



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **17 novembre 2017**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **ACHAINTRE David**

Titre de la thèse : « Développement d'une nouvelle méthode analytique pour le dosage des polyphénols dans les fluides biologiques et application à l'épidémiologie du cancer dans la cohorte EPIC »



## Résumé

Les polyphénols sont un groupe de métabolites secondaires communément trouvés dans l'alimentation et plus de 500 composés différents sont retrouvés dans plus de 450 denrées alimentaires. Au cours des 30 dernières années, de nombreuses études in vitro et chez l'animal ont suggéré un rôle bénéfique des polyphénols dans des maladies chroniques comme le cancer 1-3. Les études épidémiologiques basées majoritairement sur des questionnaires alimentaires sont cependant plus contradictoires 4-6. De nouvelles méthodes sont requises pour quantifier un plus grand nombre de composés dans une même série afin de réaliser des études épidémiologiques à grande échelle.

Le but de cette thèse est de développer des méthodes de quantification d'une large gamme de polyphénols représentatifs des principales classes et sous-classes de polyphénols dans le sang et urine, d'évaluer les excrétions urinaires de polyphénols et leurs associations avec la consommation d'aliments source dans une population Européenne, d'évaluer les concentrations dans le sang dans une étude cas-témoin sur cancer colorectal dans l'étude prospective européenne sur le cancer et la nutrition (EPIC).

Après une brève présentation des polyphénols et du cancer colorectal dans le chapitre II, une méthode originale basée sur la dilution isotopique différentielle et l'analyse en spectrométrie de masse est développée pour quantifier 38 polyphénols dans l'urine et présentée dans le chapitre III. Cette méthode est basée sur un marquage différentiel en  $^{12}\text{C}$  et  $^{13}\text{C}$  des polyphénols grâce à une dérivatisation par les isotopes du chlorure de dansyl. Différentes conditions pour l'hydrolyse des polyphénols conjugués, l'extraction et la dérivatisation des aglycones ont été évaluées et la méthode a été validée pour la mesure de 37 polyphénols.

Les niveaux d'excrétion urinaire de ces 37 polyphénols mesurés chez 475 individus de la cohorte EPIC issues de quatre pays européens sont présentés dans le chapitre IV. Une grande variabilité d'excrétion urinaire dans les quatre pays Européens a pu être montrée et des corrélations significatives avec la consommation de certains aliments

source de ces composés ont été observées suggérant l'utilisation possible de plusieurs de ces polyphénols en tant que biomarqueurs de l'alimentation.

Une méthode d'analyse pour les mêmes 37 polyphénols également basée sur la dilution isotopique différentielle est développée, validée et appliquée à 1618 échantillons dans la cohorte EPIC (chapitre V). Les changements majeurs en comparaison de la méthode sur la matrice urinaire sont essentiellement les difficultés d'hydrolyse des polyphénols conjugués et des effets de matrice importants mais réduits par la méthode de dilution isotopique.

Enfin l'étude des associations entre l'exposition aux polyphénols mesurée à l'aide des marqueurs plasmatique avec le risque de cancer colorectal a été conduite dans une étude cas-témoin nichées dans la cohorte EPIC et est présentée dans le chapitre VI. Une association inverse entre les concentrations plasmatiques d'equol, et une association positive entre l'acide homovanillique et le risque de cancer du côlon ont été trouvées.

Les résultats obtenus constituent une nouvelle base pour des applications futures dans le domaine de l'épidémiologie des polyphénols.

Mots clefs : Polyphénols, flavonoïdes, biomarqueurs, exposition, dilution isotopique différentielle, spectrométrie de masse, cancer colorectal