+LES METABOLITES PLASMATIQUES PEUVENT-ILS ETRE DES MARQUEURS DU DEPOT DE GRAS DANS LES TISSUS PERIPHERIQUES CHEZ LE POULET ?

Jégou Maëva[1], Louveau Isabelle[1], Gondret Florence[1], Lalande-Martin Julie[2], Tea Illa[2], Le Bihan-Duval Elisabeth[3], Berri Cécile[3], Désert Colette[1], Lagarrigue Sandrine[1], Duclos Michel Jacques[3], Collin Anne[3], Métayer-Coustard Sonia[3], Baéza Elisabeth[3]

[1]INRA, UMR1348 Pegase, F-35590 Saint-Gilles, France
[1]Agrocampus Ouest, UMR1348 Pegase, F-35000 Rennes, France
[2]Faculté des Sciences et Techniques, UMR CNRS 6230 CEISAM, BP 92208, F-44322 Nantes Cedex 3, France
[3]INRA, UR83Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly, France

maeva.jegou@rennes.inra.fr

RÉSUMÉ

Le gras est considéré comme un coproduit de faible valeur commerciale. Un excès de dépôt de gras chez le poulet se traduit par une moindre efficience de l'animal. Le but de cette étude est d'identifier des paramètres plasmatiques qui seraient des indicateurs de l'adiposité corporelle. De 3 à 9 semaines d'âge, des poulets issus de deux lignées sélectionnées de façon divergente sur le taux de gras abdominal sont nourris avec un des deux régimes expérimentaux iso-énergétiques mais respectivement riche en lipides et en fibres (HL), ou riche en carbohydrates (LL). A la fin de l'expérience, des échantillons de sang sont prélevés et la composition corporelle des animaux est analysée. Les métabolites plasmatiques sont analysés par empreinte globale par spectroscopie RMN ^{1}H et par des méthodes standards. Le transcriptome des cellules sanguines (PBMC, Peripheral Blood Mononuclear Cell) est également analysé au moyen de puces à ADN de poulet. Les métabolites circulants les plus discriminants entre groupes sont la bétaïne, la glutamine et l'histidine, identifiées par l'approche métabolomique. Les niveaux plasmatiques de bétaïne, d'acide urique, de triglycérides, de phospholipides et de LDL sont positivement corrélés ($r > 0,3$, $P < 0,05$) et les concentrations plasmatiques de glutamine, histidine, T3, homocystéine et β-hydroxybutyrate sont négativement corrélées ($r < -0,3$, $P < 0,05$) avec le poids relatif de gras abdominal. Le transcriptome des PBMCs est très différent entre lignées (6657 gènes différemment exprimés (GDE) ; $P < 0,01$) mais peu entre régimes (63 GDE; $P < 0,01$). Le gène codant pour la CPT1A (isoforme hépatique de la carnitine palmitoyltransferase 1, enzyme de l'oxydation des acides gras) est surexprimé chez les poulets HL comparativement aux poulets LL. Cette étude met ainsi en évidence des paramètres sanguins impliqués dans le métabolisme des lipides, du glucose et des acides aminés significativement corrélés au dépôt de gras chez le poulet en croissance, pouvant en faire de potentiels marqueurs d'adiposité.

ABSTRACT

Can plasma metabolites predict fat deposition in peripheral tissues of chicken?

Fat is considered as a byproduct of poor commercial value. An excess in fat depot is associated with a lower efficiency of animals. The aim of this study was to provide plasma indicators of chickens' ability to store body fat. From 3 to 9 weeks of age, chickens from two lines divergently selected for the abdominal fat content were fed one of two experimental diets, either rich in lipids and fibers (HL) or rich in carbohydrates (LL), respectively. Diet had the same metabolizable energy content. At 9 weeks of age, blood samples were collected and body composition was analyzed. A metabolome-wide approach based on ^{1}H NMR spectroscopy was associated with conventional measurements of plasma parameters. Transcriptome of blood cells (PBMC, Peripheral Blood Mononuclear Cell) was analyzed using a chicken microarray. Metabolomic approach showed that betaine, glutamine and histidine were the most discriminant metabolites between groups. Betaine, uric acid, triglycerides, phospholipids and LDL were positively correlated ($r = 0.3$) and glutamine, histidine, T3, homocysteine and β-hydroxybutyrate were negatively correlated ($r = -0.3$) with relative abdominal adipose tissue mass. Gene expression profile of PBMC was very different between lines (6657 differentially expressed genes (DEG); $P < 0.01$), but less between diets (63 DEG; $P < 0.01$). The CPT1A gene (coding for the liver form of carnitine palmitoyltransferase 1, an enzyme involved in fatty acid oxidation) was overexpressed in HL chickens compared with LL chicken. This study highlighted plasma parameters involved in lipid, glucose and aminoacids metabolisms that are significantly correlated to relative adipose tissue mass in growing chickens, thus being potential indicators of adiposity.

