



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITÉ DE LORRAINE 2019

FACULTÉ DE PHARMACIE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement

Le 16 septembre 2019 sur un sujet dédié à :

Influence de régimes hypercaloriques sur l'inflammation intestinale : rôle du microbiote intestinal et mécanismes physiopathologiques dans un contexte de Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI)

Pour obtenir

Le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Par Djésia Arnone

Née le 1^{er} novembre 1989 à Lyon (69)

Membres du Jury

Présidente :	Mme Brigitte LEININGER-MULLER	Professeur des Universités Faculté de Pharmacie de Nancy
Directrice :	Mme Natacha DREUMONT	Maître de Conférences Universitaire Faculté de Pharmacie de Nancy
Juges :	Mr Laurent PEYRIN-BIROULET Mr Jean-Yves JOUZEAU Mme Pauline BILLARD	Médecin, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier Pharmacien, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier Pharmacien
Membres invités :	Mr Franck HANSMANNEL Mr Tunay KÖKTEN	Maître de Conférence Universitaire Maître de Conférence Universitaire

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2018-2019

DOYEN

Raphaël DUVAL

Vice-Doyen

Julien PERRIN

Directrice des études

Marie SOCHA

Conseil de la Pédagogie

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier

Présidente, Béatrice DEMORE

Commission Prospective Facultaire

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

Commission de la Recherche

Présidente, Caroline GAUCHER

Chargés de Mission

Marie-Paule SAUDER

Alexandrine LAMBERT

Virginie PICHON

Dominique DECOLIN

Responsabilités

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Xavier BELLANGER

Igor CLAROT

Luc FERRARI

François DUPUIS

Mihayl VARBANOV

Communication

Innovation pédagogique

Référente ADE

Référent dotation sur projet (DSP)

Filière Officine

Filière Industrie

Filière Hôpital

Pharma Plus ENSIC

Pharma Plus ENSAIA

Pharma Plus ENSGSI

Cellule de Formation Continue et Individuelle

Commission d'agrément des maîtres de stage

ERASMUS

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre DIXNEUF

Chantal FINANCE

Marie-Madeleine GALTEAU

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Pierre LABRUDE

Vincent LOPPINET

Alain NICOLAS

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE

Annie PAVIS

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Max HENRY

Claude VIGNERON

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

François BONNEAUX

Gérald CATAU

Jean-Claude CHEVIN

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Hélène LIVERTOUX

Bernard MIGNOT

Blandine MOREAU

Dominique NOTTER

Francine PAULUS

Christine PERDICAKIS

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Gabriel TROCKLE

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Colette ZINUTTI

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	Thérapie cellulaire
Jean-Louis MERLIN	82	Biologie cellulaire
Jean-Michel SIMON	81	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Nathalie THILLY	81	Santé publique et Epidémiologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	Pharmacologie
Igor CLAROT	85	Chimie analytique
Joël DUCOURNEAU	85	Biophysique, Acoustique, Audioprothèse
Raphaël DUVAL	87	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	87	Hématologie, Biologie cellulaire
Luc FERRARI	86	Toxicologie
Pascale FRIANT-MICHEL	85	Mathématiques, Physique
Christophe GANTZER	87	Microbiologie
Frédéric JORAND	87	Eau, Santé, Environnement
Isabelle LARTAUD	86	Pharmacologie
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	87	Biochimie
Pierre LEROY	85	Chimie physique
Philippe MAINCENT	85	Pharmacie galénique
Patrick MENU	86	Physiologie
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	87	Biochimie, Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	81	Pharmacie clinique
Alexandre HARLE	82	Biologie cellulaire oncologique
Julien PERRIN	82	Hématologie biologique
Loïc REPPPEL	82	Biothérapie
Marie SOCHA	81	Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	87	Parasitologie
Xavier BELLANGER	87	Parasitologie, Mycologie médicale
Emmanuelle BENOIT	86	Communication et Santé
Isabelle BERTRAND	87	Microbiologie
Michel BOISBRUN	86	Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER	85	Chimie Physique
Cédric BOURA	86	Physiologie
Joël COULON	87	Biochimie
Sébastien DADE	85	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	85	Chimie analytique
Roudayna DIAB	85	Pharmacie galénique
Natacha DREUMONT	87	Biochimie générale, Biochimie clinique
Florence DUMARCAY	86	Chimie thérapeutique
François DUPUIS	86	Pharmacologie
Reine EL OMAR	86	Physiologie
Adil FAIZ	85	Biophysique, Acoustique
Anthony GANDIN	87	Mycologie, Botanique
Caroline GAUCHER	86	Chimie physique, Pharmacologie
Stéphane GIBAUD	86	Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT	86	Chimie organique
Olivier JOUBERT	86	Toxicologie, Sécurité sanitaire

Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD	86/01	Droit en Santé
Christophe MERLIN	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Arnaud PALLOTTA✕	86	Bioanalyse du médicament
Marianne PARENT	85	Pharmacie galénique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL	85	Informatique en Santé (e-santé)
Anne SAPIN-MINET	85	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	87	Mycologie, Botanique
Guillaume SAUTREY	85	Chimie analytique
Rosella SPINA	86	Pharmacognosie
Sabrina TOUCHET	86	Pharmacochimie
Mihayl VARBANOV	87	Immuno-Virologie
Marie-Noëlle VAULTIER	87	Mycologie, Botanique
Emilie VELOT	86	Physiologie-Physiopathologie humaines
Mohamed ZAIYOU	87	Biochimie et Biologie moléculaire

PROFESSEUR ASSOCIE

Julien GRAVOULET	86	Pharmacie clinique
Anne MAHEUT-BOSSER	86	Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	11	Anglais
--------------------	----	---------

✕ En attente de nomination

***Disciplines du Conseil National des Universités :**

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTÉ N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI
IMPROBATION AUX OPINIONS ÉMISES DANS LES THÈSES, CES
OPINIONS DOIVENT ÊTRE CONSIDÉRÉES COMME PROPRES À
LEUR AUTEUR ».

Remerciements

Aux membres du Jury,

À Madame Natacha DREUMONT, pour avoir dirigé ce travail. Sans toi je n'aurais probablement pas pu poursuivre en thèse universitaire. Merci pour ton aide, tes conseils, ton accompagnement quotidien, ton soutien sans faille dans les moments difficiles et ceux encore à venir, ta disponibilité et ta bienveillance. Je ne saurais te remercier assez et je te prie de trouver toute ma reconnaissance pour ce travail.

À Madame le Professeur Brigitte LEININGER-MULLER, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la Présidence de cette thèse. Pour votre soutien et votre sourire de tous les jours, pour les pauses et leurs conversations, merci infiniment, vous resterez toujours un modèle pour moi.

À Monsieur le Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET, pour m'avoir confié ce travail et offert les moyens de le réaliser. Soit assuré de mon plus grand respect et merci à toi de m'avoir fait confiance pour ce projet et celui à venir.

À Monsieur le Professeur Jean-Yves JOUZEAU, je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail et de m'avoir accompagnée depuis mes débuts. Merci de votre gentillesse et de vos précieux conseils lors de nos discussions. Veuillez trouver ici l'expression de ma plus sincère gratitude.

À Madame Pauline BILLARD, c'est un honneur pour moi de te compter parmi les membres de mon jury. Maturité on disait ? Merci d'avoir accompagné ces (trop) longues années d'études ! Je te souhaite la plus belle carrière et une vie pleine de joie, tu le mérites.

Je remercie également les différents organismes ayant participé au financement de ce premier travail qui n'aurait pas été possible sans la Fondation pour la Recherche Médicale, la Ligue contre le Cancer, l'Association des Chefs de Service du CHU de Nancy ainsi que l'INSERM U1256 et l'Université de Lorraine.

Je tiens aussi à remercier le Professeur Jean-Louis GUÉANT, directeur du laboratoire N-GERE pour m'avoir accueillie durant ces quelques années de recherche en Master puis en Thèse d'Université. Merci de m'avoir permis de travailler au sein d'un établissement aux qualités humaines indéniables et où les compétences sont si nombreuses.

À ma grand-mère, Partie trop tôt, c'est à toi que je dédie ce travail Jemma, je sais que tu serais très fière aujourd'hui. Tu me manques.

À mon père, Ta plus grande a enfin réussi, la petite fille trop audacieuse, trop impatiente et obstinée est devenue celle dont tu seras fière je l'espère. Merci pour ta présence, puisse le ciel te laisser vieillir à mes côtés encore de nombreuses années Papa.

À ma mère et mes sœurs, Grandir dans une famille nombreuse est une fierté pour moi, j'espère pouvoir vous rendre fières également. Tu verras Meïssa, ce n'est pas facile tous les jours mais ça en vaut vraiment la peine ! Quant à vous Lamria et Nafissa que j'ai à peine vu grandir, vous verrez ce n'est pas si long finalement et ça vaut le coup.

À ma cousine et ses enfants, Pour ton soutien permanent Vanessa, ces heures au téléphone, tu es la grande sœur que je n'ai jamais eue et je serai toujours là pour vous, Alicia et Lucas.

À ma belle-famille (ou presque), Merci à vous Françoise et Michel pour m'avoir accueillie dans votre si belle famille, vos encouragements, votre générosité et votre aide indéfectible depuis toutes ces années. À Lolo, garde la foi ! Finalement les études c'est vite passé et ça ne mérite pas qu'on se stresse autant (oui c'est bien moi qui dis ça) merci pour tout. Alice, Arnaud et leurs enfants pour votre soutien. Vous ne mesurez probablement pas assez toutes et tous l'importance de votre famille sur mon travail mais je vous en suis infiniment reconnaissante.

À toutes les bénévoles et amies de l'association BARF-ASSO, Aline, Céline, Gaby, Tina, Maïa, Camille, Kat, Iseult, Murielle, Cam, Mel et Marie. Merci à vous toutes pour votre soutien, je n'aurais jamais imaginé que notre association grandisse si vite et si bien et tout cela c'est uniquement grâce à vous.

À tout le laboratoire N-GERE et collaborateurs,

À Tunay, pour ton accompagnement, ton soutien et ton humour, qu'est-ce que j'aurais fait sans toi ? Pas de deuxième thèse ça c'est certain ! Je te souhaite la plus belle carrière qui soit père Tutu !

À Franck mon co-directeur, pour ton humour et ton accompagnement même si les trois années de thèse ne sont pas faciles heureusement que vous êtes là l'équipe 2.

Laura et Coco en Master, puis Maëlle, Lynda, Romain et évidemment Blanche-Neige qui a poursuivi en thèse avec moi ! À nos longues discussions et confidences, ces si nombreux fous rires, merci d'être là Pau, ma siamoise diabolique je n'aurais pas pu rêver mieux comme collègue et je n'aurais pas imaginé trouver une meilleure amie pour veiller l'une sur l'autre au labo. Je te souhaite le meilleur pour les années à venir. Merci également à Caroline la meilleure stagiaire que je n'ai jamais eue ! Même si je n'ai pas réussi à te faire rester, tu as été l'une des plus belles rencontres. Plein de bonheur à toi.

Merci aux secrétaires Aline (mamie Line), Catherine, Dominique, et Frédérique (Docteur Fred ☺) pour vos sourires, les pauses repas ne seraient pas les mêmes sans votre soutien et nos discussions, vous faites partie de celles qui me manqueront le plus, sincèrement.

Merci également à Amélia (si tous les membres du labo pouvaient être comme toi ce serait la joie tous les jours), Aurélie (je me sens moins seule maniaque du labo), Jérémie (même si je déteste le Western pour le restant de mes jours merci de ton aide !), Rémy et Greg (j'espère ne plus jamais réaliser d'expérimentation animale mais merci de votre aide précieuse toujours dans la bonne humeur !), Carine merci infiniment pour tes conseils et tes encouragements réguliers, David toujours souriant, sans oublier Sébastien et Céline pour votre soutien dans les moments pas toujours faciles ! Merci mille fois à Coumba, à chaque fois c'est un plaisir de rire et discuter avec toi. Merci également à Anne Sapin pour ton aide précieuse et tes conseils bienveillants. Toute ma reconnaissance également à Marie Vallier de Lille, une superbe rencontre ! Ce sera toujours un plaisir de retravailler avec toi et de boire un verre à l'occasion pour parler Microbiote ! Et enfin le meilleur pour la fin : un immense merci pour TOUT à Jean-Marc, notre sauveur à tous !!!

À **Anne-Charlotte**, Pour toutes ces années, toute l'aide et la force que tu m'as apprise. Je ne te souhaite que le meilleur, avec toute mon admiration Anne-cha !

Au chef, Le seul l'unique ! Merci de m'avoir offert mon premier vrai poste, celui me permettant de financer mes études mais aussi qui m'a le plus appris et m'a donné envie d'enseigner. Vous resterez toujours notre chef à Forma.

À **Bertille**, Pour m'avoir initiée à la recherche, au travail de labo, dans la bonne humeur en toutes circonstances, absolument toutes ! À nos quelques mois passés ensemble, nos voyages à Lyon et nos si nombreux fous rires. Je te souhaite la plus belle des vies de famille et une brillante carrière, tu le mérites plus que personne. Merci.

À **Pauline, Nina (binôme !!!), Cyssou, Elo, Yolaine, Claire, Loulou, Madeline, Florie-Anne**, toutes ces années de fac n'auraient pas été les mêmes sans vous toutes !

À **Tatie Laeti, Béré, Caro, Sylvie, Laurène, Mariza, Rod, Pascal, Bruno, Martial, Marie, Manue, Sylvana, Emmanuelle, Alicia, Fabrice, Laurène, Marie, Justine et Fred, Véro, Jordan, Christelle, Philippe et Françoise, Nat, Aurélie, Isa, Mickael et Priscilla, Phil, Anna, Tatiana, Poupette et Sophie, Hélène, notre regrettée Julia**, et toute la communauté du CL qui a changé ma vie, j'en oublie j'en suis sûre ne m'en voulez pas.

Au Dr Sylvia Morand, Tu es la véto qui a changé ma vie ! Vraiment. Merci du fond du cœur pour tout ce que tu as fait pour Vénus et moi, ce que tu fais encore pour Doudou. Toi seule comprends ce lien entre mes bébés et moi et nos discussions sont toujours un plaisir.

À **Cécile, Baptiste, Laurent et Valérie**, Ma famille chien, ma plus belle rencontre, je crois ne jamais vous avoir dit à quel point je vous aime, tout le monde devrait avoir des amis aussi précieux que vous l'êtes : présents en toutes circonstances, les bonnes comme les mauvaises, toujours prêts pour un apéro comme pour un coup de main, un soutien. Je vous dédie également ce travail, merci à vous.

À **Guillaume**, Mon tout, merci ne suffit pas... À ces 13 années passées à tes côtés et toutes celles qui nous seront données de passer ensemble. Avec tout mon amour.

Table des matières

Table des matières	1
Liste des figures	3
Liste des tableaux	6
Liste des abréviations	7
1. Introduction	8
1.1. Obésité, surpoids et habitudes alimentaires	8
1.1.1. Définition surpoids et obésité	9
1.1.2. Physiopathologie de l'obésité et du surpoids	10
1.1.3. Pathologies associées à l'obésité	12
1.1.4. Industrialisation de l'alimentation	14
1.2. Interface digestive et Microbiote intestinal	16
1.2.1. La muqueuse digestive	16
1.2.2. Le microbiote intestinal	23
1.3. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)	36
1.3.1. Épidémiologie	36
1.3.2. Maladie de Crohn (MC)	36
1.3.3. Rectocolite hémorragique (RCH)	38
1.3.4. Physiopathologie des MICI	39
1.3.5. Génétique des MICI	39
1.3.6. Facteurs environnementaux et MICI	40
1.3.7. Microbiote et MICI	42
1.3.8. Mécanismes cellulaires	44
1.3.9. Prise en charge thérapeutique des MICI	49
2. Hypothèses de travail et Objectifs	57
3. Matériels et Méthodes	60
3.1. Expérimentation animale	60
3.1.1. Choix du modèle animal	60
3.1.2. Conditions d'élevage	60
3.1.3. Protocole préliminaire MICICAL 2017	60
3.1.4. Protocole MICICAL 2018	61
3.1.5. Prélèvements <i>in vivo</i>	62
3.1.6. Traitement colitogène	62
3.1.7. Score clinique d'inflammation	63
3.1.8. Examen coloscopique	63
3.1.9. Prélèvements et préparation des échantillons biologiques	65
3.2. Analyse par western blot	65
3.2.1. Broyage et extraction des protéines	65
3.2.2. Electrophorèse et immunodetection	66
3.3. Mesure des marqueurs biochimiques sanguins des animaux	68
3.4. Étude histologique	68
3.5. Étude du microbiote intestinal	68
3.6. Analyses statistiques	68
4. Résultats	69
4.1. Protocole MICICAL 2017 : Régimes hypercaloriques	69

4.1.1.	Suivi de la consommation alimentaire	69
4.1.2.	Suivi de la prise de poids.....	69
4.1.3.	Étude des selles	71
4.1.4.	Analyse de marqueurs biochimique sanguins	72
4.1.5.	Étude des signes cliniques	73
4.1.6.	Étude du score endoscopique	75
4.1.7.	Analyse par Western-Blot dans la muqueuse colique	77
4.1.8.	Étude du microbiote fécal	81
4.2.	Protocole MICICAL 2018 : durée des régimes et effet "mémoire" du microbiote ...	85
4.2.1.	Suivi de la prise de poids.....	85
4.2.2.	Glycémie sanguine	87
4.2.3.	Suivi de la consommation alimentaire et hydrique	88
4.2.4.	Score clinique DAI.....	89
4.2.5.	Score endoscopique	91
4.2.6.	Longueur des côlons.....	93
4.2.7.	Poids de la rate	95
4.2.8.	Étude du score histologique	97
4.2.9.	Analyse par Western Blot groupes 8 semaines	99
4.2.10.	Étude du microbiote fécal	103
5.	Discussion	105
5.1.	Protocole préliminaire MICICAL 2017	105
5.1.1.	Conséquences des régimes hypercaloriques	105
5.1.2.	Conséquences sur la colite chimioinduite	106
5.1.3.	Activation de l'autophagie	106
5.1.4.	Diminution de la diversité du microbiote intestinal	107
5.2.	Protocole MICICAL 2018	107
5.2.1.	Conséquences des régimes	107
5.2.2.	Conséquences sur la colite	108
5.2.3.	Activation de l'autophagie	109
5.2.4.	Rôle du microbiote intestinal	109
6.	Conclusion et perspectives	110
6.1.	Perspectives à court terme : conformité des résultats.....	112
6.1.1.	Poursuites des analyses des protocoles <i>in vivo</i> terminés.....	112
6.1.2.	Étude d'autres voies impactées par transcriptomique	112
6.1.3.	Protocole <i>in vivo</i> effet dose MICICAL 2019	112
6.2.	Rôle de NOD2	113
6.2.1.	Protocole <i>in vivo</i>	113
6.3.	Protocole <i>in vitro</i>	114
6.4.	Rôle du microbiote intestinal.....	115
	Bibliographie.....	116

