



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **30 octobre 2020**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur WEDEKIND Roland**

Titre de la thèse : « *Une exploration métabolomique de la consommation de viande transformée : Biomarqueurs nutritionnels et effets métaboliques* »

## Résumé



Les viandes transformées sont des produits fumés, salés, fermentés ou transformés par d'autres procédés qui visent à améliorer les propriétés organoleptiques ou la durée de conservation de la viande. La diversité des procédés de fabrication en fait un groupe alimentaire très hétérogène caractérisé par des profils chimiques variés. Différentes études épidémiologiques ont montré que la consommation de viande rouge et de viande transformée était associée à un risque plus élevé de développer certaines maladies comme le cancer colorectal ou le diabète de type II. La viande transformée a été classée cancérogène avéré (groupe 1) par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC). Des composés carcinogènes comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les amines hétérocycliques ou les composés N-nitrosés formés lorsque la viande est grillée, fumée, chauffée ou conservée avec des nitrates ou des nitrites, pourrait expliquer au moins en partie ces effets. Néanmoins, les mécanismes par lesquels ces composés agissent ne sont pas encore complètement connus.

Pour mieux comprendre le rôle de la viande transformée dans le développement du cancer colorectal et définir de meilleures stratégies de prévention, il est nécessaire d'étudier les effets des différents types de viande transformée dans des études épidémiologiques. Ceci requiert de caractériser précisément la consommation des différents types de viande. L'estimation de la consommation d'aliments dans les études épidémiologiques repose principalement sur l'usage de questionnaires alimentaires limités dans le nombre d'aliments considérés, et sujets à un biais de rappel des participants. L'utilisation de biomarqueurs de l'alimentation pour quantifier plus précisément la consommation alimentaire dans les études épidémiologiques est donc un outil prometteur. Aucun biomarqueur de la consommation de viande transformée n'a été proposé à ce jour.

La métabolomique est l'étude globale des variations de profils métaboliques constitués de toutes les molécules de petite taille (<1000 Da) sous l'effet d'un stimulus. La métabolomique non-ciblée basée sur la spectroscopie de masse couplée à la chromatographie liquide permet de détecter plusieurs milliers de signaux

chimiques dans des échantillons de sang ou d'urine. Elle est devenue une approche importante pour identifier des biomarqueurs de consommation alimentaire dans des études d'intervention ou d'observation. La métabolomique permet également d'étudier les effets de l'alimentation sur le métabolisme endogène. Par exemple, plusieurs études ont montré que la consommation de viande était associée à des concentrations élevées de certaines acylcarnitines dans le sang et l'urine. Des concentrations élevées de ces molécules, qui jouent un rôle important dans le métabolisme des acides gras, ont été associées à l'obésité, au diabète de type II et à un risque élevé de cancer.

L'objectif de cette thèse était donc (I) d'identifier des nouveaux biomarqueurs de la consommation de viande transformée, et de (II) mieux comprendre l'impact de la consommation de viande sur les taux d'acylcarnitines dans le sang et l'urine.

La première partie de cette thèse a permis d'analyser 33 échantillons de viandes digérées *in vitro* (viandes transformées ou non, 10 types différents) via une approche métabolomique non-ciblée basée sur la chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse. L'analyse des profils chimiques globaux a mis en évidence différents clusters d'échantillons de viande : les produits transformés comme le jambon étaient plus proches de viandes non-transformées que ne l'étaient les saucisses et saucissons, qui formaient un cluster à part. Les saucisses frites et les saucissons présentaient tous deux des taux élevés de piperamides (alcaloïdes provenant du poivre). Le syringol et ses dérivés, constituants de la fumée de bois, étaient quant à eux spécifiques des produits issus de viandes fumées. Enfin, certaines amines biogènes étaient spécifiques des produits fermentés.

La deuxième partie de cette thèse visait à identifier des biomarqueurs de la consommation de différents types de viandes transformées. Pour cela, une étude interventionnelle croisée randomisée a été réalisée sur 12 sujets qui ont consommé pendant 3 jours consécutifs cinq types de viande ou substitut : trois viandes transformées (bacon, hot-dogs, saucisson), une viande non-transformée (porc frit), et un aliment substitut (tofu) comme témoin. Des échantillons d'urine et de plasma ont été collectés lors des 5 périodes d'intervention. Les échantillons ont été analysés en utilisant l'approche métabolomique non-ciblée. De plus fortes teneurs en métabolites conjugués de syringol et de ses dérivés ont été mesurées dans les échantillons d'urine et de plasma collectés après la consommation de hot dogs, par comparaison à ceux collectés après consommation de porc non-transformé. De la même manière, de plus fortes teneurs en piperamides ont été mesurées après la consommation de saucisson, par comparaison au porc non-transformé. Dans un deuxième temps, les biomarqueurs identifiés dans l'étude interventionnelle ont été testés pour réplication dans des échantillons d'urine (n = 474) et de sérum (n = 397) issus d'une étude transversale nichée dans la cohorte prospective *European Prospective Investigation into Cancer and nutrition* (EPIC). Les sujets de l'étude EPIC étaient domiciliés en France, Italie, Allemagne et Grèce. Leur consommation alimentaire (habituelle et récente) était établie via des questionnaires de fréquence de consommation des aliments et des rappels nutritionnels de 24 heures (24HDR). Nous avons observé que les teneurs en métabolites conjugués de syringol et de ses dérivés dans les échantillons d'urine étaient associés à la consommation de viande fumée. Ces métabolites ont montré un bon pouvoir **prédictif** (AUC : 0.79) pour la **prédiction** de la consommation habituelle de viande fumée. De plus, les alcaloïdes du poivre et leurs métabolites, ont été retrouvés dans

l'urine et étaient associés à la consommation récente de saucisses. Ces métabolites également retrouvés dans le sérum, étaient associés à la consommation habituelle de saucisses ou viande transformée. L'analyse des associations avec tous les principaux groupes d'aliments a montré que trois de ces métabolites des alcaloïdes du poivre présents dans le sang étaient systématiquement associés à la consommation de saucisses, mais aussi et dans une moindre mesure à la consommation de champignons et de vin, ce qui pourrait signifier un risque de confusion par ces deux dernières aliments dans de futures études d'associations avec le risque de cancer.