INTRODUCTION

En réponse aux demandes des consommateurs et des abattoirs, les poulets ont été sélectionnés pour une moindre adiposité corporelle. Cette sélection a été effectuée sur leur taux de gras abdominal et contribue à un schéma de production de viande plus durable, puisque les animaux plus maigres sont aussi plus efficaces dans la conversion alimentaire. Afin d'améliorer notre compréhension sur le rôle du métabolisme énergétique dans le déterminisme de l'adiposité chez le poulet de chair, deux lignées expérimentales, une lignée maigre et une lignée grasse, ont été sélectionnées de façon divergente sur la quantité de gras abdominal (Leclercq, 1988). Ces lignées ont été largement utilisées pour étudier les relations entre l'adiposité et le métabolisme énergétique et protéique dans les tissus hépatiques, musculaires et adipeux, ainsi que la régulation hormonale (Baéza et Le Bihan-Duval, 2013). À ce jour, les relations entre masse grasse et variations métaboliques sont cependant estimées par des approches invasives (biopsies tissulaires).
L'objectif de cette étude est d'identifier des indicateurs plasmatiques qui seraient le reflet de la capacité du poulet à synthétiser et stocker les lipides. Pour répondre à cet objectif, des poulets des lignées maigre et grasse ont été nourris avec deux régimes expérimentaux iso-énergétiques et iso-protéiques contrastés quant à la source d'énergie alimentaire. Le métabolome plasmatique des poulets a été analysé globalement par RMN ^{1}H, complété par des méthodes biochimiques standards pour des métabolites cibles. Le transcriptome des cellules sanguines (PBMC, peripheral blood mononuclear cell) a également été analysé à l'aide d'une puce représentative du génome du poulet. Des calculs de corrélations entre les métabolites et la masse de tissus adipeux relative au poids vif du poulet ont été réalisés afin de définir des indicateurs de la variation de la masse grasse chez le poulet.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Un total de 48 poulets de lignée grasse ou maigre a été élevé en bâtiment fermé (6,7 oiseaux / m²) et soumis à un même régime de démarrage (2900 ME kcal / kg et 210 g CP / kg) de l'éclosion jusqu'à l'âge de 21 jours (Pôle Expérimental Avicole de Tours, INRA, Nouzilly, France). À cet âge, 24 poulets de chaque lignée ont été placés en cages individuelles (60 x 45 x 60 cm) et ont reçu l'un des régimes expérimentaux (n = 12 par régime et par lignée), soit riche en lipides et en fibres (HL) soit riche en carbohydrates (LL). Les deux régimes expérimentaux étaient isoénergétiques (3000 ME kcal /kg), avec des profils en acides gras identiques, et isoproteiques (190 g CP/kg). À 63 jours d'âge, les poulets ont été privés de nourriture pendant 12 h puis réalimentés pendant 3 h avant leur sacrifice. Les échantillons de sang ont été prélevés au niveau du sinus occipital avant sacrifice. Le plasma a été préparé à partir d'échantillons collectés sur EDTA (dosages cibles) ou héparine (métabolomique) et stocké à -20°C ou -80°C pour des analyses ultérieures. Les échantillons de sang total ont été placés sur EDTA en présence de 1 volume de PBS et de 1,5 volume de Ficoll (Histopaque®-1077, Sigma-Aldrich) afin d'isoler les PBMC, qui ont été congelés dans l'azote liquide puis stocké à -80°C.

