

Effet de l'huile d'argan et des lipopolysaccharides sur la prolifération des peroxysomes dans les fibroblastes P-NALD.

El Kamouni S.^{1,2}, El Kabbaj R.^{1,2}, Gresti J.³, Andreoletti P.², El Hajj H.², Latruffe N.¹, El Kabbaj M S.⁴, Vamec J.⁵, Lizard G.², Nasser B¹ And Cherkaoui-Malki M. ².

1. Laboratoire de biochimie et neurosciences faculté des sciences et techniques Université Hassan I,

2. Université de bourgogne, Laboratoire de biochimie du Peroxysome, Inflammation et métabolisme lipidique, BioperoxIL EA 7270 Dijon F-21000, France,

3. Université de bourgogne, Centre de recherche INSERM, UMR866, 6 Boulevard Gabriel, 21000, Dijon, France,

4. Laboratoire de recherche lipoprotéines et athéroscléroses, Faculté des Sciences Ben Msik, Casablanca, Maroc,

5. Inserm, biochimie et biologie moléculaire, HMNO, CBP, CHRU Lille, 59037 Lille, France.

RESUMÉ

Mots clés :

P-NALD, ACOX1, peroxysome, biogenèse, proliférateur, β -oxydation, Argane

Dans notre étude nous avons caractérisé les effets de l'huile d'argan sur un modèle de fibroblaste d'un patient atteint de la pseudo-adrénoleucodystrophie néonatale P-NALD qui est une maladie peroxysomale due à la déficience de l'acyl-coenzyme A oxydase 1 (ACOX1) peroxysomale ce qui conduit à une altération de la voie de la β -oxydation peroxysomale des acides gras. En effet, dans les fibroblastes P-NALD, la biogenèse des peroxysomes est altérée. Cependant, la prolifération des peroxysomes et la β -oxydation peroxysomale, sont modulées par des ligands synthétiques de structures diverses appelés proliférateurs de peroxysomes et par plusieurs acides gras saturés et polyinsaturés présents dans l'huile d'argan.

Pour caractériser les effets de l'huile d'argan et du LPS sur la pseudo-adrénoleucodystrophie néonatale, nous avons traité des fibroblastes P-NALD par l'huile d'argan ou le LPS pendant 48h et évalué les variations de la prolifération des peroxysomes par immunomarquage de la protéine L-PBE (enzyme qui catalyse la deuxième étape de la β -oxydation peroxysomale). De plus, nous avons estimé également l'expression de facteur de transcription PPAR α et son coactivateur PGC-1 α ainsi que leurs gènes cibles L-PBE et PEX11 α (peroxine impliqué dans la biogenèse du peroxysome). Parallèlement, nous avons évalué le niveau d'inflammation par la mesure de l'expression du marqueur pro-inflammatoire IL-6.

Nos résultats montrent que le traitement des fibroblastes P-NALD par l'huile d'argan induit la prolifération des peroxysomes indépendamment de l'activation à la fois du récepteur nucléaire PPAR α et son coactivateur PGC-1 α ce qui montre l'existence d'autre voie activée par l'huile d'argan. contrairement au traitement par le LPS qui induit la prolifération des peroxysomes accompagnée d'une activation de la transcription du récepteur nucléaire PPAR α et son coactivateur PGC-1 α Ainsi qu'une augmentation de l'inflammation élucidée par l'induction de l'IL-6. Cependant, l'ajout de l'huile d'Argan n'a pas d'effet sur les modulations causées par le LPS.

Introduction :

L'acyl-CoA oxydase 1 (ACOX1) est l'enzyme qui catalyse la première étape de la voie classique de la β -oxydation peroxysomale. Cette voie catabolise exclusivement les acides gras à très longue chaîne (AGTLC). Chez l'homme, la déficience en ACOX1 est à l'origine de la pseudo-adrénoleucodystrophie néonatale (P-NALD), une maladie neurodégénérative rare caractérisée par une accumulation des AGTLC dans le plasma et les tissus (l'hépatomégalie), un retard du développement moteur et une démyélinisation de la matière blanche cérébrale. La déficience en ACOX1 est aussi caractérisée par une diminution en nombre et une augmentation en taille des peroxysomes avec un niveau de β -oxydation peroxysomale fortement réduit. Nous avons émis l'hypothèse que l'activation du PPAR α et PGC1 par l'huile d'argan, riche en acides gras insaturés principalement l'acide oléique (18:1) et l'acide linoléique (18:2), peut conduire à la prolifération peroxysomale et ainsi augmenter l'activité de l'ACOX1.

Matériels et méthodes :

1 - Les huiles :

Deux huiles ont été utilisées au cours de cette étude, celles de l'argan et de l'olive. Les huiles ont été fournies par une coopérative (citer la coopérative) au nord du Maroc.

2 - Mise en culture :

Les fibroblastes sont mises en culture dans des boîtes de pétri de 50 cm² en présence de 15ml du milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) additionné de :

- Sérum de veau fœtal (SVF) 10%
- Glutamine 1%
- Antibiotique 1%

Après homogénéisation, les boîtes de pétri sont incubées à 37°C, en atmosphère humide contenant du CO₂ à 5%.