Liste des figures

Figure 1 : Prévalence de l'obésité chez l'adulte dans le monde (OMS, 2017).	8
Figure 2 : Déterminants de l'obésité (Elisha <i>et al.</i> , 2013)..	10
Figure 3 : Obésité, inflammation et pathologies (adapté de Tchernof et Després, 2013 ; Heymsfield et Wadden, 2017)..	13
Figure 4 : Consommation mondiale de sucre et comparaison des différents types de régimes alimentaires dans le monde (adapté de Barrington <i>et al.</i> , 2018 ; Lustig, Schmidt et Brindis, 2012)..	15
Figure 5 : Le système digestif et les glandes associées (d'après Carlson, 2019).	16
Figure 6 : Aspect histologique de la paroi digestive (adapté de Collège des universitaires en hépatogastro-entérologie, Beaugerie et Sokol, 2014).	17
Figure 7 : Barrière épithéliale et système immunitaire intestinal (Magalhaes, Tattoli et Girardin, 2007)..	19
Figure 8 : Activation de l'immunité dans la muqueuse intestinale (adapté de Khor <i>et al.</i> , 2011 ; Turner, 2009)..	19
Figure 9 : Tolérance immunitaire (a) et réponse à une infection digestive (b) (adapté de Mowat 2003)..	21
Figure 10 : Arbre phylogénétique des différentes espèces bactériennes (Cassard et Thomas, 2019)..	24
Figure 11 : Facteurs modulant le microbiote intestinal de l'enfant selon les différents stades de vie (d'après Milani <i>et al.</i> , 2017)..	24
Figure 12 : Composition et concentration des espèces microbiennes dominantes dans le tube digestif (adapté de Sartor 2008)	25
Figure 13 : Facteurs modulateurs et évolution de la composition du microbiote intestinal au cours de la vie (adapté de Nagpal <i>et al.</i> , 2018 ; Vaiserman, Koliada, et Marotta, 2017)..	26
Figure 14 : Barrière immunitaire intestinale : coopération de nombreux mécanismes conjointement à la colonisation bactérienne de l'intestin (Gaboriau-Routhiau et Cerf-Bensussan, 2016)..	28
Figure 15 : Digestion des glucides par le microbiote intestinal (El Kaoutari <i>et al.</i> , 2014).	30
Figure 16 : Digestion microbienne des protéines (Marteau et Doré, 2017).	31
Figure 17 : Facteurs modulant l'homéostasie intestinale chez l'adulte (adapté de Marteau et Doré, 2017 ; d'après Konkel, 2013)..	32
Figure 18 : Effets physiologiques des prébiotiques sur la flore intestinale (Delzenne et Cani, 2008)..	33
Figure 19 : Incidence des MICI dans le monde en 2015 (d'après Kaplan, 2015).	37
Figure 20 : Progression de l'incidence de la MC entre 1988 et 2008 dans la population des moins de 20 ans (A) et évolution de l'incidence de MC selon l'année de naissance (B (Registre EPIMAD – Observatoire National de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique).	37
Figure 21 : Étiologie des MICI et mécanismes physiopathologiques impliqués (d'après Rogler 2013)..	39

Figure 22 : Facteurs impliqués dans le développement des MICI (adapté de Ananthkrishnan, 2015).....	41
Figure 23 : Dysbiose intestinale observée chez les patients atteints de MICI (d'après Kökten <i>et al.</i> , 2016).	43
Figure 24 : Comparaison microbiote intestinal "sain" au microbiote observé chez les patients atteints de MICI (adapté de Peterson <i>et al.</i> , 2008).	43
Figure 25 : Comparaison entre une muqueuse saine et inflammée atteinte de MICI (d'après Sommer <i>et al.</i> , 2017)..	45
Figure 26 : Présentation des 3 voies de l'autophagie (d'après Cuervo, 2011).	46
Figure 27 : Présentation du mécanisme séquentiel de la macro-autophagie (adapté de Patel et Stappenbeck, 2013).	47
Figure 28 : Autophagie et régulation immunologique MICI (Nys, Agostinis et Vermeire, 2013).	48
Figure 29 : Scores CDAI (Crohn's Disease Activity Index) et HBI (Harvey-Bradshaw Index) (Brichet et Roblin, 2017).	52
Figure 30 : Algorithme approuvé pour le traitement de la maladie de Crohn légère active et active compliquée (Peyrin-Biroulet <i>et al.</i> , 2017).	52
Figure 31 : Arbre décisionnel du Vidal Recommandations 5 ^{ème} édition, Prise en charge de la Maladie de Crohn (Vidal recos, 2015).	54
Figure 32 : Hypothèse du lien alimentation, microbiote et MICI (d'après Khalili <i>et al.</i> , 2018).	57
Figure 33 : Schéma général du projet préliminaire MICICAL 2017.	61
Figure 34 : Schéma du protocole animal MICICAL 2018.	62
Figure 35 : Chronologie des protocoles expérimentaux.....	62
Figure 36 : Endoscopie souris au laboratoire N-GERE	64
Figure 37 : Schéma anatomique de la souris au cours de la dissection.....	65
Figure 38 : Suivi de la prise alimentaire.	70
Figure 39 : Étude de la prise de poids.	70
Figure 40 : Visualisation des animaux au terme du protocole <i>in vivo</i>	71
Figure 41 : Étude des analyses sanguines des souris.	72
Figure 42 : Étude des signes cliniques de la colite expérimentale.	74
Figure 43 : Visualisation des images endoscopiques (A) et étude des scores endoscopiques de la colite chimio-induite (B).	76
Figure 44 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'inflammation dans la muqueuse colique des souris.	78
Figure 45 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'autophagie dans la muqueuse colique des souris.	80
Figure 46 : Étude de l'alpha-diversité du microbiote sur les selles des souris mâles traitées ou non au DSS.....	82
Figure 47 : Effet du temps, du traitement colitogène et des régimes alimentaires sur la Beta-diversité du microbiote des souris mâles.....	82
Figure 48 : Effet du temps et des régimes alimentaires sur la β -diversité du microbiote des souris.	84
Figure 49 : Suivi de la prise de poids des souris au cours des 16 semaines de régime.....	86

Figure 50 : Étude de la glycémie sanguine des animaux en fin de régime.	87
Figure 51 : Suivi de la consommation alimentaire moyenne (A) et de la consommation hydrique moyenne (B).....	88
Figure 52 : Étude des signes cliniques de la colite expérimentale.	90
Figure 53 : Visualisation des images endoscopiques (A) et Score endoscopique moyen (B).	92
Figure 54 : Visualisation de l'aspect et de la taille des colons (A). Longueur moyenne des colons en fonction des régimes alimentaires (B).	94
Figure 55 : Étude du poids de la rate des souris.	96
Figure 56 : Étude des scores histologiques dans la muqueuse colique des souris.	97
Figure 57 : Visualisation des coupes histologiques de côlon.....	98
Figure 58 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'inflammation dans la muqueuse colique.....	100
Figure 59 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'autophagie dans la muqueuse colique.....	102
Figure 60 : Analyse de la biodiversité du microbiote fécal.....	103
Figure 61 : Analyse des indicateurs d'espèces dans le microbiote fécal des souris.....	104
Figure 62 : Résumé des résultats du protocole préliminaire MICICAL 2017.	110
Figure 63 : Résumé des résultats du protocole MICICAL 2018.	111
Figure 64 : Protocole MICICAL 2019.	113
Figure 65 : Rôle de NOD2 dans l'homéostasie et la physiopathologie des MICI (Philpott <i>et al.</i> , 2014).....	113
Figure 66 : Étude de l'absorption sur cellules Caco-2 cultivées en monocouche sur Transwell®.	114
Figure 67 : Schéma du protocole de transfert de flore.	115

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des adultes en fonction de l'IMC (OMS, 2003).....	9
Tableau II : Cellules épithéliales de la muqueuse intestinale et principales fonctions (d'après Marteau et Doré, 2017).	17
Tableau III : Cellules du système immunitaire intestinal (d'après Peterson 2012).	20
Tableau IV : Principaux médiateurs de l'inflammation et fonctions principales.....	22
Tableau V : Principales anomalies immunitaires décrites dans les modèles axéniques par rapport aux modèles conventionnels (d'après Cerf-Bensussan et Gaboriau-Routhiau, 2010 ; Marteau et Doré, 2017).....	29
Tableau VI : Caractéristiques cliniques et anatomiques de la MC et de la RCH (D'après Kökten <i>et al.</i> , 2016).....	38
Tableau VII : Principaux gènes de susceptibilité des MICI et fonctions biologiques associées (d'après Kökten <i>et al.</i> , 2016).	40
Tableau VIII : Symptômes et complications des MICI (Farré et Pariente, 2017 ; World Gastroenterology Organisation Global, 2015).	49
Tableau IX : Classification de Montréal (d'après Satsangi, 2006).	50
Tableau X : Graduation de l'activité de la maladie de Crohn selon le consensus ECCO (Peyrin-Biroulet <i>et al.</i> , 2017).	51
Tableau XI : Score de Mayo permettant d'évaluer l'activité de la RCH (d'après Stange <i>et al.</i> , 2008).....	55
Tableau XII : Composition et référence des régimes alimentaires des souris.....	61
Tableau XIII : Critères utilisés pour calculer le score DAI « Disease Activity Index » (d'après Murthy <i>et al.</i> 1993).	63
Tableau XIV : Critères utilisés pour calculer le score UCEIS : « Ulcerative Colite Endoscopic Index of Severity » (d'après Travis <i>et al.</i> 2012).	64
Tableau XV : Anticorps et conditions utilisées en Western Blot.....	67

Liste des abréviations

5-ASA : dérivé de l'acide 5-aminosalicylique	LB : Lymphocyte B
6-MMP : 6-méthylmercaptapurine	LC3 : « Light Chain 3 »
6-MP : 6-mercaptapurine	LPS : Lipopolysaccharide
AFA : Association François Aupetit (Vaincre la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique)	LT : Lymphocyte T
AG : Acides Gras	LTh : Lymphocyte T « Helpers »
AGCC : Acide gras à chaîne courte	LT CD4 ⁺ : Lymphocyte T naïf
AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens	LT CD8 ⁺ : Lymphocyte T cytotoxique
AIEC : <i>Escherichia Coli</i> Adhérent Invasif	MC : Maladie de Crohn
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché	MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
ASCA : Anticorps Anti-Saccharomyces <i>Cerevisiae</i>	mTOR : « mammalian Target Of Rapamycin »
ATG : « Autophagy-Related Genes »	MUC : Mucine
BCA : « BiCinchoninic acid Assay »	NC : Normocalorique
BSA : « Bovine Serum Albumin »	NK : « Natural killer »
CARD15 : « Caspase Recruitment Domain-containing protein 15 »	NLR : « NOD-Like Receptors »
CCL et CXCL : chemokines	NOD2 : « Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2 »
CD : Cellule Dendritique	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
CMA : « Chaperone Mediated Autophagy »	OTU : « Operational Taxonomic Unit »
CPA : Cellules Présentatrices de l'Antigène	PAMP : « Pathogen Associated Molecular Pattern »
CREGG : Club de Réflexion des Cabinets et Groupes d'Hépto-Gastroentérologie	pANCA : Anticorps Anti-Neutrophiles Cytoplasmiques périnucléaires
CRP : protéine C-réactive	PE : Phosphatidyl-Ethanolamine
DAI : « Disease Activity Index »	PGE2 : Prostaglandine E2
DEXA : « Dual x-ray absorptiometry » : absorptiométrie biphotonique à rayons X	PI3P : Phosphatidylnositol 3-Phosphate
DSS : Dextran Sulfate de Sodium	PI3K : Phosphatidylnositol-3-Phosphate Kinase
ECCO : European Crohn's and Colitis Organisation	PMSF : fluorure de phénylméthylsulfonyle
EPIC : « European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition »	PN : Polynucléaire
ESPEN : « European Society for Clinical Nutrition and Metabolism »	PRR : « Pattern Recognition Receptor »
GALT : « Gut-associated lymphoid tissue »	PVDF : Polyvinylidene Fluoride
HAS : Haute Autorité de Santé	RA4 : Régime alterné toutes les 4 semaines
HG : Hyperglucidique	RA8 : Régime alterné toutes les 8 semaines
HL : Hyperlipidique	RCH : Rectocolite Hémorragique
HRP : « Horseradish peroxidase »	RE : Réticulum Endoplasmique
HSC70 = HSPA8 : « Heat Shock Cognate protein 70 kDa »	RIPA : « RadioImmunoPrecipitation Assay »
HSP90 : « Heat Shock Protein 90 kDa »	RR : Risque Relatif
IFN γ : Interféron γ	SDS : Sodium Dodecyl Sulfate
IgA, IgG : Immunoglobulines A, G	TBST : « Tris-Buffered Saline-Tween 20 »
IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6... : Interleukines	TG : Triglycérides
ILC : Cellules Lymphoïdes Innées	TGF β : « Transforming Growth Factor »
IMC : Indice de Masse Corporelle	TLR : « Toll-Like Receptors »
INRA : Institut National de la Recherche Agronomique	TNBS : Acide 2,4,6- trinitrobenzènesulfonique
IRGM : « Immunity Related GTPase M »	TNF α : « Tumor Necrosis Factor »
LAMP-2A : « Lysosomal Associated Membrane protein 2A »	TRUC : T-bet-/- RAG2-/- ulcerative colitis
	UCEIS : « Ulcerative Colite Endoscopic Index of Severity »
	ULK1 : « Unc-51-Like kinase 1 »
	UPR : « Unfolded Protein Response »
	ZO-1 : « Zonula occludens »

1. Introduction

1.1. Obésité, surpoids et habitudes alimentaires

La prévalence du surpoids et de l'obésité n'a cessé d'augmenter ces dernières décennies en France comme dans le reste du monde, en particulier dans les pays fortement industrialisés (**Figure 1**), et ceci concerne de plus en plus d'enfants et de jeunes adultes (Verdot *et al.*, 2017). Le principal responsable serait notre mode d'alimentation qui s'est profondément transformé depuis 50 ans. En effet, selon le dernier rapport de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) concernant les comportements alimentaires des Français, on observe comme dans le reste de l'Europe, une augmentation de la part respective des sucres et des graisses dans la disponibilité calorique totale : jusqu'à 55 % pour les sucres et 40 % pour les graisses (Etievant *et al.*, 2010).

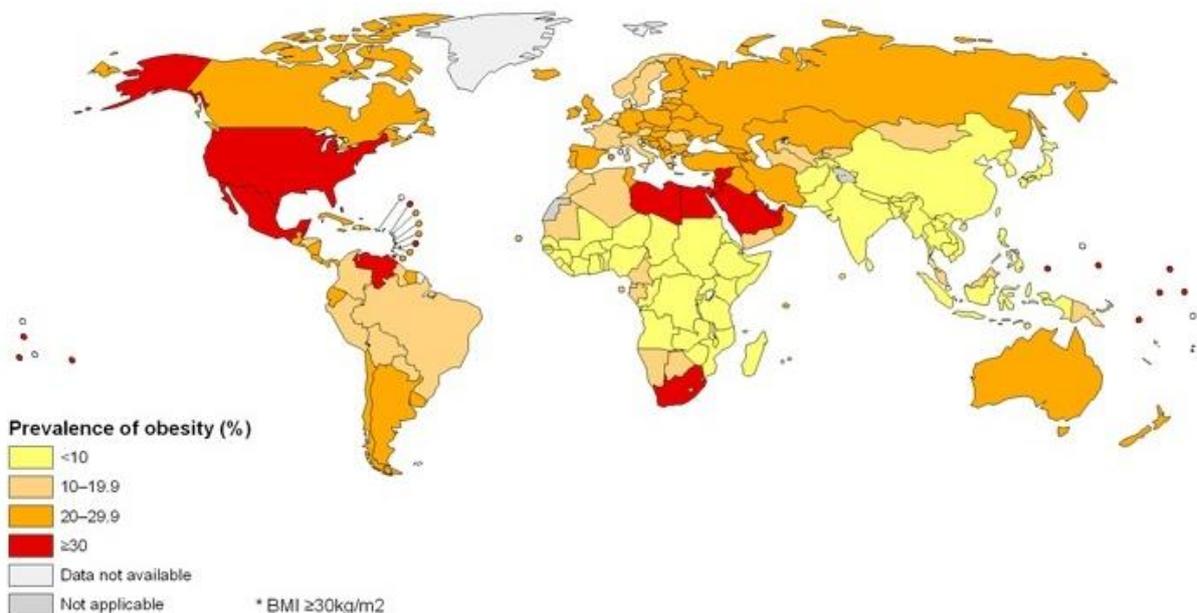


Figure 1 : Prévalence de l'obésité chez l'adulte dans le monde (OMS, 2017). Le constat est qu'une forte prévalence d'obésité est observée parmi les populations à faibles revenus dans les pays industrialisés. Il existe une légère prédominance féminine, en particulier en milieu urbain, et une corrélation négative avec le niveau socio-économique de ces dernières.

