

Note de vulgarisation du rapport d'étude 20E5076 SUBLIO

Selon le plan d'étude D19-732-1

**Exploration de l'activité d'une eau de ville vs la même eau
hyperionisée Sublio, par une étude transcriptomique sur explants
de peau humaine *ex vivo***

- Produit testé
- **Eau de ville (Longjumeau)**
 - **Eau de ville (Longjumeau) hyperionisée
avec le système Sublio Ionic WaterBox Pro**

Donneur d'ordre **SUBLIO France**
M. Frédéric Esnault
8 rue René Coty
85018 La Roche-sur-Yon Cedex
frederic@sublio.com

Installation d'essai **BIO-EC**
1, Chemin de Saulxier
91160 Longjumeau
FRANCE
Tél : +33 (0)1 69 41 42 21
Email : info@bio-ec.fr
www.bio-ec.fr

Table des matières

ETUDE	2
PRODUITS TESTES.....	3
MATERIELS & METHODES	3
RESULTATS.....	4
1. Classification hiérarchique	4
2. Analyse en composante principale	5
3. Enrichissement des gènes induits avec l'eau hyperionisée	6
4. Enrichissement des gènes réprimés avec l'eau hyperionisée	6
CONCLUSION	7

ETUDE

Cette étude a fait l'objet d'un rapport d'étude complet et détaillé sous la référence 20E5076, remis à SUBLIO France, seul propriétaire de ces résultats.

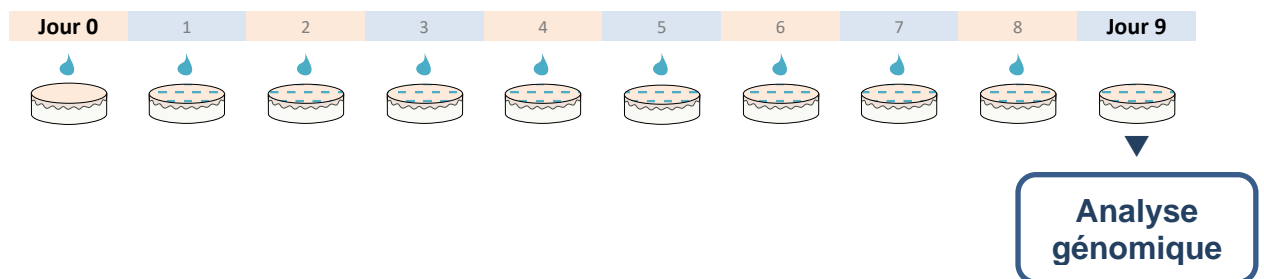
Date de début d'étude	22 janvier 2021
Date de fin d'étude technique	26 mars 2021
Partenaires sous-traitants ayant réalisé la phase génomique	Laboratoire Genex 1, Chemin de Saulxier 91160 Longjumeau

PRODUITS TESTES

- P1 Eau (ville de Longjumeau), stérilisée par filtration à 0,22µm.
- P2 Eau (ville de Longjumeau), stérilisée par filtration à 0,22µm et hyper-ionisée grâce au dispositif Sublio Ionic WaterBox *Pro* fourni par la société SUBLIO France.

MATERIELS & METHODES

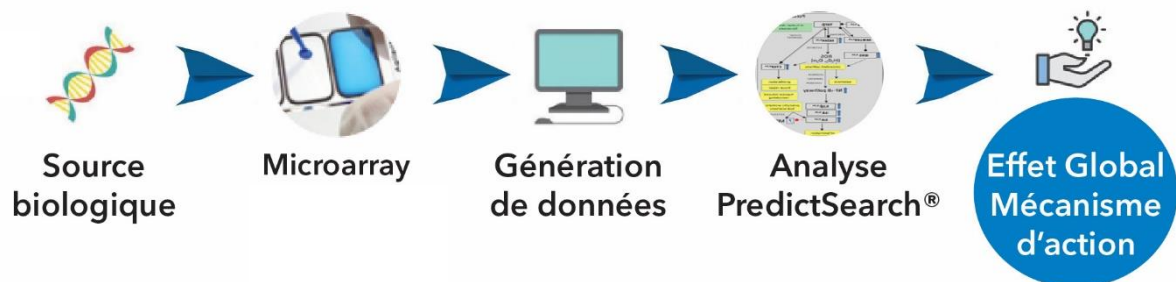
Le principe de l'étude est d'appliquer quotidiennement de l'eau (hyperionisée ou non) sur des explants de peau humaine maintenus en survie pendant 9 jours. Ensuite, une étude génomique a été conduite par le laboratoire Genex pour identifier les gènes stimulés ou réprimés par le traitement.