1.2. Analyses de laboratoire

L'analyse métabolomique a été réalisée par spectroscopie RMN ^{1}H (spectromètre Bruker Avance DRX-500). Pour les 48 échantillons de plasma, 110 signaux ont été définis manuellement et couvrent 99,5% du spectre. Des réactions enzymatiques colorimétriques réalisées sur le plasma à l'aide de l'analyseur Konelab 20 (Thermo Fisher Scientific) ont permis de quantifier en parallèle les concentrations plasmatiques en triglycérides, cholestérol total, phospholipides, acides gras libres, glucose, lactate, acide urique, urée et β-hydroxybutyrate. La concentration d'homocystéine plasmatique a été quantifiée par UPLC-HRMS. Les concentrations plasmatiques d'insuline, de triiodothyronine (T3) et de thyroxine (T4) ont été déterminées par des dosages radio-immunologiques.
Les PBMC du sang ont été isolés par centrifugation dans un gradient de densité (Ficoll; Histopaque 1077, Sigma-Aldrich). Les ARN totaux ont été extraits des PBMC à l'aide de TRIzol® (Invitrogen). Les ARNs ont été quantifiés par spectrophotométrie (NanoDrop®) et leur qualité a ensuite été vérifiée à l'aide du Bioanalyseur Agilent 2100 (Agilent Technology ; kit RNA 6000 Nano Assay). L'analyse du transcriptome a été réalisée après marquage des ARN par le fluorochrome Cy3 (Low Input Quick Amp Labeling kit, Agilent), puis hybridation des ARN marqués sur une puce d'oligonucléotides (dessinée avec l'application eArray, Agilent), qui a ensuite été numérisée par le scanner de lames Agilent G2505B.
Le gène codant pour la carnitine palmitoyl transférase 1A (CPT1A), identifié comme différentiel entre les deux régimes par l'approche transcriptomique, a été quantifié par qPCR, à l'aide d'amorces spécifiques. Pour cela, après un traitement DNase (kit RNeasy® MinElute® Cleanup, Qiagen), l'ADN complémentaire a été synthétisé à l'aide du kit High capacity cDNA reverse transcription (Applied Biosystems). Les données d'expression du gène codant la CPT1A ont ensuite été normalisées par le gène de référence glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) invariant entre les groupes.

1.4. Analyses statistiques

Les effets de la lignée (L), du régime alimentaire (R) et de leur interaction (L × R) sur les concentrations des métabolites et d'hormones dans le plasma ont été testés par une analyse de variance (logiciel Statview). Pour l'approche métabolomique, des analyses de variance (ANOVA) univariée puis multivariée ont été effectuées en utilisant respectivement le logiciel R (Team R Development Core, 2008) et SIMCA P + (Umetrics, Umeå, Suède). Des analyses de corrélation par régression simple ainsi que par régression multiple entre les concentrations en métabolites et la masse relative de gras abdominal ont également été réalisées avec le logiciel R.
Pour l'approche transcriptomique, une ANOVA a été effectuée, avec le logiciel R, en considérant les effets de la lignée, du régime et de l'interaction. Pour établir la liste de gènes différemment exprimés (GDE) en fonction de la lignée et du régime, un seuil de probabilité $P < 0,01$ a été retenu (Fu et al., 2010).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