Les pays concernés sont les plus fortement industrialisés, où le mode de vie se traduit par une consommation excessive de graisses saturées et d'oméga-6, une réduction des apports en oméga-3 et une surconsommation de sel, de sucres raffinés et de produits transformés : c'est ce qu'on appelle le régime « Western diet » pour lequel les fast-food et les produits préparés ont une part importante, alors que les fruits et légumes frais sont de moins en moins consommés (Myles, 2014). En effet, plus les aliments sont transformés par l'industrie agro-alimentaire, plus on y retrouve de sucres ajoutés et de graisses saturées (Fardet *et al.*, 2015).

La surcharge pondérale entraînée par la consommation excessive de produits transformés, riches en sucres et en graisses, a pour conséquences diverses maladies telles que le diabète, des troubles musculo-articulaires, de nombreuses maladies cardiovasculaires ou encore certains cancers (Hruby et Hu, 2015).

D'autre part, sans obligatoirement souffrir de surpoids ou d'obésité, ce phénomène de « malbouffe » est à l'origine d'autres pathologies graves comme la stéatose hépatique non alcoolique, appelée également « maladie du soda », une pathologie inflammatoire du foie dont la prévalence ne cesse également d'augmenter (Li, Zhang et Zhan, 2018).

En termes de prévalence, le surpoids comme l'obésité augmentent aussi bien dans les pays développés que dans les pays en développement à un rythme alarmant : en 2016, plus de 1,9 milliards d'adultes et près de 340 millions d'enfants et adolescents âgés de 5 à 19 ans étaient en surpoids (Abarca-Gómez *et al.*, 2017). Dans les pays les plus pauvres, il est fréquent que dénutrition et obésité coexistent et dans ces derniers (pays d'Afrique et d'Asie en particulier), les populations urbaines sont les plus touchées (OMS, 2003). Selon l'OMS, « d'ici 2022, le nombre des enfants et des adolescents obèses dans le monde sera supérieur à celui des enfants dont le poids est insuffisant » bien que les taux d'obésité se soient relativement stabilisés dans les pays les plus riches.

1.1.1. Définition surpoids et obésité

L'obésité est une maladie chronique, définie comme une accumulation anormale ou excessive de graisse dans les tissus adipeux qui peut nuire à la santé. Elle engendre divers problèmes de santé tels que des troubles métaboliques dont le diabète de type 2 notamment, des maladies cardiovasculaires (hypertension artérielle), respiratoires (apnée du sommeil), de l'arthrose et même certains cancers (Hruby et Hu, 2015).

L'IMC (indice de masse corporelle) ou indice de Quételet, constitue la mesure la plus simple du surpoids et la plus couramment utilisée. Bien qu'il ne tienne pas compte des variations interindividuelles en termes de répartition des graisses, il permet une bonne estimation de la prévalence de l'obésité et des risques associés (OMS, 2003). L'IMC est calculé selon la relation suivante et est corrélé à la quantité de masse adipeuse : $IMC = \frac{\text{poids en kg}}{(\text{taille en m})^2}$. À partir de cet indice, des grades d'obésités ont été établis (**Tableau I**).

Cependant, plusieurs publications laissent penser que l'utilisation de l'IMC pris isolément conduit à une sous-estimation de la présence de facteurs de risque (HAS, 2011). Les données les plus récentes en épidémiologie démontrent une prévalence nettement augmentée ces dix dernières années, si bien qu'en France, près de 7 millions de personnes souffrent d'obésité, soit une augmentation de 75 % entre 1997 et 2012 (Matta *et al.*, 2016).

Tableau I : Classification des adultes en fonction de l'IMC (OMS, 2003)

Classification	IMC	Risque de morbidité associée
Insuffisance pondérale	< 18,50	Faible (mais risque accru d'autres problèmes cliniques)
Éventail normal	18,50 – 24,99	Moyen
Surpoids	≥ 25,00	
Pré-obésité	25,00 – 29,99	Modéré
Obésité de classe I	30,00 – 34,99	Accru
Obésité de classe II	35,00 – 39,99	Important
Obésité de classe III	≥ 40,00	Très important

De plus, ces enquêtes épidémiologiques démontrent un lien entre le surpoids, les catégories socio-professionnelles et l'âge : il semble ainsi qu'il existe une relation inversement proportionnelle entre niveau de revenus d'un foyer et prévalence de l'obésité, de même le surpoids touche désormais des patients de plus en plus jeunes (Ng *et al.*, 2014).

En effet, même si les causes de l'obésité sont complexes, le surpoids reste la conséquence d'une alimentation trop riche et d'une baisse de l'activité physique. Cependant, il faut briser les idées reçues concernant l'obésité ou l'excès de poids : ce n'est pas une simple surnutrition (par opposition à la dénutrition) mais plutôt une forme de malnutrition (Delisle, 2017). En France, comme dans la majeure partie des pays fortement industrialisés, les habitudes alimentaires se sont fortement dégradées et ce dès le plus jeune âge si bien que les experts parlent de phénomène épidémique mondial. Boissons gazeuses, sandwichs, peu de produits frais et un apport calorique quotidien bien supérieur aux besoins journaliers recommandés ont pour conséquences un surpoids juvénile puis une obésité à l'âge adulte (OMS, 2002).

1.1.2. Physiopathologie de l'obésité et du surpoids

L'obésité est reconnue comme une maladie depuis 1997, puisque l'obésité altère le bien-être physique, psychique et social des patients (Gatta-Cherifi, 2016). C'est avant tout le résultat d'un échec de mécanismes de régulation (**Figure 2**) : elle résulte de l'ingestion, sur une période relativement longue de trop de calories accompagnée d'une dépense énergétique insuffisante (Elisha *et al.*, 2013).

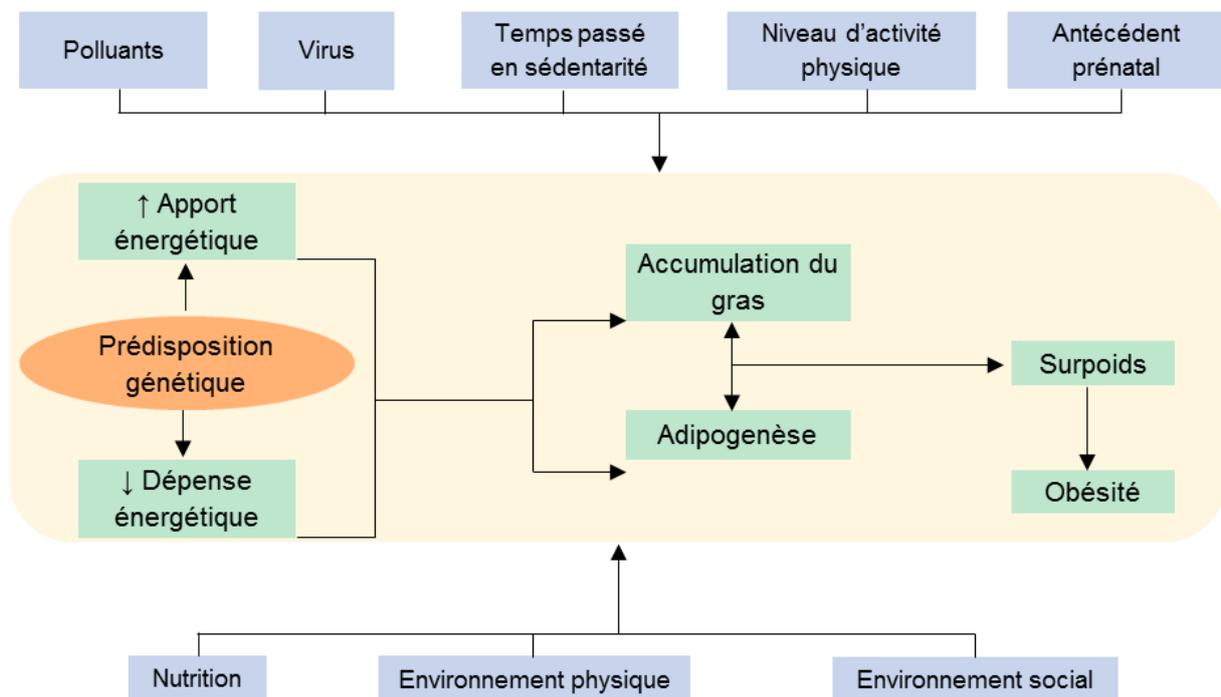


Figure 2 : Déterminants de l'obésité (Elisha *et al.*, 2013). C'est une pathologie multifactorielle résultant de facteurs environnementaux et génétiques mais principalement liée à l'alimentation et au manque de dépense énergétique, favorisant ainsi une balance calorique positive.

En dehors des facteurs génétiques, les principaux responsables restent le comportement alimentaire et physique des patients. L'apport calorique et les dépenses nécessaires au maintien d'un poids ou à une croissance saine ont toujours été au centre des préoccupations et la restriction calorique reste aujourd'hui l'une des priorités des approches de gestion du poids (Hruby et Hu, 2015).

L'obésité démarre par une phase « non visible », sans excès de poids, allant de la vie intra-utérine jusqu'au début de la prise de poids. Cette phase préclinique est suivie d'une prise de poids importante mais sans conséquence clinique. La véritable phase d'obésité constituée, durable, chronique s'installe généralement à l'âge adulte (Farah, Lucas-Martini et Basdevant, 2012). Avec le vieillissement elle peut aboutir à une diminution de la masse maigre (perte de fonction et de la masse musculaire) et on parle alors d'obésité sarcopénique, particulièrement difficile à prendre en charge (Boirie *et al.*, 2016).

En effet, il existe différents types d'obésité dont principalement l'obésité androïde (abdominale) et gynoïde (autour des hanches). Les risques respiratoires, articulaires et d'infertilité sont les mêmes mais c'est l'obésité androïde qui est la plus à risque de complication métabolique et de diabète (Tchernof et Després, 2013). L'excès de masse grasse résulte à la fois d'une hypertrophie des adipocytes au fur et à mesure qu'ils accumulent des lipides et d'une hyperplasie : la masse du tissu adipeux ne cesse de s'accroître puisque ces cellules ont la capacité de recruter de nouvelles cellules quand elles ne peuvent plus se charger en graisse (Arner *et al.*, 2010).

Cependant, toutes les personnes exposées à un environnement « obésogène » ne deviennent pas obèses. Bien que les estimations varient, le taux d'héritabilité de l'IMC élevé peut aller de 40 à 70% (Bray *et al.*, 2016). On reconnaît 11 formes rares d'obésité monogénique, incluant la déficience en leptine par exemple ou la mutation du gène codant pour le récepteur à la mélanocortine-4, forme la plus courante d'obésité monogénique (Pigeyre *et al.*, 2016).

À ceci s'ajoutent de nombreux mécanismes polygéniques conférant une susceptibilité accrue à l'obésité : différents changements transcriptionnels et traductionnels conditionnés par l'environnement ont été étudiés à l'échelle de l'épigénome, permettant d'élucider des expositions prénatales et postnatales pouvant influencer le profil métabolique des patients (Van Dijk *et al.*, 2015).

1.1.3. Pathologies associées à l'obésité

L'obésité elle-même est reconnue comme une maladie chronique, définie par une adiposité accrue. Elle s'accompagne d'un syndrome métabolique : plus la quantité de masse grasse augmente, plus l'organisme devient résistant à l'insuline, jusqu'à l'apparition du diabète. Plus de 80 % des diabètes de type 2 peuvent être attribués à l'obésité (Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (France), 2008).

Différentes cohortes ont permis de mettre en évidence un lien de causalité entre l'adiposité (corporelle ou abdominale) et certaines pathologies (**Figure 3**) :

- Diabète de type 2 (Guh *et al.*, 2009 ; Merlotti *et al.*, 2014)
- Cancer (adénocarcinome œsophagien, pancréatique, colorectal, sein, de l'endomètre, du rein...) (Wiseman, 2008)
- Cardiopathies maladies cardio-vasculaires (hypertension, AVC...) (Guh *et al.*, 2009)
- Hépatopathies (SIGN, 2010)
- Troubles ostéo-articulaires (arthrose) (Hsieh *et al.*, 2000 ; SIGN, 2010)
- Reflux gastro-œsophagien (Nadaletto, Herbella et Patti, 2016)
- Fécondité/Fertilité et anomalies fœtales (Mills *et al.*, 2010 ; National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK), 2004 ; Tennant, Rankin et Bell, 2011)
- Dépression nerveuse (Sutaria *et al.*, 2019)
- Troubles cutanés (maladies veineuses, lymphatiques, mycoses...) (Basdevant et Guy-Grand, 2004)
- Troubles respiratoires (asthme, apnées du sommeil) (Andersen, Holm et Homøe, 2019 ; Bates *et al.*, 2017)
- Troubles rénaux et urinaires (Hawkins *et al.*, 2011 ; Waetjen *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2008)

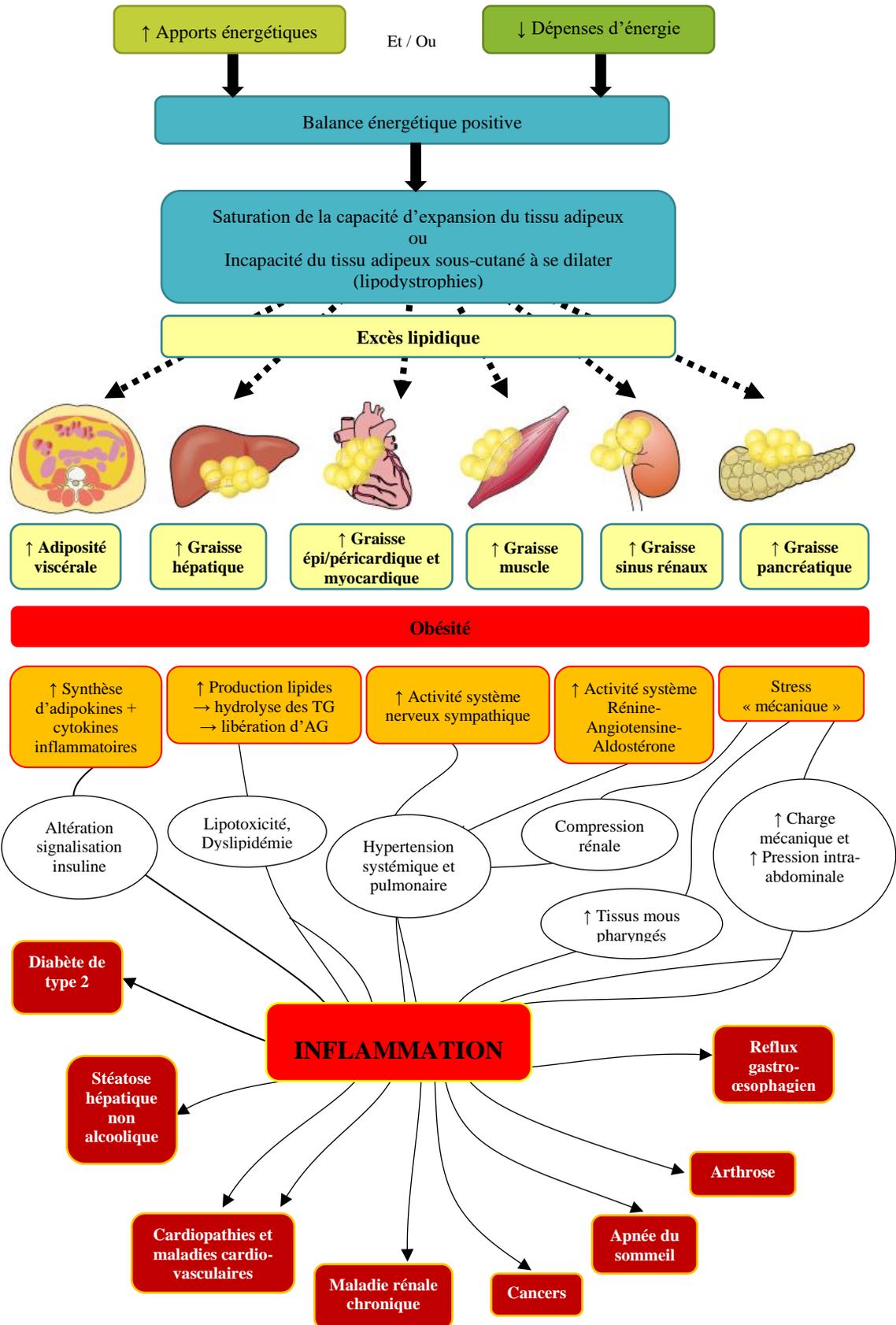


Figure 3 : Obésité, inflammation et pathologies (adapté de Tchernof et Després, 2013 ; Heymsfield et Wadden, 2017). Quelques voies par lesquelles l'excès adipeux mène à des facteurs de risques majeurs et à des maladies chroniques fréquentes. Lorsque le tissu adipeux sous-cutané ne peut plus s'étendre et saturer, l'excès lipidique atteint les organes, ce qui provoque un état inflammatoire généralisé, responsable de diverses pathologies chroniques. TG : Triglycérides, AG : Acides Gras.

1.1.4. Industrialisation de l'alimentation

Selon une étude récente ayant évalué les consommations alimentaires et leurs conséquences sur la santé dans 195 pays du monde, près de 11 millions de décès et 255 millions de vies écourtées seraient attribuables à des facteurs de risques alimentaires (Afshin *et al.*, 2019). Avant le développement à l'échelle industrielle de l'agriculture et de l'élevage, les choix alimentaires des Hommes étaient limités à des produits peu transformés. En considérant non seulement les qualités nutritives et les types d'aliments disponibles, ainsi que leur quantité consommée, il est évident que l'alimentation s'est industrialisée à mesure que les pays se sont occidentalisés (Cordain *et al.*, 2005).

Par exemple, aux États-Unis près de 75% de l'énergie quotidienne totale est apportée par des produits laitiers et céréales transformés, des sucres raffinés, des huiles végétales raffinées et de l'alcool (Cordain *et al.*, 2000), soit finalement 3 calories sur 5 qui proviennent d'aliments transformés/ultra-transformés (Martínez Steele *et al.*, 2016). Et les pays d'Amérique ne sont pas les seuls concernés, près de 36% de l'apport énergétique des Français est constitué de nourriture ultra-transformée bien que cela reste plus faible qu'au Canada (61,7%) ou en Angleterre (53%) (Julia *et al.*, 2018).