3- Immunomarquage des cellules :

L'immunomarquage des cellules a été effectuée avec l'anticorps primaire (anti-L-PBE) et Alexa fluor 488 comme anticorps secondaire. Les cellules ont été observées par microscopie à fluorescence.

4 - Analyses statistiques :

Les valeurs ont été normalisées au contrôle et ont été considérées comme statistiquement significatif (t-test de Student) à P < 0,05.

Comparaison des acides gras monoinsaturés (MUFA)

Tableau 1 : La composition en acides gras de l'huile d'argan à partir des données publiées et à partir de cette étude par rapport à l'huile d'olive. Les données sont présentées en% de moles.

Acide gras	Huile d'argan	Huile d'olive
	Publié ^a	Publié ^a
C14:0	0.17±0.017	-
C16:0	12.72±0.07	11.66
C16:1	0.18±0.046	0.89
C18:0	5.45±0.25	3.02
C18:1	45.97±0.76	76.89
C18:2	34.75±1.02	6.13

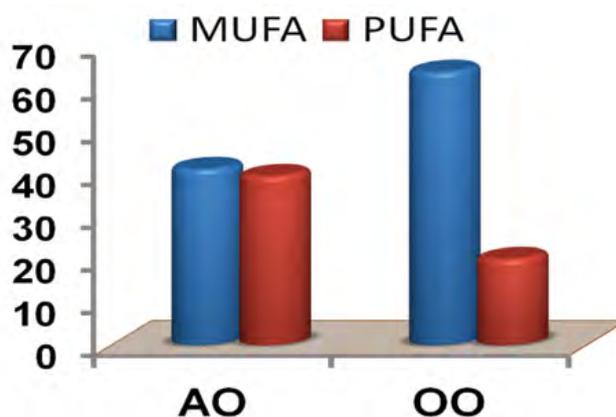


Figure 1 : L'huile d'argan (AO) à une teneur équilibrée dans les acides gras mono et polyinsaturés contrairement à l'huile d'olive (OO).

par rapport acides gras polyinsaturés (PUFA) dans l'huile d'argan et l'huile d'olive. Indice d'insaturation (UI) est calculé en moles additionnées pour 100 mol multiplié par le nombre de doubles liaisons.

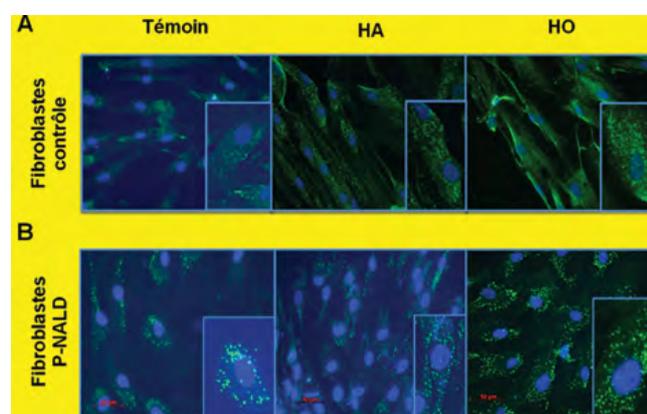


Figure 2 : Le traitement par l'huile d'argan et l'huile d'olive induit une prolifération peroxysomale chez les fibroblastes P-NALD.

Les fibroblastes contrôles (A) et les fibroblastes P-NALD (déficiency en ACOX1, B) ont été traités avec de l'huile d'argan (HA, 56ng.ml-1) et de l'huile d'olive (HO, 56ng.ml-1) pendant 48h. L'immunomarquage par L-PBE a été effectuée afin de visualiser les peroxysomes.

Conclusion :

Dans cette étude, les fibroblastes contrôles et les fibroblastes P-NALD (déficiency en ACOX1) ont été traités avec de l'huile d'argan et de l'huile d'olive, deux huiles végétales avec un indice d'insaturation différent. Les fibroblastes P-NALD sont caractérisés par une diminution du nombre de peroxysomes, avec une forte augmentation de sa taille. Les deux traitements avec de l'huile d'argan et l'huile d'olive montrent une prolifération peroxysomale révélée par immunofluorescence en utilisant des anticorps anti-L-PBE. Cette prolifération est très remarquable chez les fibroblastes P-NALD traités avec de l'huile d'argan.

Remerciements :

Ce travail a été soutenu par le conseil régional de la Bourgogne, l'Action Intégrée Franco-Marocain (CMIFM, AIMA/10/238, EGIDE), le programme SSP Volubilis/Toubkal et le Ministère des Affaires Etrangères.

Références bibliographiques :

Riad El Kebbaj, Soufiane El Kamouni, Hammam I. El Hajj, Pierre Androletti, Joseph Gresti, Norbert Latruffe, M'hammed Saïd El Kebbaj, Joseph Vamecq, Gérard Lizard, Boubker Nasser and Mustapha Cherkaoui-Malki (2012) «Modulation of peroxisomes abundance by argan oil and lipopolysaccharides in acyl-CoA oxidase 1-deficient fibroblasts ». Health 05, 62-69.