Après 9 jours de traitement (2µL/explant), les explants sont prélevés et fixés dans du RNAlater pour préserver les ARN.

Après extraction, la quantité et la qualité des ARN a été contrôlée.

Les ARN extraits ont été rétro transcrits, amplifiés, marqués par la Cyanine-3 et hybridés sur puces contenant la totalité du génome humain (23 000 gènes).

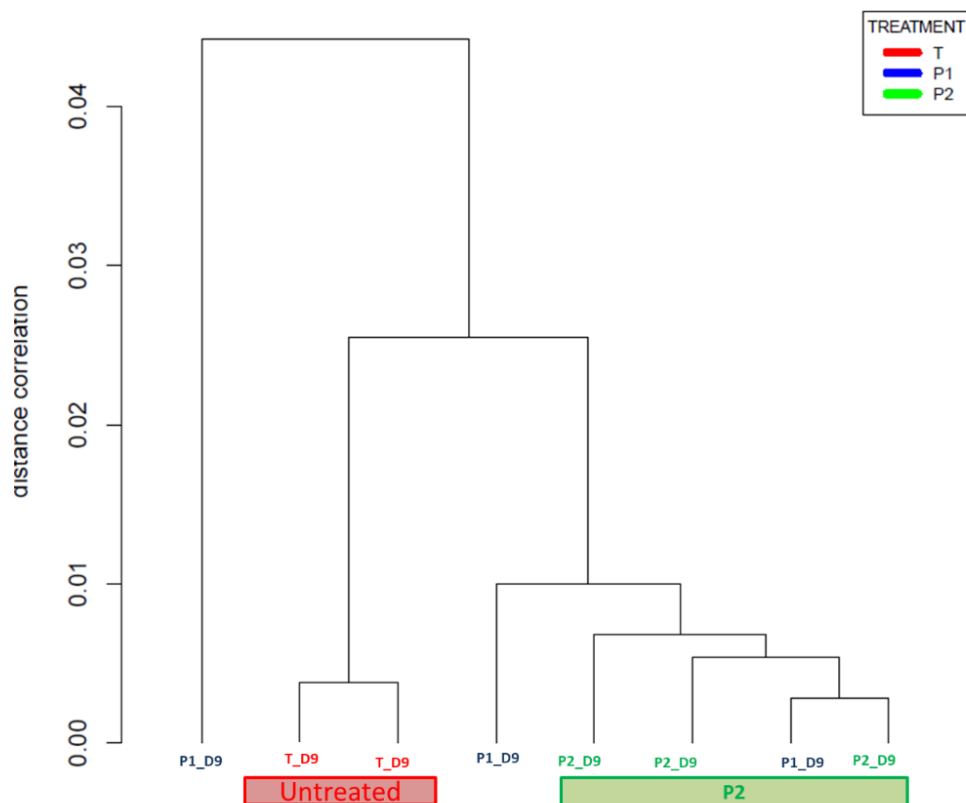


RESULTATS

1. Classification hiérarchique

Le regroupement des échantillons selon les profils d'expression génique permet de visualiser la séparation des échantillons non traités (en rouge) et les regroupements des échantillons en réponse P2 (en vert). La réponse P1 est plus dispersée (en bleu).