La cohorte Nutrinet Santé a pu établir des liens entre les aliments ultra-transformés et les risques de cancers (Diallo *et al.*, 2018), de syndrome métabolique (Baudry *et al.*, 2018) et de maladies cardiovasculaires (Lelong *et al.*, 2017), ou encore de troubles digestifs (Buscail, Sabate, Bouchoucha, Kesse-Guyot, *et al.*, 2017 ; Buscail, Sabate, Bouchoucha, Torres, *et al.*, 2017). En dehors des procédés de transformation (extrusion, hydrogénation) et des additifs (colorants, émulsifiants, texturants), les trois principaux facteurs alimentaires responsables de troubles sur la santé sont la forte teneur en sel, la faible teneur en céréales complètes et en fruits et légumes frais, ainsi que la forte teneur en graisses saturées (aux dépens des acides gras insaturés) (Afshin *et al.*, 2019).

Cependant, les études récentes s'intéressent de plus en plus au rôle du sucre dans notre alimentation, bien que peu de liens solides n'aient pu être établis, en dehors du risque d'obésité et de diabète (Rippe et Angelopoulos, 2016a). Pourtant, depuis le début de la révolution industrielle dans les pays occidentaux il y a environ 200 ans, la consommation de tous les sucres raffinés n'a cessé d'augmenter si bien qu'elle atteint des sommets sans précédent au cours de l'évolution (Kiple et Ornelas, 2000). Pour rappel, l'OMS recommande un apport maximal de 50 grammes par jour en sucres simples (hors lactose/galactose) pour un adulte et 25 g chez l'enfant soit 1/3 des glucides de l'alimentation (10% de la ration énergétique totale) et incite d'ailleurs à réduire à 5% ces apports en sucres (Geneva : World Health Organization, 2015). Or les français consomment aujourd'hui près de 100 grammes de sucre par jour, incluant les sucres ajoutés qui contribuent en moyenne à 50% de la consommation en sucre (ANSES, 2009).

Ces sucres pourraient avoir des conséquences chroniques sur le cerveau, le cœur, l'intestin et le foie (Rippe et Angelopoulos, 2016b). Il semble d'ailleurs que plus l'exposition à d'importantes quantités de sucre est précoce dans la vie de l'enfant (voire *in-utero*), plus la prédisposition aux maladies non transmissibles augmente (Ronto, Wu et Singh, 2018).

En effet, si on compare les différents types de régimes alimentaires dans le monde, on observe que le sucre occupe une place non négligeable (**Figure 4**). L'industrialisation de l'alimentation s'accompagne d'une augmentation de la teneur en sucre *via* les « sucres cachés » ou sucres ajoutés. Cela concerne particulièrement les produits destinés aux enfants et adolescents (Winpenny *et al.*, 2017).

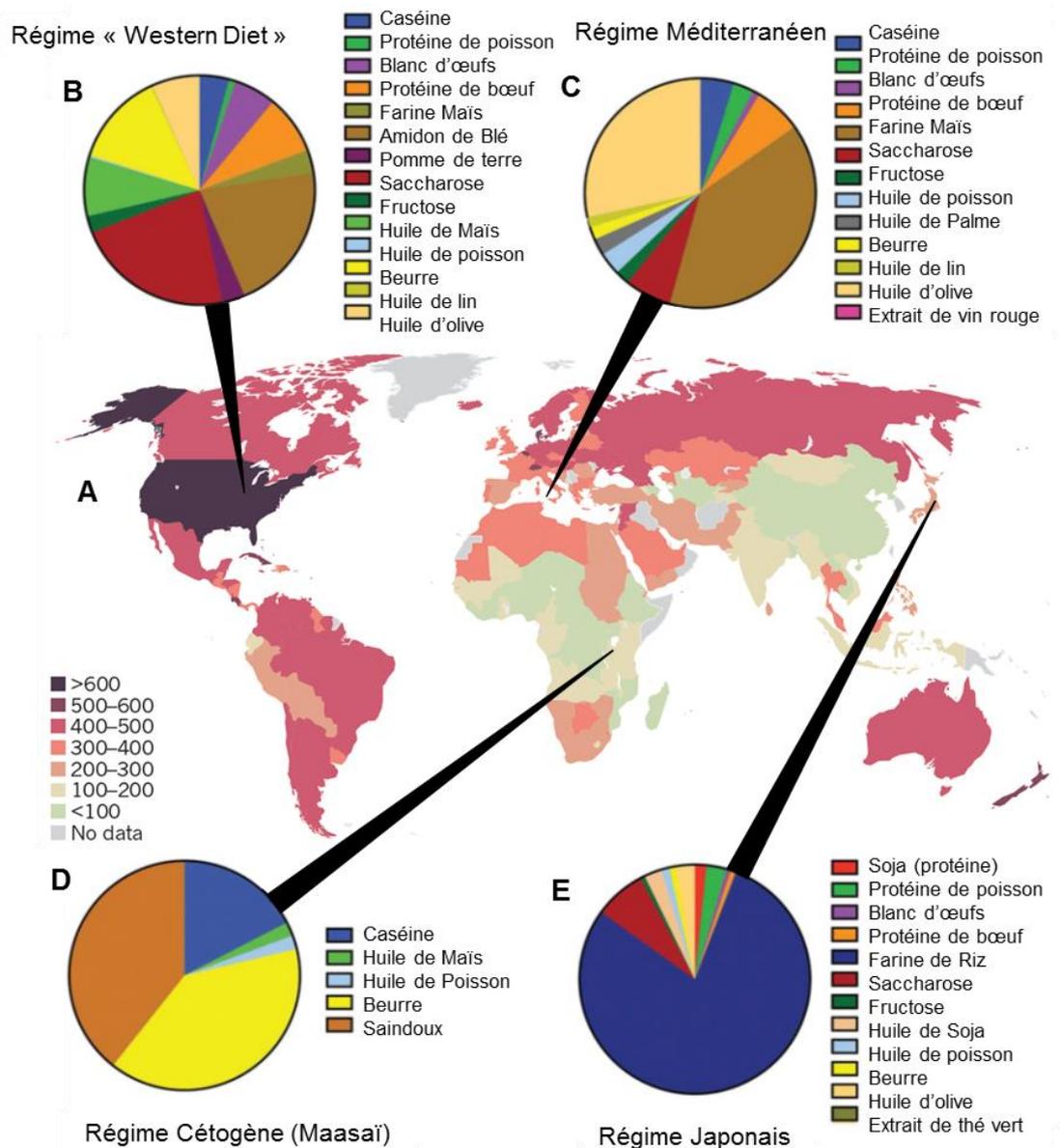


Figure 4 : Consommation mondiale de sucre et comparaison des différents types de régimes alimentaires dans le monde (adapté de Barrington *et al.*, 2018 ; Lustig, Schmidt et Brindis, 2012). (A) Consommation mondiale de sucre exprimée en calories par personne et par jour, pour l'année 2007. (B) Le régime dit « Western Diet » est caractérisé par des produits transformés, riches en sucres raffinés et graisses saturées. (C) Le régime méditerranéen appelé aussi régime crétois est plutôt riche en fruits et légumes frais, céréales complètes, huile d'olive et poissons. (D) Le régime « cétogène », est l'alimentation traditionnelle des tribus Inuits et Maasai, caractérisé par sa teneur extrêmement réduite en glucides au profit des lipides, provoquant une cétose nutritionnelle. (E) Le régime japonais plus célèbre sous le nom de régime « Okinawa » île qui concentre le plus grand nombre de centenaires : régime semi-végétarien, pauvre en graisse saturées et en calories mais très riche en fibres, oméga 3 et micronutriments.

1.2. Interface digestive et Microbiote intestinal

L'intestin constitue une entité anatomique et fonctionnelle, on parle d'interface digestive. C'est une zone d'interaction entre la muqueuse et la flore intestinale, en coordination symbiotique, mais également avec le milieu extérieur : les aliments.

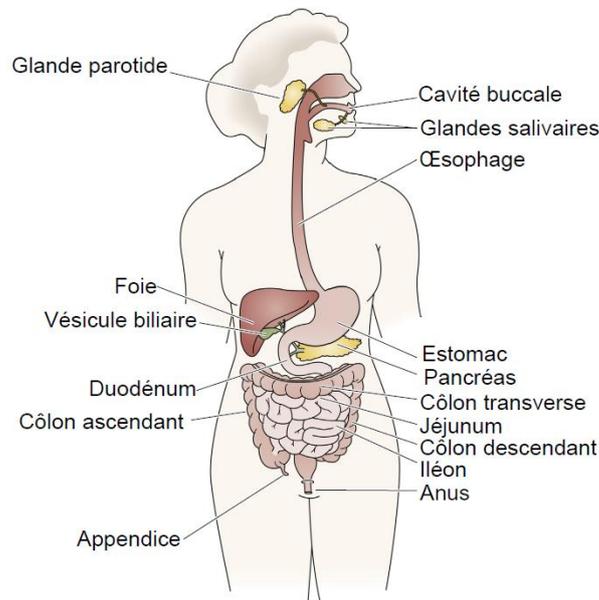


Figure 5 : Le système digestif et les glandes associées (d'après Carlson, 2019). La digestion démarre par une étape de mastication où les dents, la langue et les glandes initient le travail de transformation des aliments. Puis le bol alimentaire arrive rapidement dans l'estomac en passant par l'œsophage, il y reste plusieurs heures où les nombreuses sécrétions acides et enzymatiques le décomposent en plus petites molécules. Sous l'action du péristaltisme digestif, les fragments vont ensuite passer l'intestin grêle, d'une longueur d'environ 5 mètres, puis le côlon.

Le système digestif s'étend de la bouche à l'anus (**Figure 5**) et est associé aux glandes salivaires, foie et pancréas ainsi qu'au système immunitaire. L'intestin à lui seul constitue la plus grande surface d'échange de l'organisme (plus que la peau) : plus de 300m² chez l'adulte de par la longueur de l'intestin grêle mais aussi grâce aux très nombreux replis de la muqueuse digestive (Carlson, 2019). La fonction principale de l'intestin est l'absorption des différents nutriments : après dégradation mécanique, chimique, et enzymatique, aidée par des bactéries pour certains, les aliments sont dégradés en de plus petites molécules, qui sont ensuite absorbées dans l'intestin (Treuting, Arends et Dintzis, 2018).

1.2.1. La muqueuse digestive

- **Constitution de la paroi digestive**

La paroi digestive est constituée de 3 parties : la muqueuse et la sous-muqueuse, la musculaire et la sous-séreuse puis la séreuse (**Figure 6**). La muqueuse du tube digestif étant en contact direct avec ce milieu extérieur, elle assure la défense de l'hôte d'une part en assurant une fonction de barrière, et d'autre part en impliquant les acteurs de l'immunité. Elle est constituée de l'épithélium, la *lamina propria* et la musculaire-muqueuse (Treuting, Arends et Dintzis, 2018).

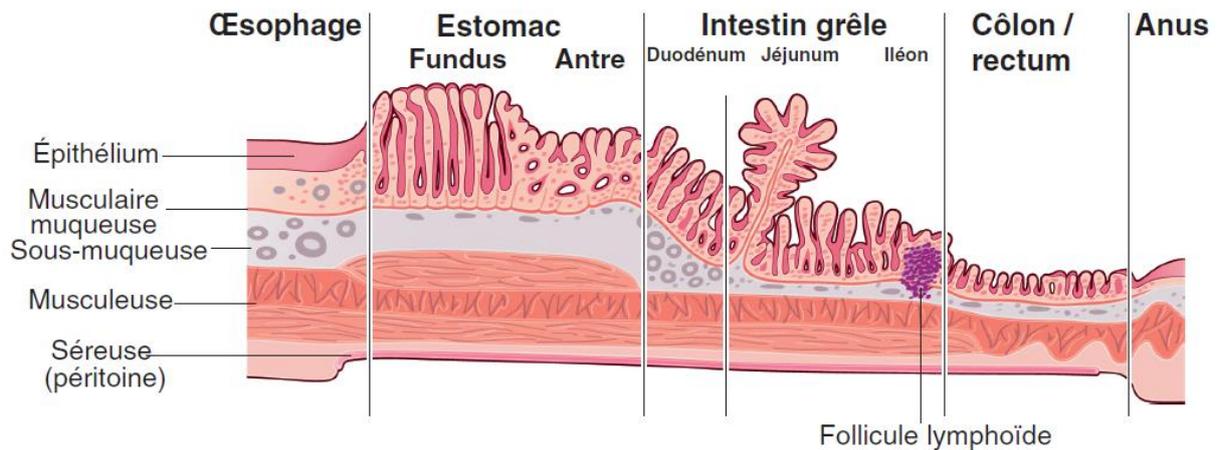


Figure 6 : Aspect histologique de la paroi digestive (Collège des universitaires en hépato-gastro-entérologie, Beaugier et Sokol, 2014). De l'œsophage à l'anus, la muqueuse reflète les fonctions de chaque portion : l'estomac est constitué de nombreuses cellules sécrétrices de mucus, pepsine, acide chlorhydrique ou encore facteur intrinsèque et gastrine servant à transformer les aliments en nutriments. L'intestin grêle est ensuite constitué d'entérocytes essentiellement puisque c'est l'organe dédié à l'absorption des nutriments en particulier le jéjunum où l'on retrouve de très nombreux replis appelés villosités. Suivent enfin l'iléon puis le côlon dans lesquels les cryptes contiennent de nombreuses cellules sécrétrices de mucus et de défensines.

L'épithélium intestinal constitue une barrière physique entre le milieu extérieur (lumière du tube digestif) et le milieu interne (**Figure 6**). On retrouve différents types de cellules disposées en monocouche (**Tableau II**) : tout d'abord, les entérocytes sont les cellules absorbantes, les plus nombreuses. Puis, les cellules caliciformes (ou cellules en gobelet présentes dans l'épithélium de la muqueuse intestinale) sécrètent un mucus qui joue le rôle de barrière physico-chimique contre les pathogènes (McGuckin *et al.*, 2009). Ce gel composé de différentes mucines est présent à la surface de la barrière épithéliale et la protège contre les pathogènes en limitant les contacts directs entre les micro-organismes et leur hôte (Johansson et Hansson, 2016).

Tableau II : Cellules épithéliales de la muqueuse intestinale et principales fonctions (d'après Marteau et Doré, 2017).

Cellules	Fonctions principales
Entérocytes	Cellule la plus représentée tout au long de l'intestin. Bordure en brosse au pôle apical et pôle basal en contact direct avec un capillaire sanguin. Absorption nutriments et eau. Transporteurs membranaires pour les micronutriments. Sécrétion de cytokines.
De Paneth	À la base des cryptes, surtout iléales. Sécrétion de peptides antimicrobiens : lectine C, lysozyme, phospholipase A2, α défensines. Participent au maintien des cellules souches.
Caliciformes	4% des cellules duodénales, jusqu'à 16% des cellules du côlon distal. Sécrétion de mucines, peptides en forme de trèfle et antimicrobiens. Participent à la surveillance immunitaire.
Entéro-chromaffines	Plus de 15 types identifiés, synthèse d'hormones et de peptides : gastrine, ghréline, CCK, sécrétines, GLP1 et 2, PYY, sérotonine, histamine... Impliquées dans l'homéostasie énergétique et la prise alimentaire.
Souches	Renouvellement intestinal et prolifération cellulaire.
M	Participe à la surveillance immunitaire
Tuft	Sécrétion d'endorphine, fonctions immunitaires encore mal connues, sentinelles ?

Différents peptides antimicrobiens tels que les défensines et le lysozyme sont sécrétés par les cellules de Paneth dans cette couche de mucus, afin d'éliminer les micro-organismes qui y ont pénétré. Et enfin les cellules entérochromaffines (ou entéroendocrines) qui sécrètent différents médiateurs endocriniens et des cellules souches permettant le renouvellement de l'épithélium dont certaines sont activées en cas d'agression ou d'infection de l'épithélium (Collège des universitaires en hépato-gastro-entérologie, Beaugerie et Sokol, 2014).

- **Système immunitaire intestinal**

Toutes les surfaces muqueuses, en particulier celle de l'intestin, sont des sites essentiels de la régulation immunitaire innée et adaptative, puisqu'elle est en contact direct et permanent avec le milieu extérieur (Turner, 2009). C'est pourquoi il existe des tissus lymphoïdes (appelés GALT) situés sous la muqueuse (dans la *lamina propria*) où l'on trouve notamment les plaques de Peyer (Mowat, 2003), qui jouent un rôle majeur dans la distinction entre la flore commensale et les micro-organismes pathogènes, afin d'assurer une défense immunitaire efficace rapidement. De nombreuses cellules immunitaires telles que des macrophages, des polynucléaires ou encore des cellules dendritiques sont présentes dans la muqueuse intestinale afin de lutter contre une infection éventuelle (**Figure 7**).

D'autre part, toutes les cellules de la muqueuse possèdent des jonctions cellulaires assurant une certaine imperméabilité de la muqueuse aux bactéries. De plus, ces cellules possèdent une importante capacité de renouvellement de l'épithélium vieillissant ce qui assure une réparation rapide et efficace des zones lésées (Okamoto et Watanabe, 2004 ; Roda, 2010). En effet, afin de rendre cette barrière muqueuse étanche, les cellules épithéliales sont solidement fixées entre elles par des jonctions serrées, adhérentes, des desmosomes et des jonctions communicantes (**Figure 8**) (Turner, 2009). Ainsi, la monocouche épithéliale intestinale forme une barrière perméable aux nutriments, eau et électrolytes mais limite l'entrée d'agents pathogènes (Chelakkot, Ghim et Ryu, 2018).

La protection de la barrière est également assurée par les cellules épithéliales elles-mêmes, qui sont capables de reconnaître et distinguer les micro-organismes (pathogènes ou commensaux) *via* les récepteurs TLR (membranaires) et NOD2/CARD15 (intracellulaires) pour elles aussi présenter les antigènes aux lymphocytes T (LT) naïfs (McGuckin *et al.*, 2009).

