

Note de vulgarisation du rapport d'étude 21E5272 SUBLIO
Selon le plan d'étude **D21-0417**

**Exploration de l'activité d'une eau de ville et de l'eau de mer
hyperionisées Sublio, par une étude génomique
sur explants de peau humaine *ex vivo***

Produit testé **Dispositif Sublio Ionic WaterBox *pro***
Eau de ville de Longjumeau +/- hyperionisée
Eau de mer de Saint-Malo +/- hyper-ionisée

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. Contrôle de la morphologie.....	4
2. Etude génomique	4
CONCLUSION	7

ETUDE

Cette étude a fait l'objet d'un rapport d'étude complet et détaillé sous la référence 21E5272, remis à SUBLIO France, seul propriétaire de ces résultats.

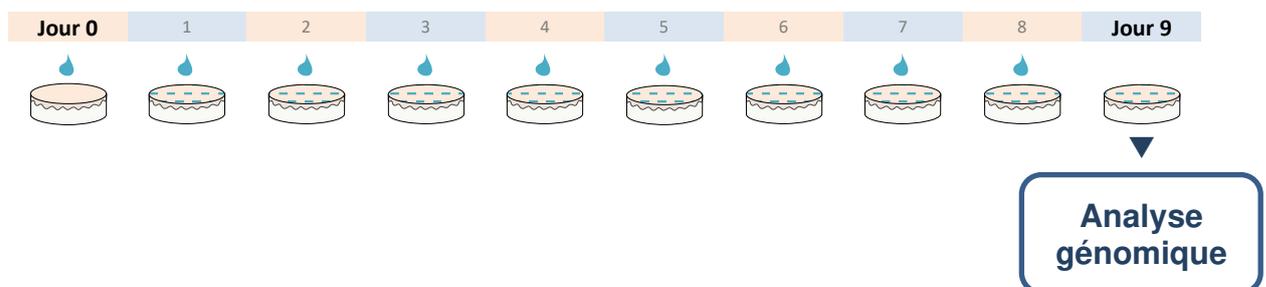
Date de début d'étude	24 juin 2021
Date de fin d'étude technique	21 septembre 2021
Partenaires sous-traitants ayant réalisé la phase génomique	Laboratoire Genex 1, Chemin de Saulxier 91160 Longjumeau

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 hyperionisée grâce au dispositif Sublio Ionic WaterBox *Pro* fourni par la société SUBLIO France.
- P3 Eau de mer de Saint-Malo fournie par la société SUBLIO France, stérilisée par filtration à 0,22µm (stocké à 4°C et utilisée dans les 48h après prélèvement).
- P4 Eau de mer de Saint-Malo fournie par la société SUBLIO France, stérilisée par filtration à 0,22µm et hyperionisée 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 évaluer l'expression de 10 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 ARNm extraits ont été rétro-transcrits (iScript, Bio-Rad) en ADNc. Ce dernier a été analysé et semi-quantifié par qPCR (iTaq, Bio-Rad) pour évaluer 10 gènes d'intérêt.

Une étude histologique a été réalisée en parallèle pour contrôler la morphologie cellulaire et tissulaire.

RESULTATS

1. Contrôle de la morphologie

Après 9 jours de traitement, l'eau de ville de Longjumeau (P1) et l'eau de mer (P3) sont bien tolérées par la peau.

De plus, ces eaux hyper-ionisées grâce au dispositif Sublio Ionic WaterBox *pro* fourni par la société SUBLIO France, à savoir l'eau de ville de Longjumeau hyperionisée (P2) et l'eau de mer hyperionisée (P4) sont aussi bien tolérées après 9 jours.

L'hyper-ionisation n'entraîne aucune modification de la tolérance cutanée de ces eaux de ville et eau de mer

2. Etude génomique

Liste des 10 gènes marqueurs sélectionnés pour l'étude, à partir des résultats de la précédente étude de génomique 20E5076.