En accord avec ce qui était attendu, les poulets issus de la lignée grasse ont une masse relative de gras abdominal plus élevée que ceux de la lignée maigre (respectivement 3,4% et 1,3% par rapport au poids vif, $P < 0,001$). En revanche, le pourcentage de gras abdominal n'est pas influencé par les régimes expérimentaux.
Les deux lignées présentent des différences importantes de concentrations en métabolites plasmatiques. Parmi les différents acides aminés (AA) identifiés par RMN ^{1}H, ceux qui discriminent le mieux les lignées sont la glutamine, l'histidine et la bétaïne (Figure 1). Ceci est cohérent avec de précédentes études qui montrent une modification des taux plasmatiques d'AA glucogéniques chez les poulets de lignée grasse (Baéza et Le Bihan-Duval, 2013). Cela suggère que, outre l'utilisation d'acides aminés pour la synthèse de protéines notamment dans le muscle, la glutamine et l'histidine peuvent être utilisées pour la synthèse de glucose. La lignée grasse présente des taux circulants plus élevés de bétaïne ($P < 0,001$), de méthionine ($P < 0,01$) et des concentrations circulantes plus basses de glutamine et d'histidine ($P < 0,001$) que la lignée maigre. Une plus faible concentration plasmatique de l'homocystéine est également observée dans la lignée grasse par rapport à la lignée maigre (Tableau 1). Enfin, la concentration d'acide urique dans le plasma (Tableau 1) est plus élevée ($P < 0,001$) pour la lignée grasse que pour la lignée maigre. Ces données suggèrent un lien entre le métabolisme des protéines et l'adiposité corporelle. La concentration plasmatique de triglycérides (Tableau 1) et le taux de lipoprotéines LDL (Figure 1) sont plus élevés (respectivement $P < 0,05$; $P = 0,06$) pour la lignée grasse que pour la lignée maigre, alors que les taux plasmatiques de VLDL et HDL (données non présentées) et les concentrations de cholestérol et de phospholipides (Tableau 1) ne diffèrent pas entre les deux lignées. Etant donné qu'il a déjà été montré que l'activité de la lipoprotéine lipase était plus élevée dans la lignée grasse que dans la lignée maigre (Hermier et al., 1989), le taux plasmatique plus élevé de LDL dans la lignée grasse ne résulterait pas d'une moindre absorption des lipides par les tissus périphériques. Ceci suggère un retour plus important des lipides circulants vers le foie pour les poulets de la lignée grasse vis-à-vis de la lignée maigre.
Comme cela a déjà été montré (Baéza et Le Bihan-Duval, 2013), la concentration de glucose plasmatique est plus faible ($P < 0,05$) pour les poulets de la lignée grasse que pour ceux de la lignée maigre. Cette concentration plus faible de glucose peut être liée à un prélèvement de glucose plus rapide et une synthèse de glycogène plus importante pour les poulets de la lignée grasse. Cette différence pourrait être liée à des différences entre lignées dans les variations de l'insulinémie. En effet, une augmentation plus importante et plus rapide de l'insuline plasmatique chez les poulets de la lignée grasse et une décroissance plus lente chez les poulets de la lignée maigre ont déjà été observées (Baéza et al., 2005; Baéza et Le Bihan-Duval, 2013). Enfin, la concentration plasmatique de β-hydroxybutyrate est plus faible ($P < 0,01$) chez les poulets de la lignée grasse que chez les poulets de la lignée maigre, suggérant une moindre cétogenèse dans la lignée grasse.
La RMN ^{1}H met également en évidence un effet de l'alimentation sur les taux en AA (Figure 1), mais qui n'est pas associé à des différences d'adiposité corporelle entre régimes. Parmi ces AA, le plus discriminant entre régimes est la méthionine. Les taux de méthionine et de glutamine plasmatiques sont plus faibles ($P < 0,05$), mais la concentration plasmatique de la bétaïne ($P < 0,05$) est plus élevée chez les poulets nourris avec un régime LL qu'avec un régime HL. La concentration plasmatique d'homocystéine est plus faible pour les poulets nourris avec un régime LL qu'un régime HL ($P < 0,05$; Tableau 1). Dans cette situation, la méthionine varie dans le même sens que l'homocystéine, mais d'une manière opposée à la bétaïne. Ceci suggère une conversion plus importante de la méthionine en bétaïne via l'homocystéine quand les poulets sont nourris avec le régime LL par rapport à ceux recevant le régime HL. La concentration d'acide urique plasmatique est plus élevée ($P < 0,001$) chez les poulets nourris avec un régime LL que chez les poulets nourris avec un régime HL. Cela reflète une plus forte dégradation des acides aminés chez les poulets ayant reçu un régime LL. Outre la concentration plasmatique de LDL qui est plus élevée ($P < 0,001$) chez les poulets nourris le régime LL que chez les poulets nourris avec le régime HL, les concentrations plasmatiques de cholestérol total et de phospholipides sont également plus élevés ($P < 0,01$)

chez les poulets LL que chez les poulets HL. Le taux de LDL est en partie responsable du transport inverse du cholestérol, c'est-à-dire du retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. De ce fait, nos résultats suggèrent une plus faible capacité à mobiliser le cholestérol des tissus périphériques chez les poulets LL que les poulets nourris avec le régime HL.

Des analyses de corrélation ont été effectuées entre la variation de la masse relative du tissu adipeux abdominal et les différents paramètres plasmatiques mesurés. Ces analyses montrent des corrélations positives ($P < 0,01$) entre le tissu adipeux abdominal et la bétaïne ($r = 0,5$), l'acide urique ($r = 0,4$) et les triglycérides ($r = 0,5$). Des corrélations négatives ($P < 0,05$) sont observées entre le gras abdominal et le β-hydroxybutyrate ($r = -0,3$), l'hormone T3 ($r = -0,4$), l'homocystéine ($r = -0,5$), la glutamine ($r = -0,7$) et l'histidine ($r = -0,7$). Les corrélations entre l'homocystéine et la bétaïne et la masse relative du tissu adipeux abdominal suggèrent une reconversion ultérieure de l'homocystéine en méthionine dans le foie des poulets gras par l'intermédiaire de la bétaïne.