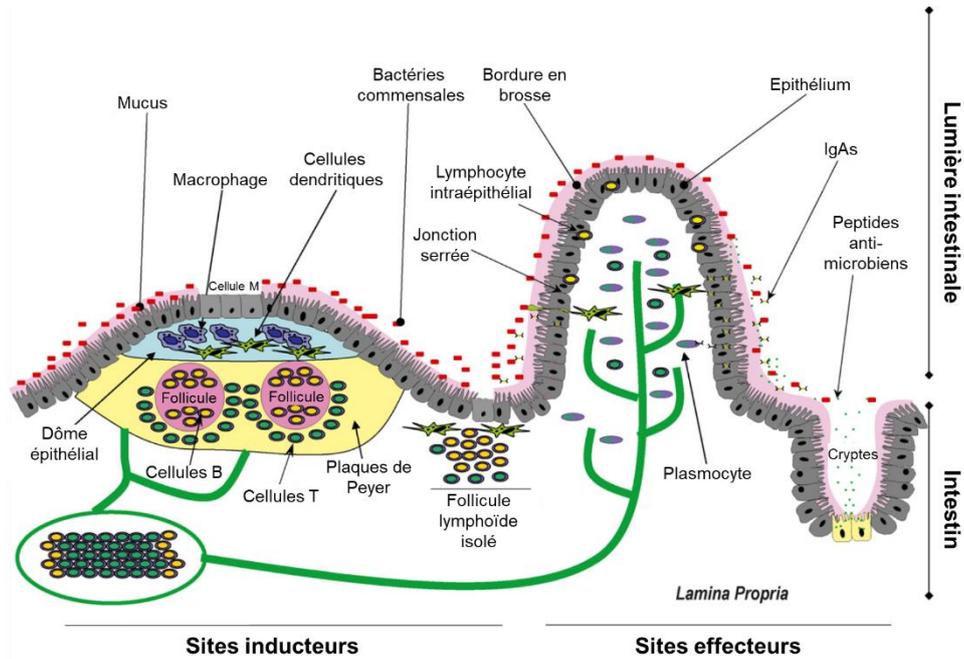


Figure 7 : Barrière épithéliale et système immunitaire intestinal (d'après Magalhaes, Tattoli et Girardin, 2007). Les cellules de l'épithélium intestinal sont associées fortement entre elles grâce à des jonctions serrées, et sont recouvertes de mucus piégeant les micro-organismes. Les antigènes bactériens sont détectés puis internalisés par les cellules de l'épithélium puis transférés aux cellules dendritiques du dôme sous-épithélial permettant ainsi d'éliminer les pathogènes avant l'invasion de la muqueuse.

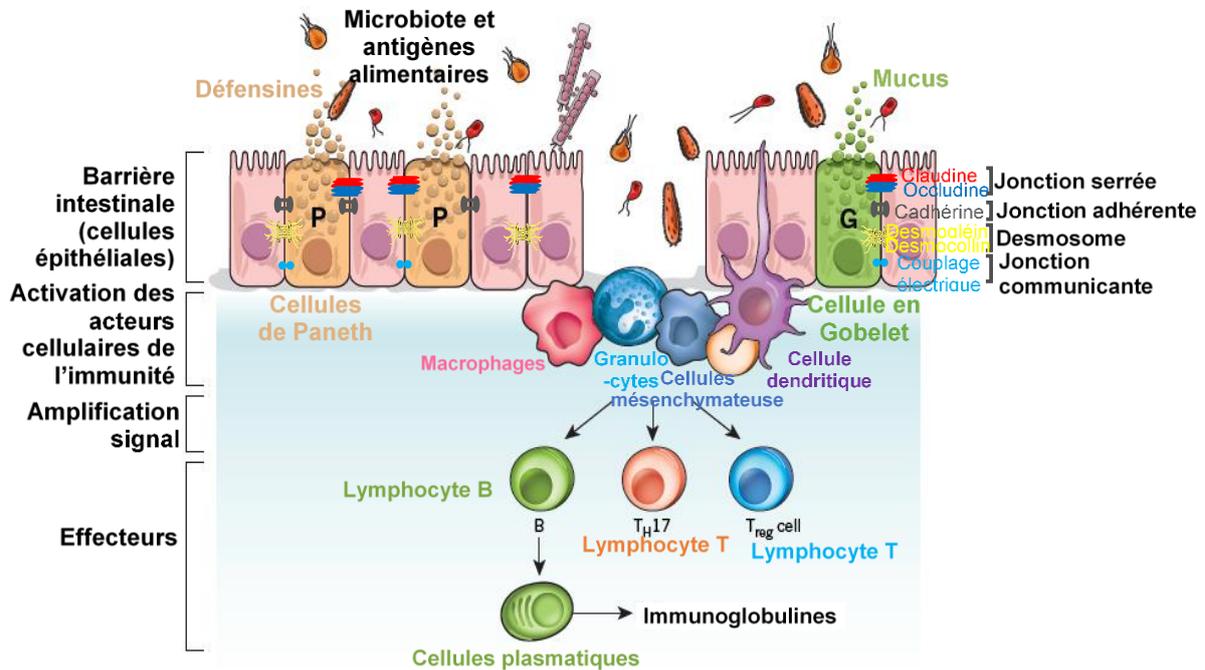


Figure 8 : Activation de l'immunité dans la muqueuse intestinale (adapté de Khor et al., 2011; Turner, 2009). L'homéostasie intestinale résulte de l'action coordonnée des cellules de l'immunité innée et adaptative. La perte d'intégrité de la barrière intestinale chez les patients atteints de MICI conduit à l'invasion de la muqueuse intestinale par des micro-organismes. La reconnaissance d'antigènes alimentaires, bactériens, ou viraux par les cellules épithéliales de la barrière intestinale engendre alors le recrutement de médiateurs de l'immunité innée et de cellules de l'immunité adaptative permettant de répondre à l'infection en produisant diverses cytokines et immunoglobulines (Ig).

Le système immunitaire intestinal est le 1^{er} organe de défense immunitaire, 60 à 70% des cellules immunitaires de l'organisme sont situées dans les tissus lymphoïdes associés au tube digestif (GALT), soit environ 10¹² cellules lymphoïdes par mètre d'intestin grêle (Randolph *et al.*, 2017). Lorsqu'une bactérie est présente dans la lumière intestinale, les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) comme les cellules dendritiques, macrophages, épithéliales et mésenchymateuses présentes dans le dôme épithélial sont capables de l'identifier comme étant commensale ou pathogène, et de conditionner la réponse immunitaire (**Figure 8**) (Hamada *et al.*, 2002). Les principales cellules sont répertoriées dans le **Tableau III**.

Tableau III : Cellules du système immunitaire intestinal (d'après Peterson 2012).

Cellules	Médiateurs	Fonction principale	
Macrophages	TNF- α , IL-1 β IL-6, IL-12, IL-18, CXCL8, CCL (chemokines)	Provient de la différenciation des monocytes, joue le rôle de CPA. Rôle phagocytaire.	
Cellules dendritiques	IL-6, TNF- α , IFN- α , IL12, IL-23	Rôle phagocytaire et CPA permettant l'activation de la réponse immunitaire adaptative (LT et LB).	
PN ou granulocytes	TNF- α , IL-1, IL-17	Neutrophiles : phagocytose Basophiles : réaction allergique Éosinophiles : antiparasitaire	
Cellules NK	IFN- γ , TNF- α , IL-17, IL-22	Cellule tueuse, détruit les cellules de façon spécifique (en faisant intervenir des CMH de classe 1)	
Lymphocytes B		Responsable de l'immunité humorale. Se différencie en plasmocytes ou en LB mémoire. Joue également le rôle de CPA.	
Lymphocytes T			
Cellules naïves	Th0	Peut se différencier en LT effecteur ou régulateur selon la situation	
Cellules effectrices	Th1	IFN- γ , IL-12, TNF- α , CCL5	Recrutement et activation des macrophages, des LT CD8 ⁺ cytotoxiques et des cellules NK → élimination pathogènes intracellulaires (virus/bactéries)
	Th2	IL-4, IL-5, IL-6, IL-13	Recrutement des PN éosinophiles, basophiles et mastocytes → défense parasitaire et processus allergique
	Th22	IL-22, IL-13, TNF- α FGF CXCL10	Homéostasie des fonctions de barrière des muqueuses. Production de peptides antimicrobiens.
	Th9	IL-9	Activité anti-helminthe et production de mucus. Activité des cellules immunitaires innées
	Th17	IL-17, IL-21 IL-22, CCL5	Recrutement des neutrophiles +/- monocytes → élimination des pathogènes extracellulaires (bactéries et levures)
Cellules régulatrices	Treg	TGF- β , IL-10, IL-23, IL-5, IL-2,	Diminue la présentation antigénique et la maturation des cellules dendritiques, diminue l'activation et la survie des PN et mastocytes, induit la production d'IgG et diminue la production d'IgE par les LB. Influence les voies Th1, Th2, Th22, Th9 et Th17.
	Tr1	IL-10	Diminution du complexe majeure d'histocompatibilité de classe I et II et des molécules de costimulation des cellules dendritiques. Stoppe l'activité des LT effecteurs naïfs.
	iTreg	TGF- β , IL-10	Fonctions suppressives, essentielles au maintien de la tolérance vis-à-vis des antigènes alimentaires et bactéries commensales.
	Th3	TGF- β , IL-10	Sous-population d'iTregs, tolérance des LT effecteurs spécifiques d'un antigène.

- **Tolérance immunitaire et reconnaissance infectieuse**

Si la bactérie est reconnue comme étant non pathogène (commensale) (**Figure 9a**), les cellules épithéliales, mésenchymateuses et les macrophages sécrètent des cytokines TGF- β et PGE₂ permettant la maturation des cellules dendritiques, leur migration vers les ganglions mésentériques et la production importante de cytokines anti-inflammatoires (IL-10), puis une différenciation des LT naïfs en LT régulateurs synthétisant IL-10 et IFN- γ . Ces cytokines anti-inflammatoires permettent de limiter la production de cytokines pro-inflammatoires par les effecteurs. L'équilibre entre les différents systèmes effecteurs et régulateurs de l'immunité assure ainsi une tolérance du système immunitaire intestinal et maintient une homéostasie face à l'exposition de la muqueuse à de nombreux antigènes (Mowat, 2003).

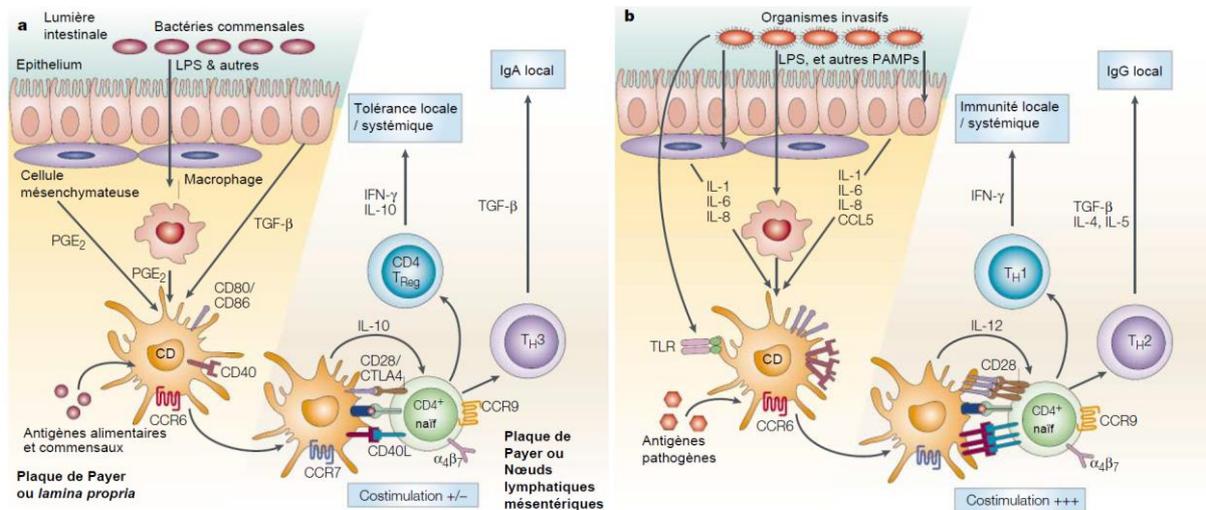


Figure 9 : Tolérance immunitaire (a) et réponse à une infection digestive (b) (adapté de Mowat 2003). Les antigènes de la flore commensale sont reconnus (a) par les cellules dendritiques (CDs), qui activent la sécrétion de cytokines (prostaglandines PGE₂, TGF- β) par les macrophages, les cellules mésenchymateuses et les cellules épithéliales. Ces dernières déclenchent la migration et la maturation partielle des CDs vers les ganglions lymphatiques, où elles présentent les antigènes reconnus aux lymphocytes T naïfs CD4⁺ et sécrètent une cytokine anti-inflammatoire IL-10. Ce processus engendre la différenciation des LT naïfs en LT régulateurs et active la voie Th3. Ces LT sécrètent à leur tour d'autres cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10, l'IFN γ et le TGF- β , lesquelles vont conduire à la production d'immunoglobuline A (IgA) par les Lymphocytes B (LB) et à la tolérance immunitaire pour assurer l'homéostasie intestinale. Lorsqu'un composant d'un agent pathogène est reconnu (b) par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), via leurs récepteurs membranaires (TLR) et intracellulaires (NOD), un ensemble de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8) est sécrété afin d'induire la maturation complète des cellules dendritiques. Les CDs matures vont alors migrer vers les ganglions lymphatiques pour engendrer la différenciation des LT naïfs (via la sécrétion d'IL-12) en LT effecteurs comme les LTh1 et LTh2. Ces LT effecteurs vont sécréter à leur tour des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN- γ , TGF- β , IL-4 et IL-5 qui vont induire une réponse immunitaire locale en sécrétant de nombreuses cytokines pro-inflammatoires et des IgG (en plus des IgA) afin d'éliminer l'agent pathogène.

En revanche, après détection d'une bactérie pathogène (**Figure 9b**), les cellules dendritiques migrent vers les ganglions lymphatiques pour présenter les antigènes aux LT immatures (LT naïfs CD4⁺) et vont induire leur différenciation en lymphocytes LTh1, LTh2 et LTh17. Elles activent également les lymphocytes B (LB) pour protéger la muqueuse intestinale en produisant des immunoglobulines A et G.

Les LTh1 activent les LT cytotoxiques CD8⁺ ainsi que les macrophages pour contribuer à l'élimination de l'agent pathogène. D'autre part, les LTh2, intervenant dans la réponse immunitaire adaptative, activent les LB sécrétant des IgA et IgG pour enrayer l'infection. Et enfin, les LTh17 vont permettre le recrutement de cellules de l'immunité telles que les cellules NK et les polynucléaires (neutrophiles), responsables de l'amplification de l'inflammation en sécrétant à leur tour d'autres cytokines pro-inflammatoires et l'induction de lésions intestinales. Les principales cytokines médiatrices de l'inflammation sont présentées dans le **Tableau IV**.

Tableau IV : Principaux médiateurs de l'inflammation et fonctions principales

Molécule	Sécrété par	Fonction
IFN-γ	Lymphocytes T, Cellules NK, Cellules dendritiques, Neutrophiles	Active macrophages, lymphocytes et cellules NK, induit la synthèse de molécules pro-inflammatoires et la migration des neutrophiles
TNF-α	Macrophages, cellules dendritiques, mastocystes, cellules NK, Lymphocytes T	Stimule la production de chimiokines par les cellules endothéliales, le recrutement de leucocytes, active la phagocytose et la différenciation des LT et B, active la production de facteurs de croissance (indispensable à la réparation des tissus)
TGF-β	Cellules épithéliales, lymphocytes, macrophages	Prolifération et différenciation lymphocytes, cellules épithéliales, induit la production d'IgA
PGE2	Cellules mésenchymateuses et macrophage	Stimule l'activation et la migration des cellules dendritiques, inhibe l'activation des leucocytes
IL-1β	Cellules épithéliales, dendritiques, mésenchymateuses, et macrophages	Stimule l'activation et la migration de lymphocyte T et macrophages vers le site enflammé. Responsable des effets systémiques (fièvre) permettant de combattre l'infection
IL-2, IL-4	Lymphocytes T, cellules NK	Stimule la prolifération, l'activation et la différenciation lymphocytaire (LT CD4 ⁺) en LT auxiliaire (LTh2) et aide à la différenciation des LB en plasmocytes
IL-6	Macrophages, cellules dendritiques, endothéliales, lymphocytes B et T	Induit l'activation et la différenciation des lymphocytes T et B, production de protéine de la phase aigüe (fièvre)
IL-8	Cellules épithéliales, dendritiques, lymphocytes T, macrophages	Chimiokine assurant le recrutement des granulocytes, induit la phagocytose
IL-10	Cellules épithéliales, dendritiques, macrophages, lymphocytes T	Cytokine anti-inflammatoire : inhibition des macrophages et cellules dendritiques
IL-12, IL-18	Cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B	Module l'activation des lymphocytes T, induit la différenciation des LT CD4 ⁺ en LT auxiliaire (LTh1), stimule la production d'IFN γ et TNF- α
IL-23	Cellules dendritiques, macrophages	Permet la différenciation des LT-CD4 en LTh17
CXCL8	Monocytes, Macrophages, endothélium, fibroblastes	Chimiokine ciblant les macrophages
CXCL10	Monocytes, Lymphocytes T, fibroblastes, endothélium	Chimiokine ciblant les monocytes et les cellules NK
CXCL1,2 et 3	Monocytes, endothélium, fibroblastes	Chimiokine ciblant les neutrophiles
CCL2	Monocytes, macrophages, fibroblastes	Chimiokine ciblant les macrophages et les basophiles
CCL5	Lymphocytes T, endothélium	Chimiokine ciblant les basophiles et les lymphocytes T

1.2.2. Le microbiote intestinal

Chez l'Homme, comme pratiquement chez tous les animaux, un microbiote anciennement appelé flore est associé à chaque muqueuse : la peau, la bouche, le vagin, le poumon, la surface oculaire et le système digestif (Cassard et Thomas, 2019). Le microbiote intestinal est le plus étudié. Jusque récemment, les moyens d'études techniques (culture *in vitro*) étaient limités, si bien que la symbiose entre l'organisme et cette flore était supposée mais mal connue : la fraction cultivable étant de 30% soit environ 400 espèces. Aujourd'hui, grâce aux techniques de séquençage à haut débit, même si les prélèvements fécaux ne donnent qu'un reflet imparfait, de nombreuses équipes de recherche s'intéressent aux interactions hôte-microbiote ainsi qu'à celles entre micro-organismes et leur incidence en matière de santé (Doré *et al.*, 2017).