Deux gènes contrôle dit « de ménage » (B2M et GAPDH) et un contrôle RT avec leur efficacité en qPCR respective.

gène	nom	efficacité en qPCR	Fonction
CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2, exonic	94%	
FLG	filaggrin	98%	
HMOX1	heme oxygenase 1	90%	
IVL	involucrin	96%	
KLK8	kallikrein-related peptidase 8, exonic	100%	
KRT15	keratin 15, exonic	95%	
LOR	loricrin (exonic)	102%	
PADI1	peptidyl arginine deiminase, type I, exonic	98%	
SPRR3	small proline-rich protein 3, exonic	99%	
TGM1	transglutaminase 1, intron-spanning	98%	
B2M	house keeping	98%	
GAPDH	house keeping (exonic)	97%	

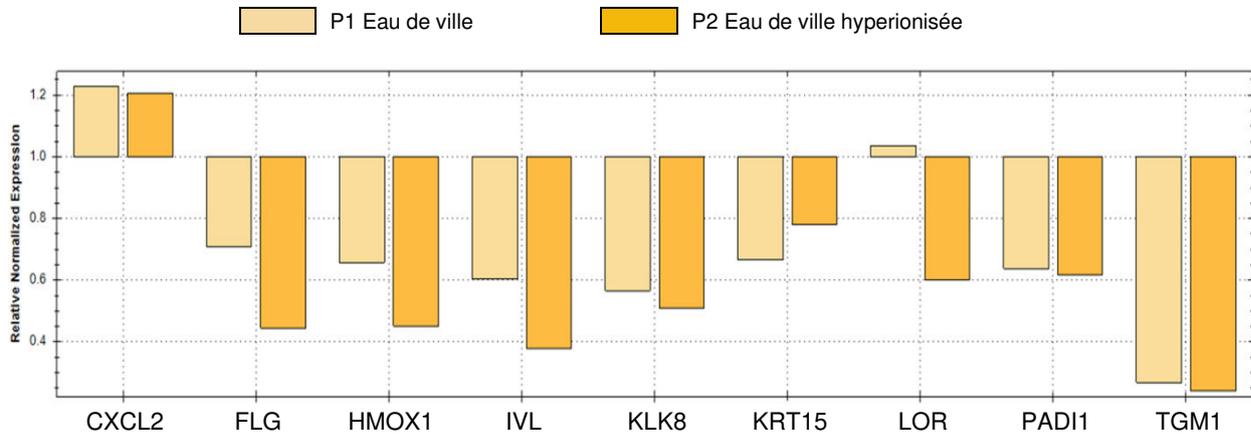
L'évaluation des gènes de ménages B2M et GAPDH montre une amplification de très bonne qualité. Une moyenne a été déduite des valeurs issues des 3 explants du même donneur (groupes biologiques) après normalisation avec les valeurs des gènes de référence.

Pour chaque gène d'intérêt, un ratio entre les différentes conditions de traitement a été calculé. Ainsi ces ratios permettent de visualiser l'effet de l'hyper-ionisation sur les eaux. Nous avons choisi comme seuil de modulation une valeur supérieure à 1,15 pour définir une expression induite et inférieure à 0,8 pour une expression réprimée.

Le gène **SPRR3** n'a pas été exploité car il a été retrouvé trop faiblement exprimé.

Activité de l'eau de ville ± hyperionisée

Ratios d'expression entre la moyenne des valeurs d'expression pour eau de ville non-traitée (P1) et eau de ville traitée (P2) versus contrôle (T), à J9.



Comparaison P2 ■ vs P1 ■

CXCL2	FLG	HMOX1	IVL	KLK8	KRT15	LOR	PADI1	TGM1
↔	↘	↘	↘	↔	↗	↘	↔	↔

Sur ce donneur, l'eau de ville (■) induit une augmentation significative de l'inflammation (CXCL2) et une diminution significative des gènes liés à la formation et à la régulation de la barrière cutanée (FLG, IVL, KLK8, PADI1 et TGM1).