Classification hiérarchique



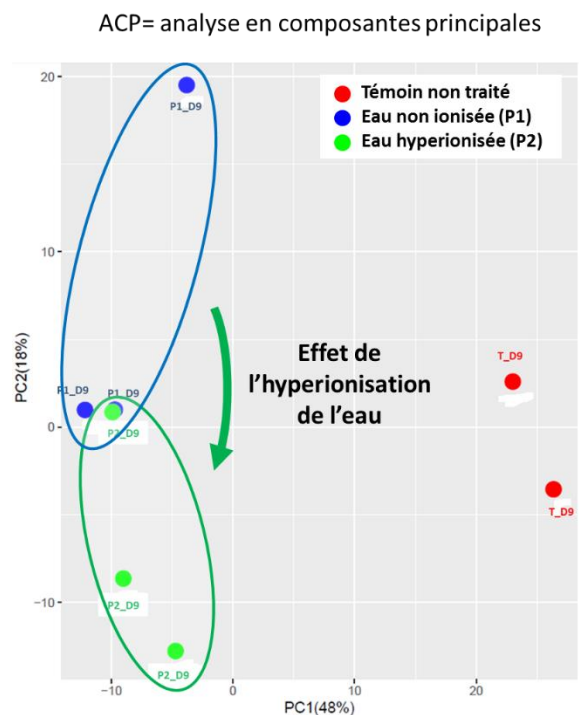
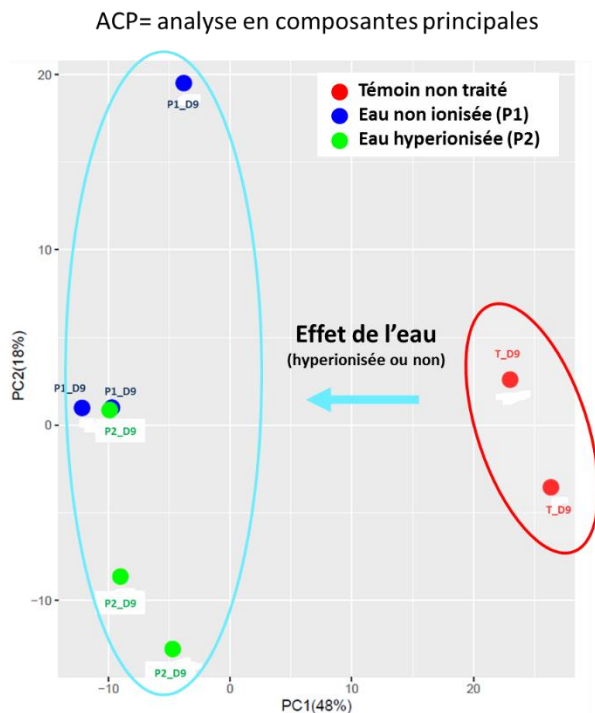
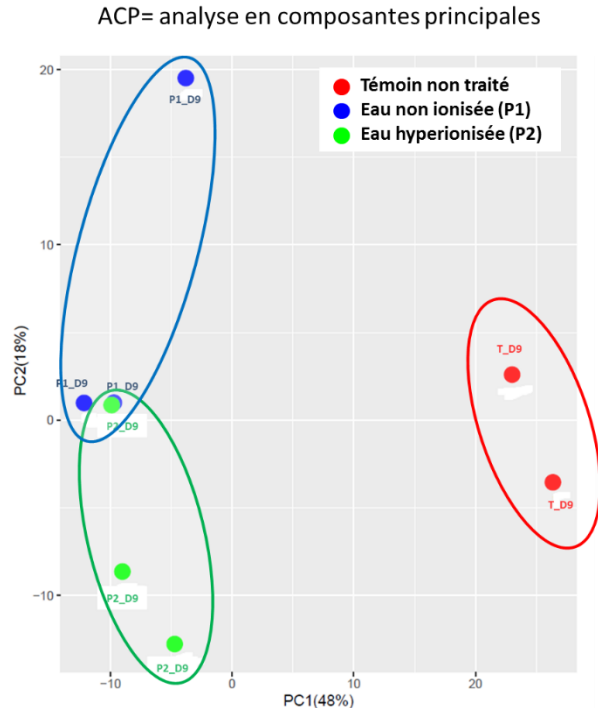
- ↳ Suite au traitement P1, la réponse génique est dispersée et semble aléatoire.
- ↳ Suite au traitement P2 (eau hyperionique), la réponse génique est très regroupée ce qui montre qu'elle est réelle, cohérente et reproductible.

2. Analyse en composante principale

L'analyse en composantes principales (ACP) est un puissant outil de compression et de synthèse de l'information, qui est utilisé pour traiter et interpréter un très grand nombre de données quantitatives.