Ce microbiote correspond à l'ensemble des populations de micro-organismes peuplant l'intestin d'un individu (bactéries, virus, levures...). Chez l'Homme, il est concentré dans le côlon et est bactérien à 98 % ; il constitue un organe à part entière avec près de 60 000 milliards de bactéries, pesant jusqu'à 40 % du poids fécal (1 à 2 kg) (Koboziev *et al.*, 2014).

- **Composition et évolution du microbiote intestinal**

On compte environ 160 espèces différentes par individu, 10 fois le nombre de cellules de l'organisme, 19000 fonctions et une activité métabolique bactérienne intense. Propre à chaque individu, à l'instar de l'empreinte génétique le microbiote est unique aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif.

Il existe cependant un socle commun d'une soixantaine d'espèces environ (200 000 gènes) dominantes chez l'Homme. Parmi ces dernières on distingue 3 à 4 grands phyla (**Figure 10**) : *Firmicutes* (30 à 53 %), *Bacteroidetes* (18 à 42 %), *Actinobacteria* (1 à 13 %) et *Proteobacteria* (Scott *et al.*, 2013).

Ce microbiote s'établit dès la vie *in utero* via le placenta et le méconium (Aagaard *et al.*, 2014 ; DiGiulio, 2012), puis s'enrichit dès la naissance au contact de la flore vaginale pour les enfants nés par voie basse, ou au contact de l'environnement (Rutayisire *et al.*, 2016). La colonisation est progressive : d'abord les bactéries aérobies-anaérobies facultatives (entérocoques, staphylocoques, entérobactéries) puis, puisqu'elles consomment l'oxygène présent dans l'intestin, cela favorise l'implantation de bactéries anaérobies strictes (*bacteroides*, *clostridium*, *bifidobacterium*) (Marteau et Doré, 2017). Enfin, l'allaitement puis la diversification alimentaire, l'hygiène, les traitements médicaux (antibiothérapie notamment), l'environnement ainsi que la génétique font évoluer la composition du microbiote durant les premières années de vies (**Figure 11**) (Arrieta *et al.*, 2014).

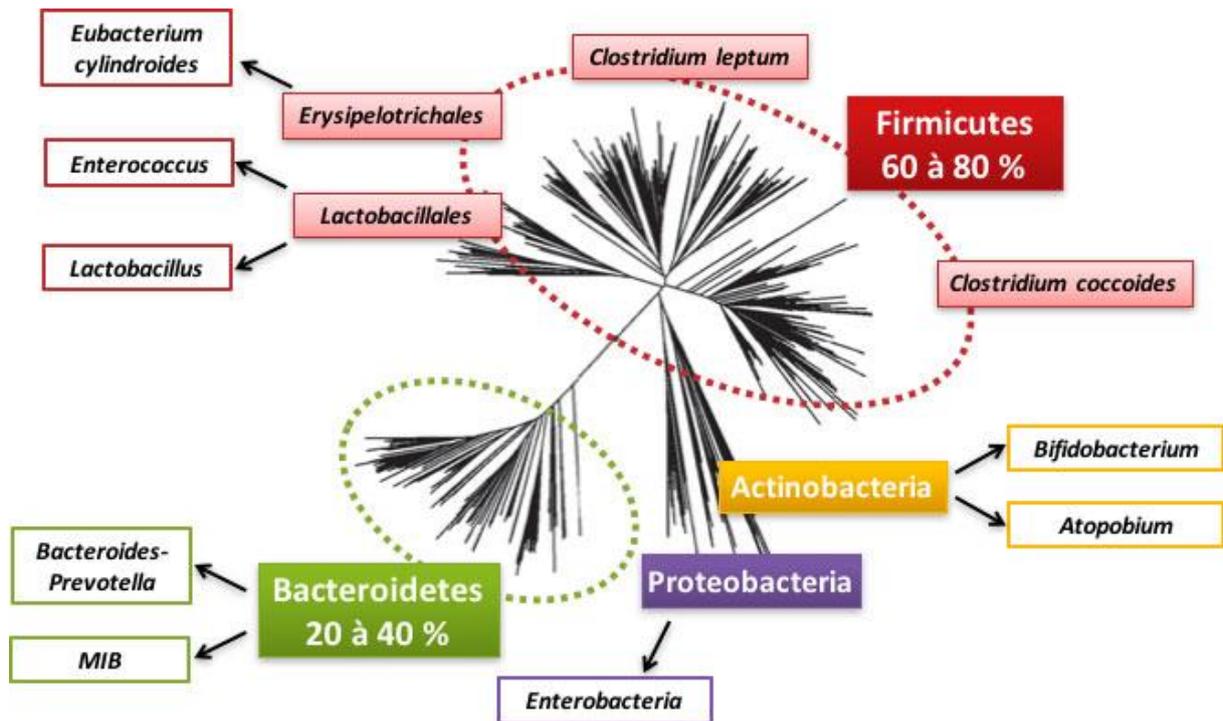


Figure 10 : Arbre phylogénétique des différentes espèces bactériennes (Cassard et Thomas, 2019). Les différentes espèces bactériennes sont regroupées en sous-ensembles bactériens appelés phyla qui regroupent des familles bactériennes dans lesquelles on retrouve des genres bactériens puis enfin les espèces.

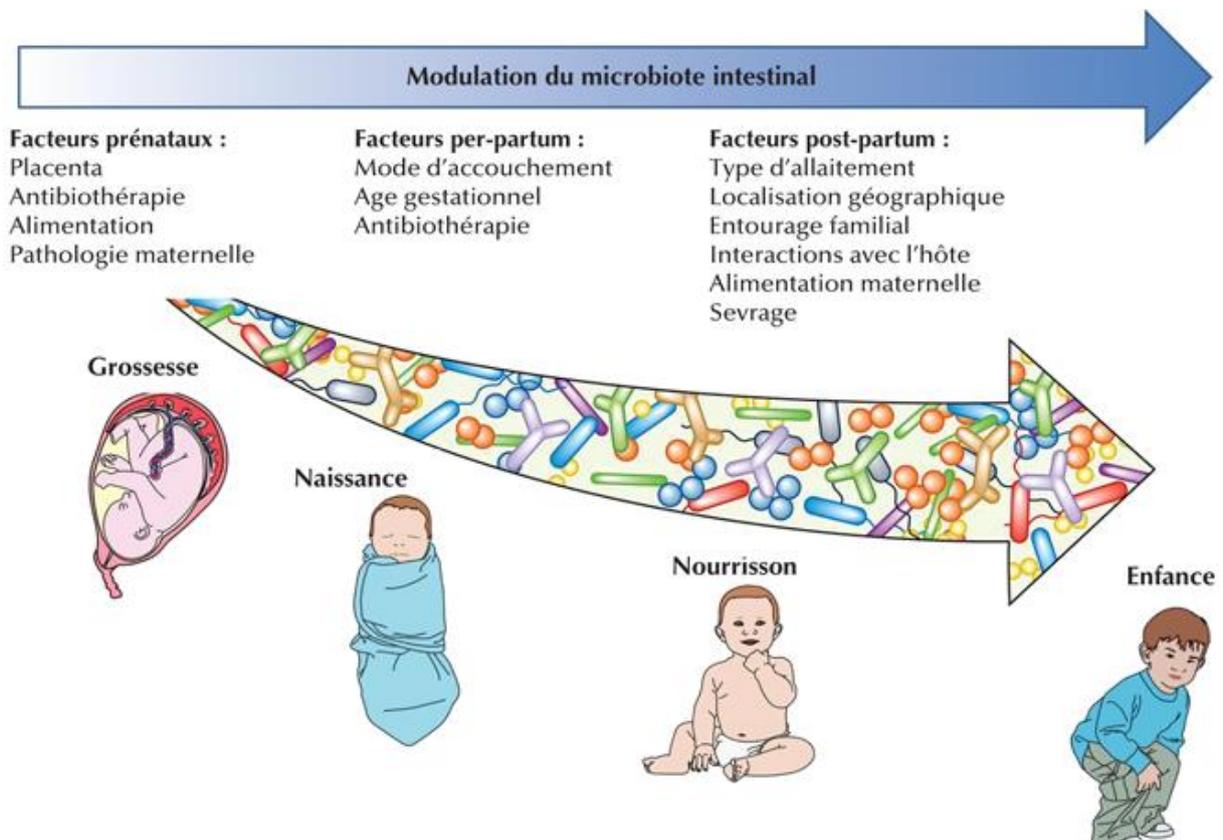


Figure 11 : Facteurs modulant le microbiote intestinal de l'enfant selon les différents stades de vie (d'après Milani et al., 2017). Dès la vie in utero, de nombreux facteurs influencent le microbiote intestinal de l'enfant : les microbiotes maternels puis l'environnement.

La concentration en micro-organismes le long du tube digestif est assez stable entre les individus : ainsi elle est croissante depuis la bouche jusqu'au côlon où elle atteint près de 10^{12} bactéries par gramme de contenu intestinal (**Figure 12**) (Tojo *et al.*, 2014). Évidemment, la composition et la diversité varient également avec l'âge et en situation pathologique. En effet, la faible diversité du microbiote dominant est retrouvée chez de nombreux patients atteints de diabète, d'obésité, et même de dépression (Landman et Quévrain, 2016).

La biomasse que représente ce microbiote intestinal est considérée comme stable à partir de l'âge de 3 ans environ (Yatsunenکو *et al.*, 2012). Les événements hormonaux de la vie adulte (puberté, grossesse...) provoquent des modulations encore mal connues (Flores *et al.*, 2012 ; Koren *et al.*, 2012). Puis, à partir de 65 ans, sous l'influence de diverses pathologies (polymédication, hospitalisation, alimentation...) une diminution de la diversité avec une grande variabilité a été observée (**Figure 13**) (Vaiserman, Koliada et Marotta, 2017 ; Woodmansey, 2007).

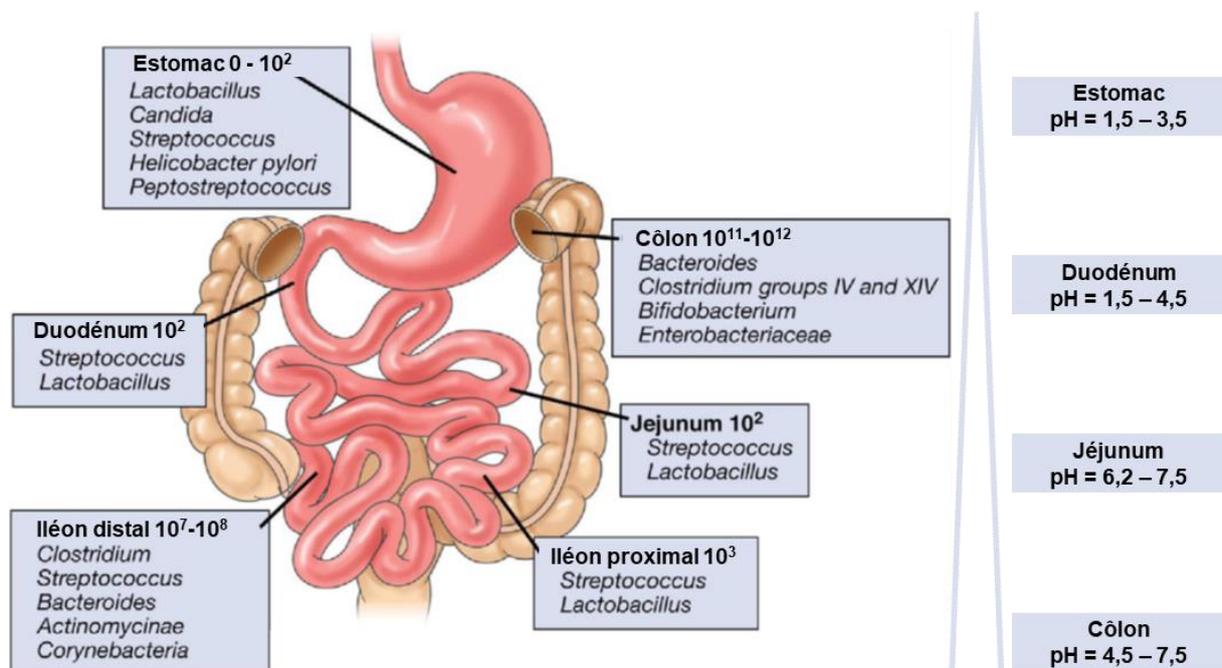


Figure 12 : Composition et concentration des espèces microbiennes dominantes dans le tube digestif (adapté de Sartor 2008). Concentration en UFC : unité formant colonies.

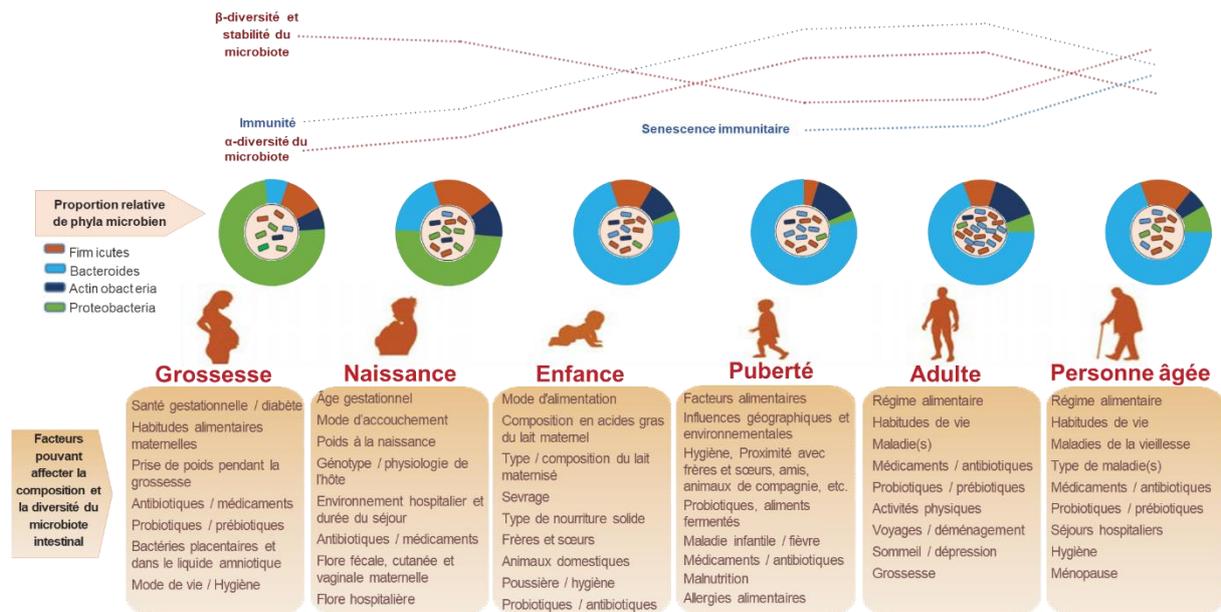


Figure 13 : Facteurs modulateurs et évolution de la composition du microbiote intestinal au cours de la vie (adapté de Nagpal *et al.*, 2018 ; Vaiserman, Koliada, et Marotta, 2017). La composition bactérienne du microbiote évolue aux étapes clés de la vie depuis l'établissement jusqu'à l'âge de 2-3 ans où il se stabilise. Puis, les conditions environnementales et les différents stress rencontrés le modifient relativement rarement jusqu'à l'âge de 65 ans environ où l'on trouve une plus grande variété interindividuelle, ainsi qu'une diminution de la diversité.

• Fonctions et interactions hôte-microbiote

L'épithélium intestinal est une structure dynamique complexe, avec laquelle le microbiote interagit de manière symbiotique dès la naissance. Ainsi, si on élève des rats axéniques (dépourvus de microbiote intestinal), on observe une physiologie intestinale totalement différente : l'intestin grêle est plus petit et le côlon plus long que chez les animaux conventionnels, avec des atrophies villositaires et une hyperperméabilité provoquant une capacité d'absorption plus importante (Gordon *et al.*, 1966). De plus, la fonction et le métabolisme d'autres organes comme le foie et le cœur sont également modifiés chez les animaux axéniques : ils souffrent d'un développement insuffisant du système immunitaire : moins de ganglions mésentériques, une proportion réduite de lymphocytes, etc... (Parker *et al.*, 2018).

De même, le mucus est la première barrière physico-chimique et il constitue une niche écologique pour les bactéries du microbiote intestinal. Il est constitué de plusieurs couches de protéines fortement glycosylées, les mucines (MUC), qui s'enchevêtrent et forment un gel, d'épaisseur croissante du duodénum jusqu'au côlon où il forme deux couches distinctes : l'une externe et lâche, peuplée de bactéries, et la couche interne qui en est dépourvue (Johansson, Larsson et Hansson, 2011). En raison des mouvements péristaltiques et du bol alimentaire, le mucus est également une structure dynamique, en continuel renouvellement comme l'épithélium. Le maintien de cette couche est contrôlé par deux types de sécrétions : constitutive (de base), et inductible, qui réagit rapidement notamment en cas de translocation bactérienne (Johansson, 2012).

Ainsi, l'absence de mucus (ou une couche plus fine) provoque des réactions inflammatoires exacerbées. Des modifications (faible glycosylation de MUC2 ou sialylation de certaines protéines) de ce mucus inhibe son effet protecteur et bactéricide (Linden *et al.*, 2008).

Enfin, le simple fait de la présence de communautés bactériennes complexes rend difficile l'invasion de la niche intestinale par une bactérie pathogène. Ainsi les animaux axéniques ou traités aux antibiotiques sont plus sensibles à des bactéries comme *E.Coli*, *V.Cholerae*, ou *C.Rodentium* (Kamada *et al.*, 2012 ; Reeves *et al.*, 2012). Le microbiote à lui seul, ainsi que ses interactions avec l'épithélium et le mucus constituent donc une véritable barrière protectrice.