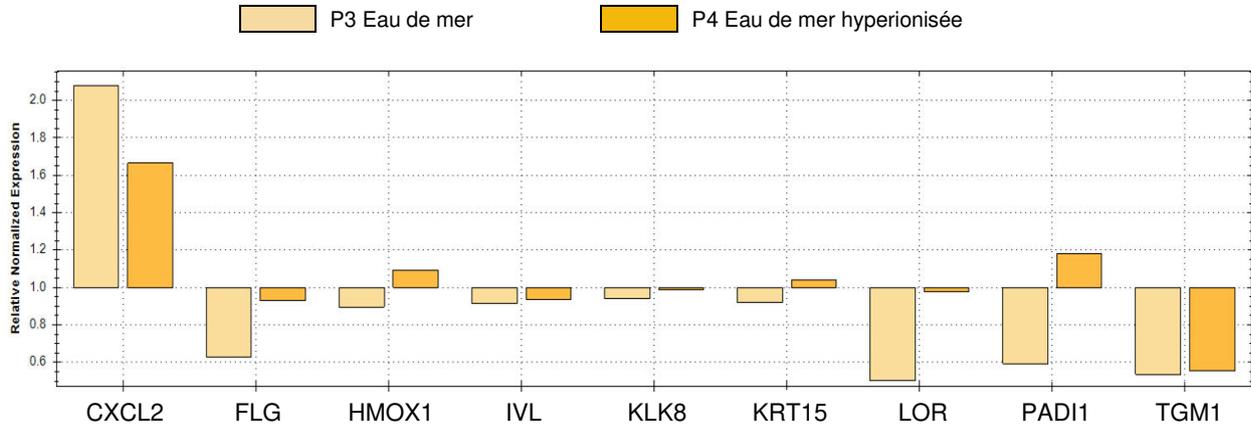
De plus, elle diminue le renouvellement épidermique (KRT15) et le niveau basal de stress oxydatif (HMOX1). Les autres gènes ne sont pas modulés.

L'eau de ville hyperionisée (■) amplifie la diminution des gènes liés à la formation et à la régulation de la barrière cutanée (FLG, IVL et LOR).

Elle amplifie la diminution du stress oxydatif (HMOX1) et stimule également le renouvellement épidermique (KRT15).

Activité de l'eau de mer ± hyperionisée

Ratios d'expression entre la moyenne des valeurs d'expression pour eau de mer (P3) et eau de mer hyperionisée (P4) versus contrôle (T), à J9.



Comparaison P4 vs P3

CXCL2	FLG	HMOX1	IVL	KLK8	KRT15	LOR	PADI1	TGM1
↘	↗	↗	↔	↔	↗	↗	↗	↔

L'eau de mer (P3) induit une augmentation de CXCL2, un gène impliqué dans l'inflammation cutanée.

D'autre part, elle réduit les gènes associés à la formation et à la régulation de la barrière cutanée (FLG, LOR, PADI1 et TGM1).

L'eau de mer l'hyperionisée (P4) réduit significativement l'expression du gène CXCL2 impliqué dans l'inflammation cutanée.

Elle augmente significativement les gènes liés à la formation et à la régulation de la barrière cutanée (FLG, LOR et PADI1).

Cependant l'eau de mer hyperionisée induit aussi légèrement l'expression de HMOX1 qui est lié aux défenses antioxydantes.

CONCLUSION**Eau de ville (Longjumeau, 3^{ème} donneur)**

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

Il a été préalablement démontré que le processus débute par un stress osmotique modéré induisant une inflammation ménagée qui s'estompe par la suite, permettant l'établissement d'une différenciation et en conséquence la régénération du tissu cutané.

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

Cette étude, concerne l'évaluation de l'eau de ville hyperionisée sur un troisième donneur.

Il convient de se reporter à l'analyse compliée des résultats des trois donneurs.

Eau de mer

Cette première analyse montre que l'eau de mer appliquée sur les explants de peau induit une légère inflammation accompagnée d'une répression d'une partie des marqueurs de la barrière cutanée.

Cependant, ces résultats ne concernent que 10 des 23 000 gènes humains ciblés dans cette étude, ils ne représentent qu'une petite partie des nombreux effets biologiques mis en œuvre au cours d'une thalassothérapie.

Ceci étant, la répression de la filaggrine, de la loricrine et de PADI1 démontrent clairement une altération de la barrière cutanée induite par le contact prolongé de la peau avec l'eau de mer.

L'hyperionisation de l'eau de mer permet d'inhiber ces effets indésirables en réduisant notablement l'inflammation cutanée, et en annulant la répression de la filaggrine et de la loricrine tout en contrebalançant totalement celle de PADI1.

L'eau de mer hyperionisée, en diminuant l'inflammation cutanée et en régulant son hydratation, permet d'améliorer significativement l'expérience bénéfique de la thalassothérapie.