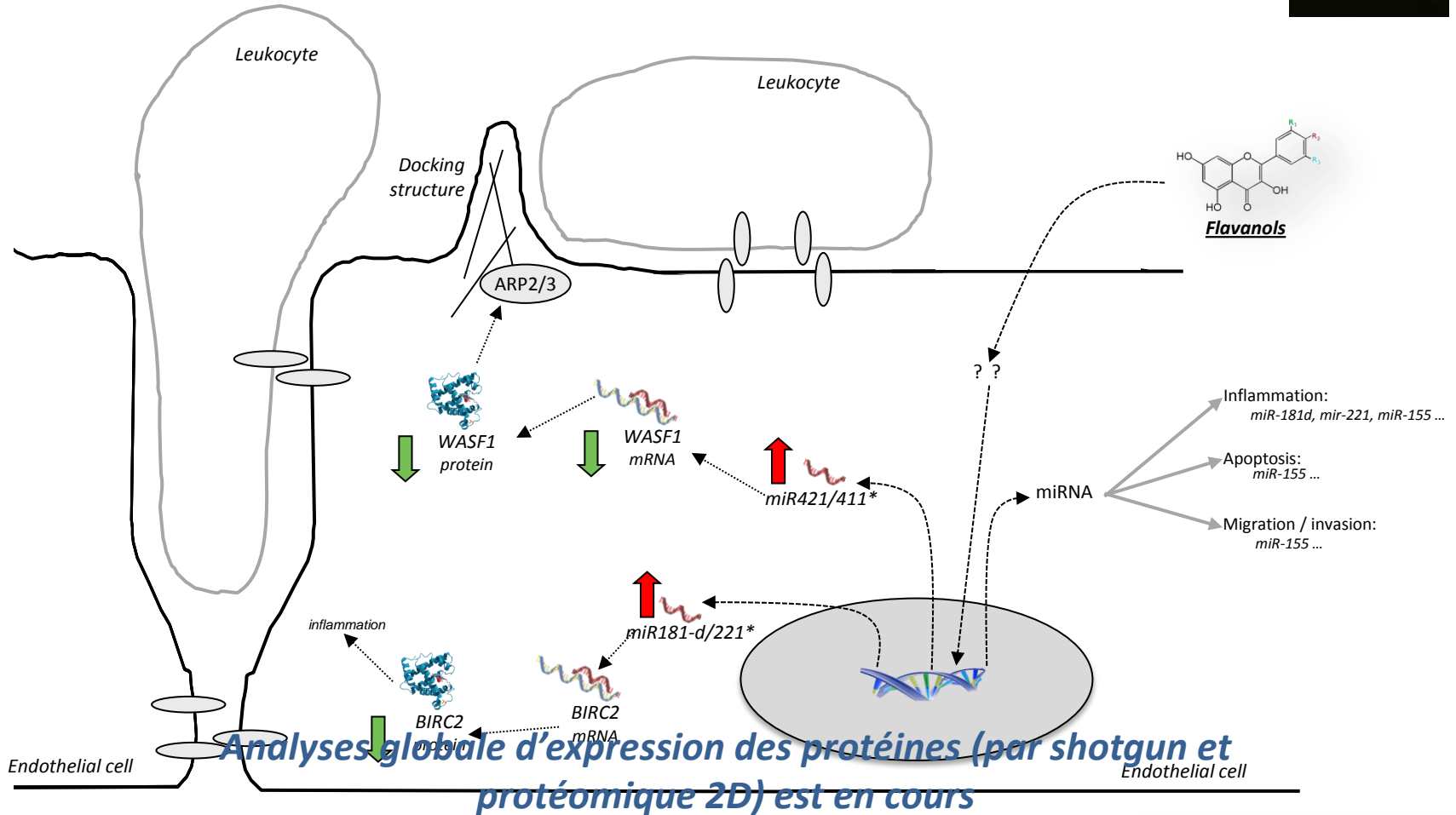
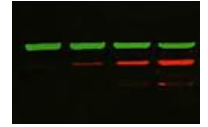


miARN diminuent l'expression de la protéine BIRC2 en inhibant la traduction et celle de WASF1 en induisant la dégradation de l'ARNm