L'analyse préliminaire des données issues du transcriptome des PBMC montre que le nombre de gènes différemment exprimés est plus important entre lignées qu'entre régime. En effet, 6657 gènes sont différemment exprimés en fonction de la lignée ($P < 0,01$), alors que seuls 63 gènes sont différemment exprimés en fonction du régime. Il existe une interaction entre le régime et la lignée pour l'expression de 68 gènes (Tableau 3). Certains gènes différemment exprimés en fonction du type génétique codent pour des protéines ayant un rôle dans le métabolisme lipidique, tel que FASN (fatty acid synthase), CEBPα (CAAT binding protein α) ou encore PPARδ (peroxisome proliferator activated receptor δ). Ces gènes sont également différemment exprimés au sein du tissu adipeux abdominal entre lignées de poulets issues de cette même sélection (Resnyk et al., 2013).

Pour l'effet du régime, l'approche transcriptomique ainsi que la validation du niveau d'expression du gène codant pour la CPT1A par qPCR, indiquent un ratio d'expression de 1,7 entre les poulets nourris par le régime HL et les poulets nourris par le régime LL. Ce gène code pour la forme hépatique de la carnitine palmitoyl transférase 1A, qui est une enzyme clé de la β-oxydation des acides gras. Des travaux effectués chez le porc, autre espèce monogastrique majeure d'intérêt zootechnique, indiquent que l'expression de ce gène dans le sang est modulée par des variations de régime alimentaire (Lyvers Peffer et al., 2007). L'expression de la CPT1A au niveau hépatique varie également selon l'état de satiété chez le poulet (Saneyasu et al., 2013). L'expression du gène codant la CPT1A a souvent été mesurée dans le foie ou le muscle (Skiba-Cassy et al., 2007). D'après nos connaissances aucune mesure d'expression de la CPT1A n'avait été réalisée sur les PBMC chez le poulet. Les liens entre l'expression de CPT1A au niveau sanguin et l'expression tissulaire de CPT1A restent à déterminer plus finement.

CONCLUSION

Les variations des taux plasmatiques de bétaïne, d'homocystéine, d'acide urique, de glutamine et d'histidine suggèrent l'implication de donneurs de méthyle dans le contrôle de la synthèse des lipides hépatiques et illustrent l'interaction entre les acides aminés, le glucose et les lipides dans le métabolisme des poulets en croissance. Une analyse fonctionnelle plus approfondie des gènes différemment exprimés dans le sang des poulets permettra de mieux comprendre les voies métaboliques impliquées dans la variation de la masse grasse et les mécanismes concertés d'adaptation de ces animaux qui font face aux régimes ayant des sources énergétiques différentes. Ces indicateurs peu invasifs, après validation sur d'autres populations pourraient être pris en compte lors de l'élaboration de nouveaux schémas de sélection ou pour mieux adapter les formules alimentaires des animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Baéza E., Rideau N., Chartrin P., Davail S., Hoo-Paris R., Mourot J., Guy G., Bernadet M.D., Juin H., Méteau K. et Hermier D., 2005. INRA Prod. Anim. 18 (2):131-141.
2. Baéza E. et Le Bihan-Duval, E., 2013. Animal 7 (6):965-973.
3. Fu W. J., Stromberg A. J., Viele K., Carroll R. J., Wu G., 2010. J. Nutr. Biochem. 21, 561-572
4. Hermier D., Quignard-Boulange A., Dugail I., Guy G., Salichon M.R., Brigant L., Ardouin B. et Leclercq B., 1989. J. Nutr. 119:1369-1375.
5. Leclercq B., 1988. In: Leclercq, B., and Whitehead, C.C. (Eds) London, Butterworths & Co, Ltd-INRA, pp. 25-40
6. Lyvers Peffer P., Lin X., Jacobi S. K., Gatlin L. A., Woodworth J., Odle J., 2007. J. Nutr. 137, 898-903
7. Resnyk C. W., Carre W., Wang X., Porter T. E., Simon J., Le Bihan-Duval E., Duclos M. J., Aggrey S. E., Cogburn L. A., 2013. BMC Genomics 14, 1471-2164
8. Saneyasu T., Shiragaki M., Kurachi K., Kamisoyama H., Honda, K., 2013. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 166, 1-6
9. Skiba-Cassy S., Collin A., Chartrin P., Medale F., Simon J., Duclos M. J., Tesseraud, S., 2007. Comp