D'autre part, le microbiote interagit perpétuellement avec l'organisme tout entier *via* l'intestin qu'il habite et c'est ainsi qu'il stimule le système immunitaire, grâce à son étroite relation avec l'épithélium intestinal. Ceci grâce à des systèmes de reconnaissance et de surveillance des bactéries intestinales dont les récepteurs de type *Toll Like* (TLR) et *NOD-like* (NOD) appartenant aux *Pattern Recognition Receptors* (PRR) qui assurent la transmission des informations au système immunitaire. Lorsqu'ils sont activés, ces récepteurs sentinelles activent l'inflammasome et la voie NF- κ B notamment, impliquée dans l'activation de la transcription de très nombreux gènes (Liu, Zhang, *et al.*, 2017).

Les phagocytes, éosinophiles et neutrophiles mais aussi les cellules lymphoïdes innées (ILC) et les cellules dendritiques, participent toutes à la reconnaissance et la réponse immunitaire innée, rapidement mobilisable (Gaboriau-Routhiau et Cerf-Bensussan, 2016). La maturation du système immunitaire intestinal passe ensuite par les cellules de l'immunité adaptative, à savoir les lymphocytes T matures effecteurs et plasmocytes à IgA qui peuplent progressivement la muqueuse à partir de la naissance (Cerf-Bensussan et Gaboriau-Routhiau, 2010) (**Figure 14**).

Enfin, l'immunité intestinale n'est pas la seule impactée par le microbiote intestinal, le reste du système immunitaire semble être également impacté mais les liens sont encore mal compris. On sait par exemple que le traitement par antibiotique de souriceaux nouveau-nés modifie leur microbiote intestinal et augmente le risque de développer un asthme allergique (Russell *et al.*, 2012). De la même façon, les animaux axéniques sont protégés contre la rhumatoïde expérimentale médiée par les Th17 (Liu *et al.*, 2016). À l'inverse, certaines bactéries intestinales semblent avoir un effet protecteur : dans le modèle de souris diabétiques non-obèses, les axéniques sont plus sujettes au développement de diabète que les animaux conventionnels (Schnupf, Gaboriau-Routhiau et Cerf-Bensussan, 2013) (**Tableau V**).

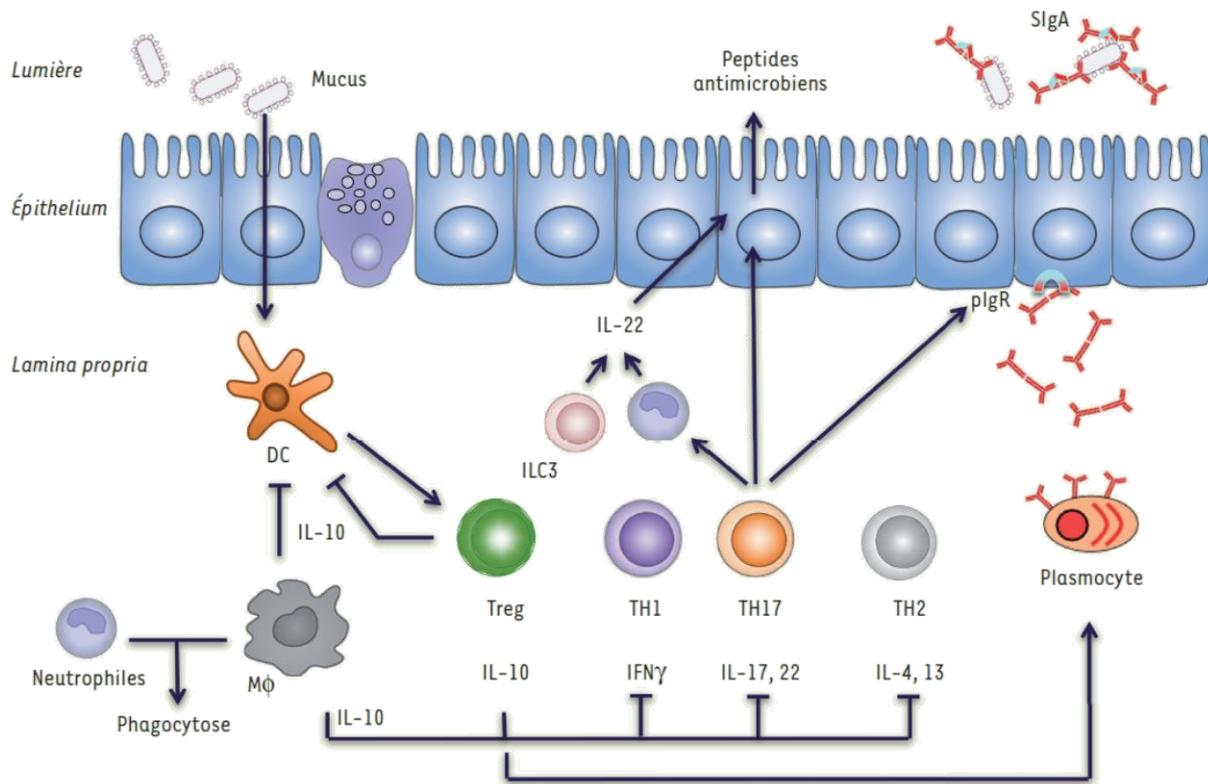


Figure 14 : Barrière immunitaire intestinale : coopération de nombreux mécanismes conjointement à la colonisation bactérienne de l'intestin (Gaboriau-Routhiau et Cerf-Bensussan, 2016). Les signaux bactériens tels que les lipopolysaccharides (LPS) sont captés par les cellules épithéliales via leurs récepteurs spécialisés (NOD, TLR) ou transmis par l'intermédiaire des cellules dendritiques (DC) afin d'activer la réponse immunitaire innée via notamment les cellules lymphoïdes innées (ILC3) et les macrophages (Mφ) qui renforcent la production de peptides antimicrobiens et exercent leur propriété de phagocytose. Les cellules dendritiques activées par les bactéries participent aussi à l'activation des cellules de l'immunité adaptative. Les plasmocytes sécrètent des IgA, transportées vers la lumière intestinale sous forme d'IgA sécrétoires après fixation avec le récepteur des Ig. Elles forment alors des complexes avec les bactéries afin de les éliminer dans le mucus. En complément, de nombreuses populations de lymphocytes T CD4⁺ (caractérisées par les cytokines qu'elles sécrètent) sont induites simultanément. L'homéostasie intestinale s'équilibre en maintenant une inflammation basale, physiologique sous le contrôle des lymphocytes T régulateurs (Treg) et la sécrétion d'interleukine-10 qui avec d'autres facteurs sécrétés par les cellules épithéliales notamment (TGF-β ou encore l'acide rétinoïque) vont permettre de réduire l'activation des cellules dendritiques afin de limiter la réponse inflammatoire. C'est la tolérance immunitaire. Bien que potentiellement pro-inflammatoires, les TH17 vont recruter via la sécrétion d'IL-17 des neutrophiles qui, outre leur fonction de phagocytose sont capables de produire de l'IL-22 et stimuler ainsi la barrière antimicrobienne. En cas de lésion dans la barrière intestinale, les bactéries normalement présentes dans le mucus entrent en contact direct et prolongé avec la muqueuse ce qui amplifie les réponses TH17 et TH1, en provoquant une inflammation pathologique.

Tableau V : Principales anomalies immunitaires décrites dans les modèles axéniques par rapport aux modèles conventionnels (d'après Cerf-Bensussan et Gaboriau-Routhiau, 2010 ; Marteau et Doré, 2017)

Défaut immunologique	Phénotype chez la souris axénique
Développement de l'intestin grêle	Diminution du nombre et de la taille des plaques de Peyer. <i>Lamina propria</i> plus fine et amoindrie en lymphocytes. Moins de plasmocytes dans les centres germinatifs. Follicules lymphoïdes isolés plus petits Niveau d'ATP réduit dans l'intestin
Développement des ganglions mésentériques	Centres germinatifs plus petits avec moins de plasmocytes.
Lymphocytes T	LT CD8+ intra-épithéliaux moins nombreux et moins cytotoxiques LT CD4+ moins nombreux dans la <i>lamina propria</i> , diminution des Th17 dans le grêle mais pas dans le côlon. Cellules MAIT absentes de la <i>lamina propria</i> . Réduction du nombre de LT CD4+ et CD8+ et de la production de cytokines dans la rate. Diminution de l'expression de FoxP3 et capacités suppressives réduites des LT CD4+ et CD25+ dans les ganglions mésentériques.
Expression peptides antimicrobiens	Réduction par les cellules de Paneth.
Production Ig	Réduction de la production d'IgA par les LB, moins d'Ig sériques également. Taux fortement réduit d'IgG et IgM sériques
Expression de CMH, TLR	Expression du CMH de classe II et TLR2, 4 et 9 réduite dans les cellules épithéliales intestinales. Niveau d'IL-25 réduit.
Activation des récepteurs microbiens	Diminution de l'immunité des poumons face au virus influenza (Ichinohe <i>et al.</i> , 2011) ou à <i>Staphylococcus aureus</i> (Gauguet <i>et al.</i> , 2015)
Allergie médiée par les IgE	Surproduction d'IgE et d'IL-13. Augmentation des éosinophiles ou de la synthèse d'IL-5.

Enfin, le microbiote intestinal participe également au métabolisme en dégradant des nutriments et en participant à la synthèse de certaines molécules. En effet, la biotransformation de substrats d'origine alimentaire non digérée dans la partie supérieure du tractus digestif suppose l'existence de très nombreuses activités métaboliques des bactéries. Bien que la composition du microbiote soit extrêmement variable d'un individu à l'autre, les fonctions métaboliques telles que la synthèse d'acides gras à chaîne courte (AGCC), d'acides aminés essentiels et de vitamines a été mise en évidence chez tous les individus (Marteau et Doré, 2017).

Le microbiote humain est particulièrement bien adapté à la dégradation des polysides. Selon le régime alimentaire, 10 à 60 grammes de glucides fermentescibles parviennent au côlon chaque jour (Bernalier-Donadille, 2010). Hormis le lactose, le saccharose (glucose + fructose) et une partie de l'amidon, l'Homme est incapable de digérer la plupart des polysaccharides. Ces glucides proviennent principalement des céréales, fruits et légumes dont les sucres complexes ne sont pas digérés par les enzymes digestives : ce sont les enzymes bactériennes du microbiote intestinal qui se chargent alors de dégrader ces polysaccharides en glucides simples qui seront fermentés (**Figure 15**).

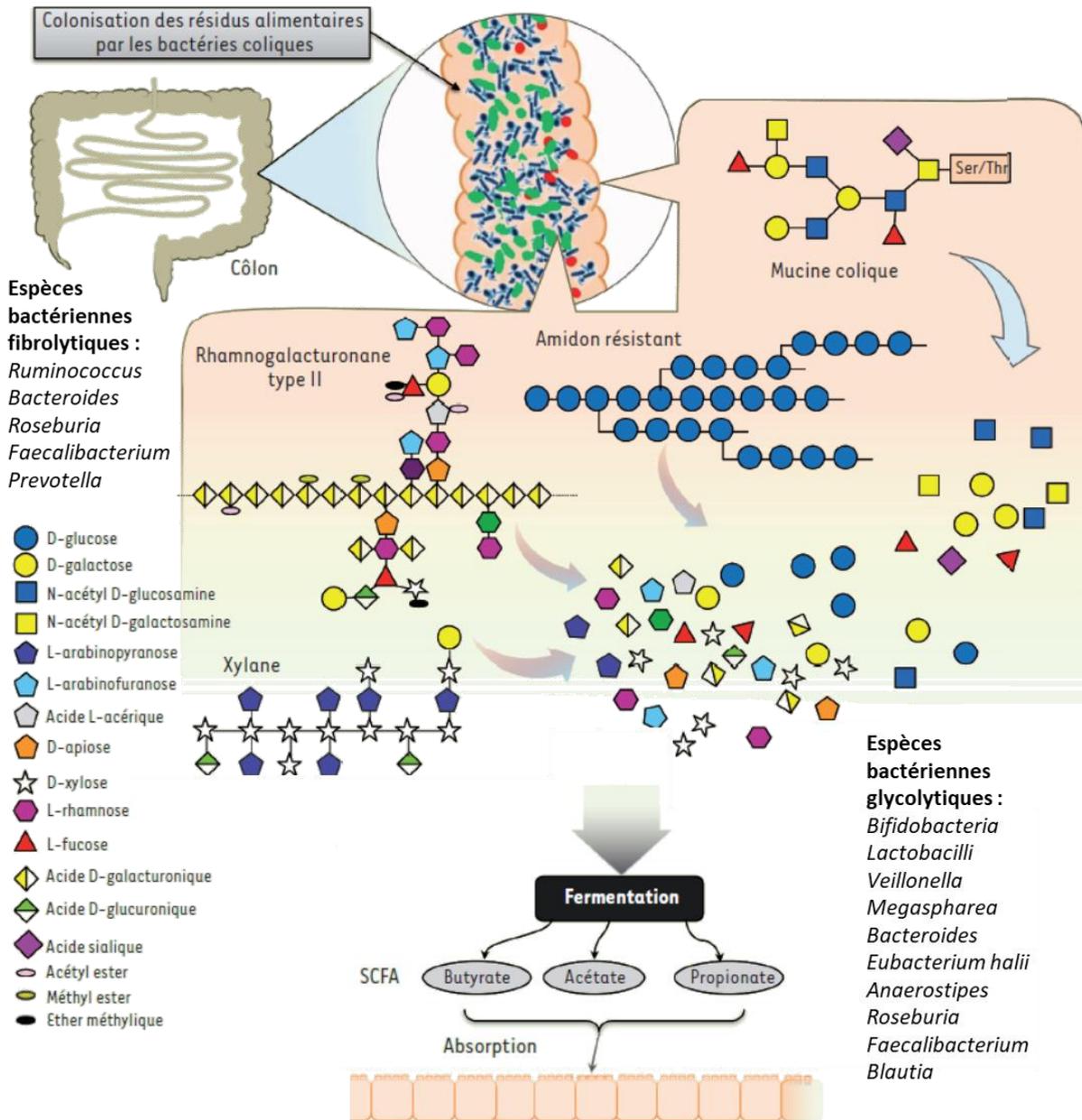


Figure 15 : Digestion des glucides par le microbiote intestinal (El Kaoutari et al., 2014). L'Homme n'est pas capable de digérer la plupart des glucides complexes comme le xylane, les constituants de la pectine comme le rhamnogalacturonane ou certaines fractions de l'amidon. On parle de fibres pour désigner ces polysaccharides non digérés. Les enzymes bactériennes sont capables de dégrader ces glucides en sucres plus simples puis la fermentation bactérienne de ces glucides simples produit des acides gras à courte chaîne (AGCC ou SCFA pour « short chain fatty acid ») qui sont absorbés par l'intestin.

Les produits terminaux de la fermentation à savoir les AGCC et les gaz contribuent au maintien de la diversité microbienne colique et fournissent de l'énergie aux entérocytes (Donohoe et al., 2011). De nombreuses fonctions bénéfiques sont attribuées à ces acides gras : anti-inflammatoire par inhibition de la voie NF- κ B (Inan et al., 2000), anti-cancéreuse par inhibition de la prolifération tumorale et stimulation de la prolifération des colonocytes sains (Vanhoutvin et al., 2009). Ils auraient même un rôle contre la résistance à l'insuline et l'obésité (Gao et al., 2009).

Les protéines et peptides constituent quant à eux la principale source d'azote pour les bactéries du microbiote. Un grand nombre de bactéries possèdent une activité protéolytique (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*) (Bernalier-Donadille, 2010). À l'inverse de la fermentation des glucides, la dégradation protéique par le microbiote génère de nombreux métabolites potentiellement toxiques : ammoniacque, phénols, sulfures ainsi que quelques AGCC et AGCC ramifiés qui sont un marqueur de protéolyse colique car spécifique de la désamination par le microbiote intestinal (**Figure 16**).

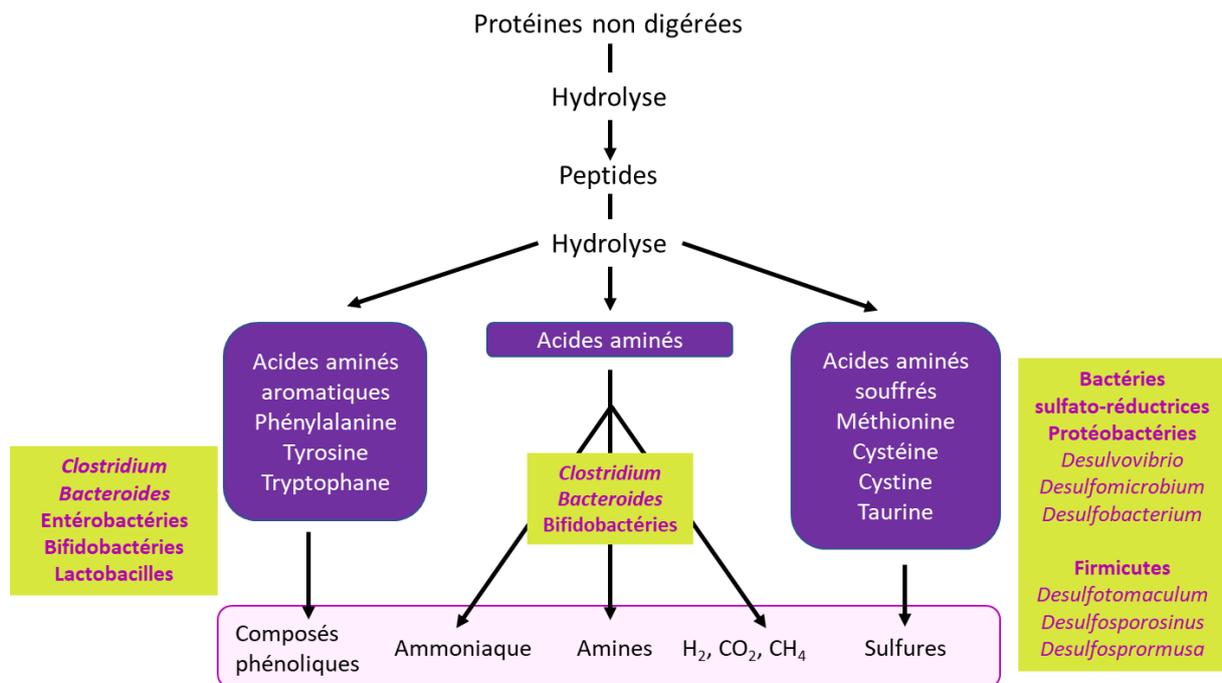


Figure 16 : Digestion microbienne des protéines (Marteau et Doré, 2017). L'hydrolyse bactérienne des peptides dans le côlon produit des composés potentiellement toxiques (ammoniacque, phénols...). Cependant la fermentation des glucides contribue à diminuer la disponibilité de ces composés en stimulant la protéolyse bactérienne. La concentration en ammoniacque par exemple résulte d'un équilibre entre la désamination bactérienne et l'utilisation de l'ammoniacque libéré par les cellules pour leur biosynthèse protéique.