Enfin, la troisième partie de cette thèse avait pour objectif d'étudier l'impact de la consommation de viandes rouges et transformées sur les taux d'acylcarnitines dans le sang et l'urine. Nous avons pu évaluer la corrélation entre la consommation de viande et la teneur dans le sang et l'urine d'une large variété d'acylcarnitines, incluant des acylcarnitines avec des groupes acyles saturés, insaturés et oxydés. Dans l'urine, nous avons observé que la présence de plusieurs acylcarnitines à chaînes courtes et moyennes était élevée après la consommation de porc, en comparaison à celle de tofu dans l'étude interventionnelle. Onze de ces acylcarnitines étaient également associées à la consommation de viande dans l'étude transversale issue d'EPIC. Dans le sang, nous avons observé que l'acylcarnitine C18:0 était associée à la consommation de viande à la fois dans l'étude interventionnelle et dans l'étude transversale. Enfin, aucune association n'a été observée entre la consommation de poulet et les concentrations d'acylcarnitines dans l'étude transversale.

Dans l'analyse des viandes digérées *in vitro* (première partie de la thèse), plusieurs métabolites se sont avérés être spécifiques de méthodes de transformation ou de l'ajout d'ingrédients particuliers (poivre), ce qui rend pertinente l'utilisation de ces métabolites comme biomarqueurs de consommation de ces aliments. Dans l'étude interventionnelle (deuxième partie), des métabolites du syringol ont été identifiés dans l'urine, comme pouvant être des biomarqueurs candidats de la consommation de viandes fumées. Les concentrations dans le sérum étaient en revanche trop faibles pour permettre être détectées dans cette matrice et pour évaluer la spécificité de tels biomarqueurs dans le sang. D'autres études avec des méthodes analytiques plus sensibles seront nécessaires pour faire une telle évaluation.

Des métabolites issus du poivre étaient associés avec la consommation de saucisses dans des échantillons de sang et d'urine de l'étude interventionnelle et de l'étude transversale. Ils pourraient donc être utilisés comme biomarqueurs de la consommation de saucisses. L'utilisation de ces marqueurs devra être testée dans d'autres populations exposées à différents régimes alimentaires. Plusieurs études métabolomiques avaient montré dans d'autres cohortes des associations entre la piperine et le risque de développer des maladies comme le cancer. Ces associations pourront être recherchées dans la cohorte EPIC, en prêtant attention aux possibles effets confondants d'autres constituants de la viande transformée.

Les biomarqueurs identifiés dans ce travail pourraient contribuer à caractériser plus précisément la consommation de viandes fumées et de saucisses dans des études épidémiologiques. Il reste nécessaire d'identifier d'autres biomarqueurs spécifiques d'autres types de viande transformée tels que le pâté ou le boudin noir. Un autre moyen d'identifier de nouveaux biomarqueurs pertinents pourrait être d'établir des associations entre la présence de certains métabolites dans le sang ou l'urine et la consommation de viandes

transformées spécifiques, dans des études transversales utilisant à la fois des questionnaires plus détaillés sur les viandes transformées et une taille d'échantillons plus grande que celle de l'étude transversale EPIC.

Enfin, nous avons vu que de plus fortes concentrations d'acylcarnitines ont été mesurées dans l'urine et le sang après consommation de viande rouge et de viande transformée. Cela indique que ces aliments ont un effet sur cette voie importante du métabolisme des acides gras. Malgré les diverses approches expérimentales utilisées dans cette thèse (étude d'intervention et étude observationnelle, échantillons d'urine et de sang, grande variété des acylcarnitines détectées), il n'a pas été possible de déterminer précisément si l'augmentation des concentrations d'acylcarnitines résulte de la carnitine ou des lipides présents dans la viande, ou s'il s'agit d'un effet de la consommation de viande sur le métabolisme énergétique de l'hôte. Une étude interventionnelle avec du poulet et de la viande rouge pourrait également confirmer les résultats de l'étude transversale EPIC dans laquelle aucune association entre la consommation de poulet et la teneur en acylcarnitines dans le sang et l'urine n'a été trouvée. Cela pourrait aider à comprendre pourquoi la consommation de poulet n'est pas associée aux mêmes risques de développer des maladies comme le cancer que la consommation de viande rouge.

Cette thèse a donc permis d'identifier de nouveaux biomarqueurs de la consommation de viandes fumées (métabolites du syringol) et de saucisses (piperamides). Ils pourraient aider à quantifier la consommation de ces produits dans des études épidémiologiques. Nous avons également pu montrer l'impact de la consommation de viandes rouges et transformées sur le taux d'acylcarnitines, qui sont d'importants métabolites impliqués dans le métabolisme énergétique.