Pour cette étude, une analyse en composantes principales a été réalisée sur les profils d'expression génique.

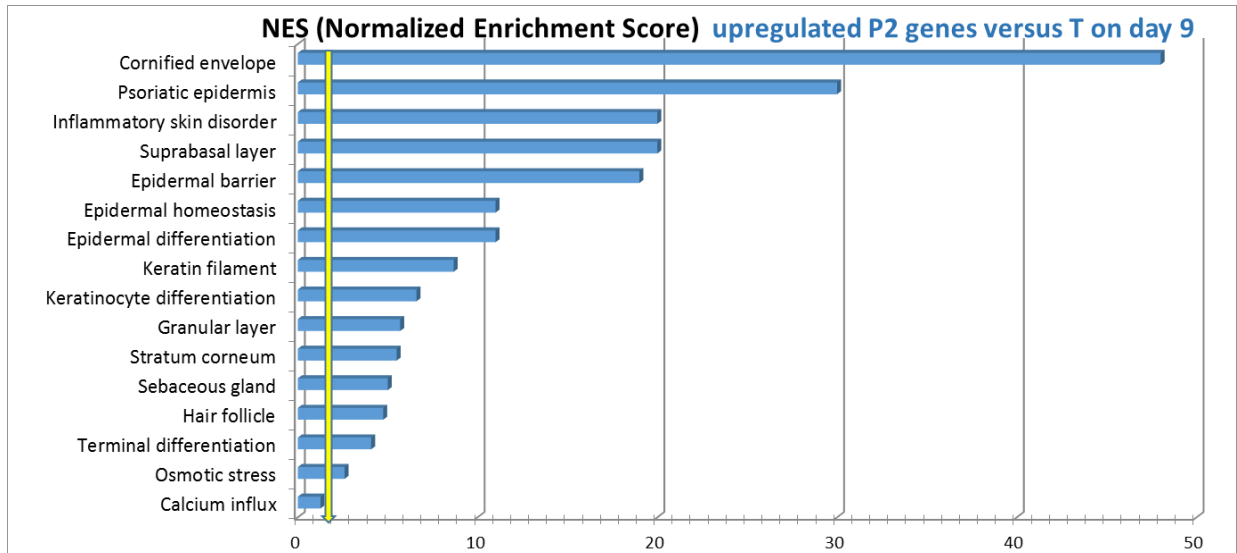
La première composante montre 48% de variation entre les échantillons non traités à droite et les échantillons traités à gauche. La deuxième composante (responsable de 18% de variation) est liée aux effets traitements P2 et P1, à gauche.



↳ Cette analyse montre l'effet de l'eau sur la réponse génique cutanée et l'effet de l'hyperionisation de l'eau.

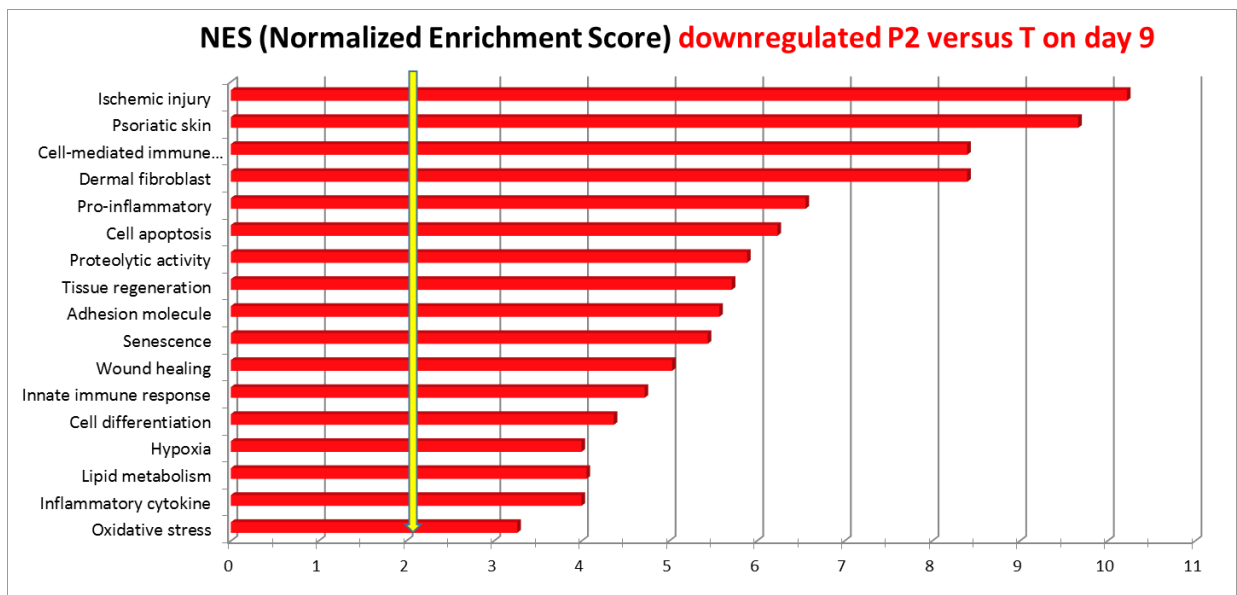
3. Enrichissement des gènes induits avec l'eau hyperionisée