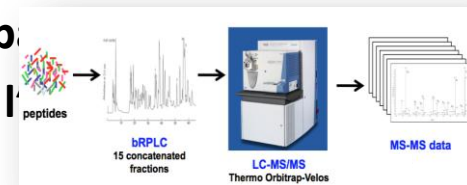


# L'IMPACT DE LA MODULATION DE L'EXPRESSION DES miARNs SUR L'EXPRESSION PROTÉIQUE

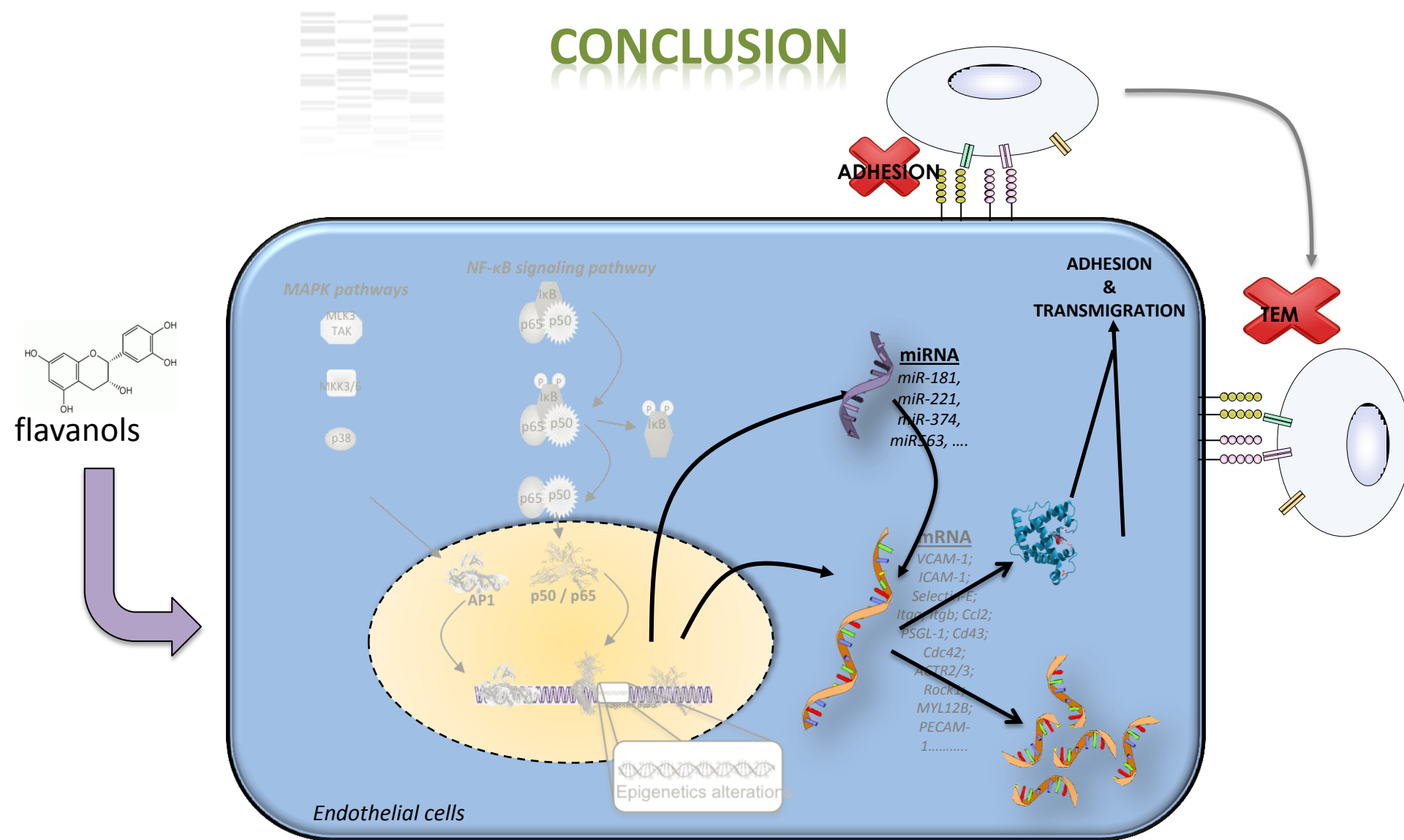
- INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES -



miARN diminuent l'expression de la protéine en inhibant l'expression de la protéine et celle de WASF1 en induisant la



# CONCLUSION



Les miRNAS sont des régulateurs posttranscriptionnels des gènes impliqués dans la médiation des effets des flavanols sur les processus d'adhésion et de migration transendothéliale responsables des dysfonctionnements vasculaires précoces

# Remerciement

*Micro*♥*cord*

Christine Morand

Andrzej Mazur

Laurent-Emmanuel Monfoulet

Nicolas Gérard

Dominique Bayle

Sylvie Mercier

**Plateforme transcriptomique**

PLATE-FORME D'EXPLORATION  
DU METABOLISME :  
des gènes aux métabolites

Céline Boby

Christine Leroux

Anne de la Foye