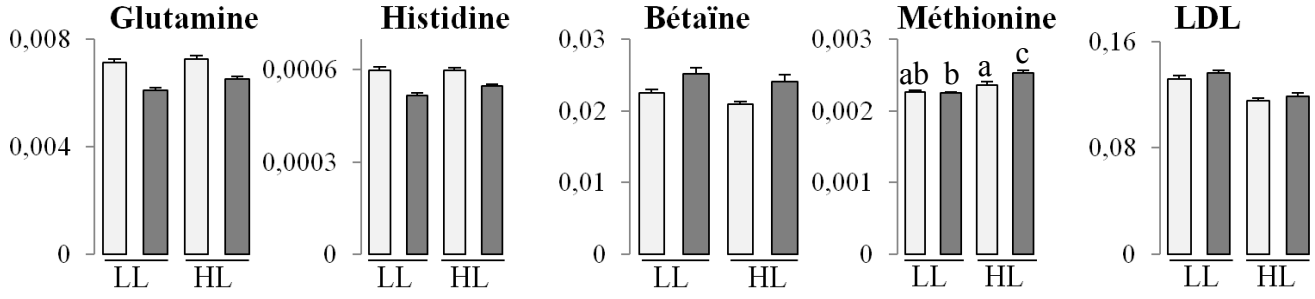
10. Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 147, 278-287
11. R Development Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing,Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.R-project.org.

Tableau 1. Paramètres plasmatiques chez des poulets de 63 jours issus de lignée grasse et maigre et nourris avec deux régimes expérimentaux présentant un taux faible (LL) ou élevé (HL) de lipides (moyennes ± SE; n = 12)

	LL		HL		Effet[1]		
	Maigre	Grasse	Maigre	Grasse	L	R	L x R
Cholestérol total (g/l)	1,45 ± 0,20	1,45 ± 0,25	1,20 ± 0,21	1,34 ± 0,19	NS	**	NS
Phospholipides (mg/dl)	225 ± 37	233 ± 39	189 ± 25	206 ± 23	NS	***	NS
Triglycerides (mg/l)	572 ± 203	733 ± 241	524 ± 135	691 ± 322	*	NS	NS
Acides gras libres (µmol/l)	67 ± 21	69 ± 27	111 ± 19	118 ± 24	NS	***	NS
Glucose (g/L)	2,7 ± 0,3 ab	2,6 ± 0,2 ab	2,8 ± 0,2 a	2,5 ± 0,2 b	*	NS	*
Lactate (mmol/l)	6,3 ± 1,7	6,9 ± 1,5	6,7 ± 1,6	6,9 ± 1,9	NS	NS	NS
Homocystéine (µmol/l)	22,3 ± 6,4	17,4 ± 3,1	26,7 ± 7,5	20,1 ± 5,4	**	*	NS
β-hydroxybutyrate (µmol/l)	712 ± 184	552 ± 129	536 ± 167	451 ± 91	**	**	NS
Acid urique (mg/l)	74 ± 28	99 ± 16	53 ± 15	75 ± 13	***	***	NS
Urée (mg/l)	34,0 ± 5,7	36,8 ± 8,3	32,2 ± 7,1	32,1 ± 6,3	NS	NS	NS
Insuline (µU/ml)	115 ± 50	95 ± 31	114 ± 45	78 ± 31	*	NS	NS
T3 (pmol/ml)	3,1 ± 1,1 a	2,2 ± 0,5 b	2,6 ± 0,8 ab	2,6 ± 0,9 ab	0,06	NS	*
T4 (pmol/ml)	11,6 ± 4,3	13,8 ± 2,9	12,9 ± 4,2	14,2 ± 4,0	NS	NS	NS

[1] ANOVA pour les effets de la lignée (L) et du régime (R), et de leur interaction (L × R), *P ≤ 0,05 ; **P < 0,01 ; ***P < 0,001

Figure 1. Principaux métabolites discriminants des lignées maigre (□) et grasse (■), nourri avec un régime LL ou HL. Les valeurs sont des moyennes (unités arbitraires) ± SEM.



	Glutamine	Histidine	Bétaïne	Méthionine	LDL
L[1]:	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,01	P = 0,06
R[1]:	P < 0,05	P = 0,08	P < 0,05	P < 0,001	P < 0,001
L x R[1]:				P < 0,01	

[1] ANOVA pour les effets de la lignée (L) et du régime (R), et de leur interaction (L × R)

Tableau 2. Nombre de gènes différemment exprimés selon la lignée et le régime alimentaire

Effet	Nombre de gènes uniques	
	P < 0,01	FDR < 0,05
Lignée (L)	6657	7109
Régime (R)	63	1
Lignée × Régime (L × R)	68	0