L'enrichissement a été déduit des gènes identifiés avec un seuil drastique ($\geq 2,0$ pour les induits, et $\leq 0,5$ pour les réprimés) à cause du grand nombre de gènes modulés (188 gènes annotés induits et 186 gènes annotés réprimés dont l'expression était spécifiquement modulée).



Histogramme des termes biologiques annotés par PredictSearch® et classés en fonction de leur score NES (Normalized Enrichment Score) pour les gènes induits en réponse à l'eau hyperionisée au jour 9. La barre jaune indique le seuil d'enrichissement de 2.

4. Enrichissement des gènes réprimés avec l'eau hyperionisée



Histogramme des termes biologiques annotés par PredictSearch® et classés en fonction de leur score NES (Normalized Enrichment Score) pour les gènes réprimés en réponse à l'eau hyperionisée au jour 9. La barre jaune indique le seuil d'enrichissement de 2.

La première constatation qui est faite des termes modulés à J9 est que l'inflammation est inhibée et la différenciation au contraire fortement induite.

La stimulation de la différenciation est illustrée par l'induction des gènes du complexe de différenciation épidermique. Ainsi, le terme le plus enrichi pour les termes associés aux gènes induits est « cornified envelope ». Parmi ces gènes, on retrouve les gènes codant pour les protéines de la couche cornée qui sont impliqués dans sa formation lors de la régénération du tissu cutané.

De manière tout à fait cohérente, un grand nombre de termes identifiés par les gènes induits tels que « Epidermal differentiation », « Keratinocyte differentiation » et « Terminal differentiation » confirment sans ambiguïté l'initiation d'un processus de différenciation à J9.

Il est important de noter que les gènes qui apparaissent avec le terme « inflammatory skin disorder » ne sont pas des gènes inflammatoires mais, sont associés à des activités protectrices en réponse au stress inflammatoire ou oxydant.

A l'inverse, les gènes associés à l'inflammation tels que « Ischemic injury » et « Proinflammatory » sont réprimés par l'eau hyperionisée à J9. Il en va de même pour le terme « Cell differentiation », associé à des gènes qui sont connus pour être associés à une inhibition de la différenciation. Par exemple, LIF (Leukaemia Inhibitory factor) est une cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle dans la prolifération des kératinocytes et dont la répression précède leur différenciation.

CONCLUSION

Ces résultats démontrent sans ambiguïté que le traitement d'explants par l'eau hyperionisée amplifie les résultats obtenus avec l'eau, par un processus qui conduit à une régénération du tissu cutané à J9.

Le processus débute par un stress osmotique modéré induisant une inflammation ménagée qui s'estompe ensuite, permettant l'établissement d'une différenciation et en conséquence la régénération du tissu.

Ce processus implique l'apparition de facteurs inhibiteurs du stress oxydant qui diminuent l'état inflammatoire et activent des facteurs assurant la formation de la couche cornée au cours d'un processus de différenciation terminale.

Cependant nous tenons à souligner que l'eau hyperionisée grâce au dispositif Sublio Ionic WaterBox Pro, dans les conditions utilisées, amplifie de manière significative les modulations induites par l'eau non ionisée quelques soient ses effets biologiques.