La fraction de lipides parvenant au côlon est assez faible, environ 5 à 8 grammes par jour selon les régimes alimentaires (Rajilić-Stojanović, 2013). La plupart des espèces bactériennes possèdent des lipases et peuvent ainsi hydrolyser les triglycérides à chaîne longue. Le microbiote est également capable de convertir le cholestérol en coprostanol bien que les espèces bactériennes ne soient pas encore bien identifiées. De plus, les bactéries sont également capables de métaboliser les hormones stéroïdiennes excrétées dans la bile ainsi que les sels biliaires associés à l'ingestion de lipides et qui échappent au cycle entéro-hépatique (Ridlon, Kang et Hylemon, 2006).

- **Microbiote et alimentation**

À l'âge adulte, de nombreux facteurs environnementaux tels que l'exposition aux antibiotiques, à certains antiacides ou les changements alimentaires modulent la composition du microbiote intestinal (**Figure 17**). Cependant on estime que 5% seulement de la variabilité interindividuelle dans la composition du microbiote serait due aux habitudes alimentaires (Tap *et al.*, 2009).

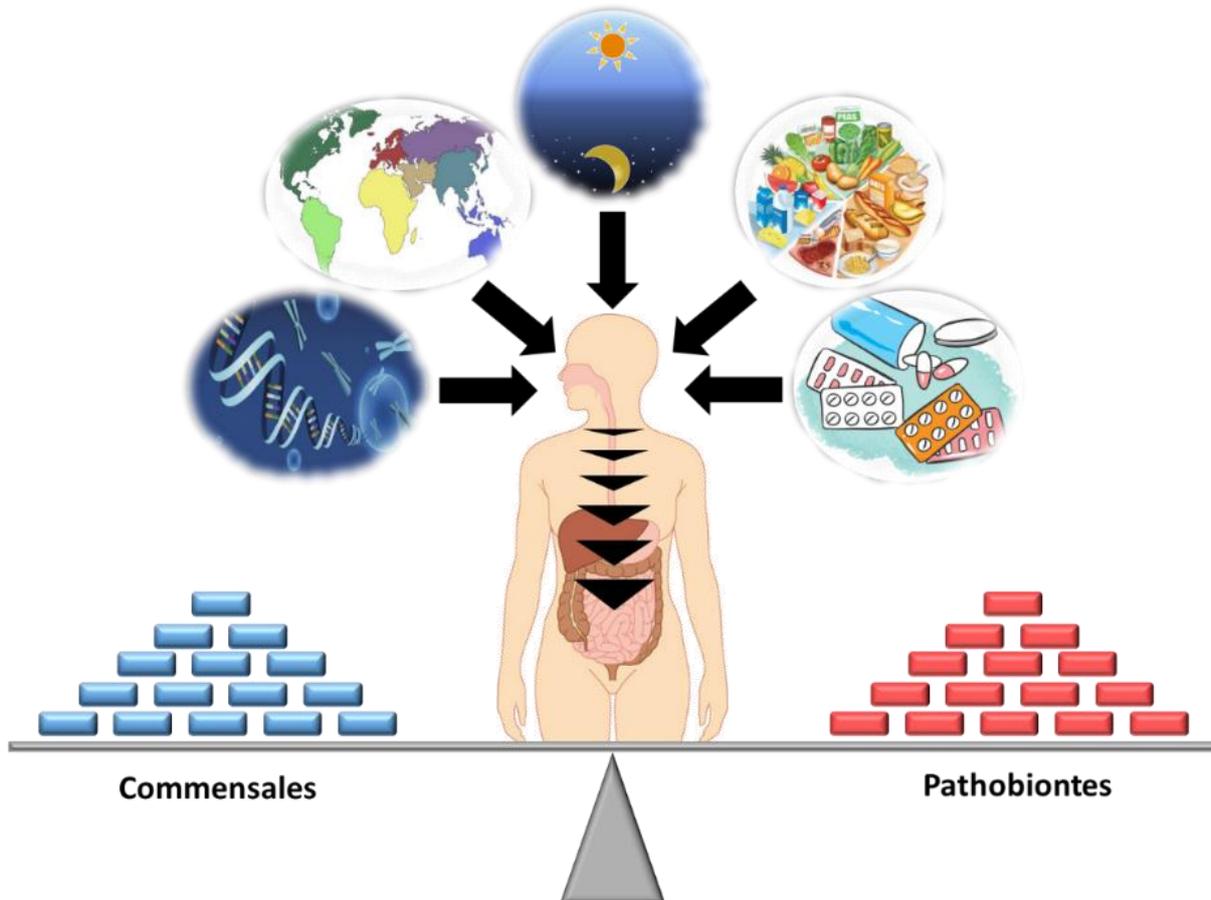


Figure 17 : Facteurs modulant l'homéostasie intestinale chez l'adulte (adapté de Marteau et Doré, 2017 ; d'après Konkel, 2013). La génétique, la localisation géographique, le rythme circadien, l'alimentation ainsi que de nombreux médicaments (antibiotiques mais aussi antiacides, anti-inflammatoires, contraceptifs) peuvent moduler l'homéostasie du microbiote intestinal.

Parmi les très nombreux métabolites du microbiote intestinal, on retrouve également certaines vitamines comme la ménaquinone (vitamine K2), la cobalamine (vitamine B12) et la biotine (vitamine B8) qui sont produites en très grande quantité par le microbiote intestinal. D'autres comme les vitamines B1, B2, B6 et B9 sont produites en trop faibles quantités pour constituer un apport suffisant (Qin *et al.*, 2010 ; Bernalier-Donadille, 2010 ; McDermott et Huffnagle, 2014).

Ainsi, l'alimentation va moduler la composition du microbiote, une grande partie des aliments que nous ingérons n'est pas digérée par l'intestin grêle et sera alors fermentée par le microbiote intestinal. Par exemple, une alimentation trop riche en protéines et en graisses animales provoque une augmentation des *Bacteroidetes* dans le microbiote dominant et pourra conduire à une surproduction de sulfure par les bactéries sulfato-réductrices (Wu *et al.*, 2011).

De même, de nombreuses études suggèrent que l'alimentation riche en fibres favorise la richesse du microbiote intestinal, avec de nombreux bienfaits (Cotillard *et al.*, 2013). C'est ainsi que les prébiotiques (glucides non digestibles) peuvent diminuer le poids corporel, la stéatose hépatique, le développement de la masse adipeuse ou encore la sévérité du diabète dans différents modèles animaux (Cani et Delzenne, 2009) (**Figure 18**).

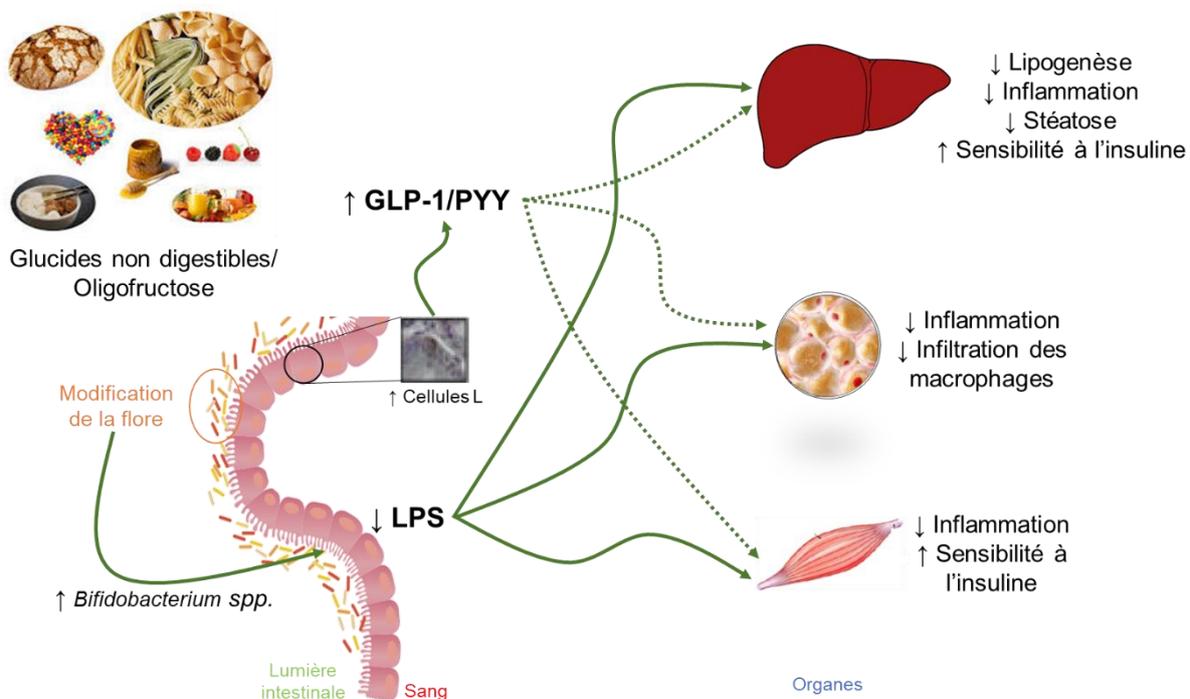


Figure 18 : Effets physiologiques des prébiotiques sur la flore intestinale (d'après Delzenne et Cani, 2008). L'ingestion de fibres enrichit la flore intestinale en bifidobactéries ce qui s'accompagne d'une diminution de lipopolysaccharides (LPS) dans le sang et donc d'une diminution de l'inflammation. De plus, la fermentation de ces fibres augmente le nombre de cellules L intestinales produisant du GLP-1 (glucagon-like peptide-1) et du PYY (peptide YY) impliqués tous les deux dans la régulation de l'homéostasie glucidique et de la satiété.

Le régime alimentaire a donc une forte influence sur la composition bactérienne, c'est pourquoi les nombreuses études comparatives montrent que les Américains ont un microbiote plus riche en *Firmicutes*, les Japonais en *Actinobacteria*, les Chinois en *Bacteroidetes* (Nam *et al.*, 2011). On retrouve également des différences significatives selon le mode de vie, les pratiques culturelles et le statut socio-économique : tous ces facteurs influençant l'alimentation (richesse en viande ou en produits transformés, fruits et légumes frais etc...) (Tyakht *et al.*, 2013).

Comme nous l'avons vu les glucides non digestibles sont métabolisés par le microbiote intestinal, ainsi une alimentation enrichie en prébiotiques comme l'inuline (que l'on retrouve dans les endives et l'artichaut par exemple) permettra de cibler spécifiquement certaines bactéries. Il est donc primordial de garder à l'esprit que se nourrir c'est également nourrir son microbiote intestinal et ainsi prévenir des pathologies telles que la stéatose hépatique ou l'obésité (Cani, 2005 ; Cani *et al.*, 2005 ; Delzenne, Cani et Neyrinck, 2007).

De la même manière, les régimes riches en graisses saturées et pauvres en poisson (acides gras insaturés) sont corrélés à une modification du microbiote intestinal (Caesar *et al.*, 2015). Tandis que le régime méditerranéen, riche en fruits et légumes frais, légumineuses, oléagineuses, huile d'olives et céréales complètes, a montré une modulation du microbiote intestinal et ce, même si les signes cliniques du syndrome métabolique persistent. Passé un an, ce régime s'avère protecteur face au diabète grâce en partie, à l'enrichissement du microbiote en *Roseburia* spp (Haro, Garcia-Carpintero, *et al.*, 2016 ; Haro, Montes-Borrego, *et al.*, 2016).

Concernant les régimes végétariens, de par leur richesse en fibres et leur faible teneur en matière grasse, ils modifient également le microbiote intestinal : on y trouve une dominance de *Clostridium coccooides* et *Clostridium ramosum* mais l'absence de *Faecalibacterium prausnitzii* (Hayashi, Sakamoto et Benno, 2002), plutôt retrouvé chez les consommateurs de poisson et de viande (Mueller *et al.*, 2006). Les régimes les plus stricts, végétaliens, provoquent une nette diminution de *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* et des Entérobactéries spp. (Cotillard *et al.*, 2013 ; Zimmer *et al.*, 2012).

Enfin, les régimes hypocaloriques, riches en glucides à faible indice glycémique et en fibres solubles, ont un impact sur la richesse bactérienne et sur des groupes bactériens spécifiques tels que *Akkermansia muciniphila*, souvent associée à la richesse en fibres de l'alimentation et liée à un meilleur métabolisme glucidique et lipidique (Dao *et al.*, 2016 ; Everard *et al.*, 2011 ; Le Chatelier *et al.*, 2013).

- **Microbiote et pathologies**

Le microbiote intestinal contribue à l'absorption des glucides et des lipides, il régule le stockage des graisses et est impliqué dans la prise de poids (Backhed *et al.*, 2004). En effet, des expérimentations ont démontré le rôle du microbiote dans la régulation du poids : des souris axéniques et soumises à un régime hyperlipidique ne prennent que peu de masse grasse malgré des apports caloriques accrus tandis qu'après transfert de flore, ces souris axéniques prennent du poids très rapidement (Turnbaugh *et al.*, 2008).

De même, le transfert de flore fécale de patients obèses à des souris axéniques les fait grossir davantage et provoque plus d'anomalies métaboliques que celles recevant des selles de patients non obèses en dehors de modifications alimentaires (Ridaura *et al.*, 2013). D'autres études montrent qu'une restriction calorique est associée à une augmentation des *Bacteroidetes* et une diminution des *Firmicutes* aussi bien chez l'Homme (Ley *et al.*, 2006) que chez la souris (Turnbaugh *et al.*, 2008).

Le microbiote n'étant pas une simple collection de micro-organismes indépendants mais un véritable système structuré, avec de nombreuses interactions, il est difficile de définir un microbiote sain ou une dysbiose spécifique d'une pathologie. Cependant le microbiote a été identifié comme un facteur majeur de diverses pathologies digestives ou non :

- Diarrhées infectieuses et notamment les infections à *Clostridium difficile*, seule pathologie où la transplantation fécale est actuellement curative (Liubakka et Vaughn, 2016)
- Syndrome de l'intestin irritable où des perturbations quantitatives du microbiote et des altérations métaboliques ont été décrites (Zhuang *et al.*, 2017)

- Maladie cœliaque où les *Firmicutes* et *Proteobacteria* sont retrouvées en abondance (Losurdo *et al.*, 2016)
- MICI (voir Chapitre suivant)
- Syndrome du grêle court où la dysbiose colique et la pullulation bactérienne intestinale intraluminaire dans le grêle exposent à de nombreuses complications (Piper, 2018)
- Entérocolites ulcéro-nécrosantes, dont la physiopathologie reste incomplètement expliquée mais dans laquelle de nombreux arguments impliquent le genre *Clostridium* (Schönherr-Hellec, Butel et Aires, 2017)
- Cancers digestifs, en particulier le cancer colorectal dans lequel une dysbiose spécifique est observée et pour lequel le rôle de l'alimentation « occidentale » est clairement établi (Keku *et al.*, 2015).
- Obésité, chirurgie bariatrique : l'alimentation aussi bien sur le plan qualitatif que quantitatif module le microbiote intestinal de ces patients, bien que le rôle causal ne soit pas encore clairement établi (Sen *et al.*, 2017)
- Syndrome métabolique et diabète : certaines bactéries contribueraient au développement du diabète de type 2 (Zhang *et al.*, 2009) et d'autres pourraient exercer un effet bénéfique en agissant sur la production d'hormones régulatrices de l'appétit et de la glycémie (Everard et Cani, 2014)
- Maladies hépatiques : il existe une dysbiose au cours de la cirrhose qu'elle qu'en soit la cause, avec une translocation de bactéries buccales au niveau intestinal. Au cours des stéatoses métaboliques ou de stéato-hépatites on retrouve notamment une augmentation des *Lactobacillus* et *E.coli* ainsi qu'une diminution de *Oscillibacter* (Bashiardes *et al.*, 2016)
- Maladies cardiovasculaires : le microbiote intestinal pourrait influencer la prolifération endothéliale, l'instabilité des plaques d'athéromes ; il pourrait avoir un rôle dans la fibrose et l'insuffisance cardiaque (Tang, Kitai et Hazen, 2017)
- Réactions allergiques : des perturbations du microbiote ont été observées avant tout symptôme allergique mais les résultats des études restent à ce jour relativement limités, cela impliquerait les clostridies et leurs interactions avec les cellules Treg (Stefka *et al.*, 2014)
- Maladies psychiatriques et neurodégénératives : le rôle du microbiote dans la maturation de l'axe intestin-cerveau est maintenant établi et plusieurs études suggèrent un rôle bactérien dans les troubles anxieux dépressifs (Lv *et al.*, 2017), l'autisme (Mangiola *et al.*, 2016) ou encore les maladies de Parkinson (Pietrucci *et al.*, 2019) et d'Alzheimer (Jiang *et al.*, 2017)
- Polyarthrite rhumatoïde : l'interprétation des observations reste complexe mais certains micro-organismes ont été identifiés comme plus arthritogéniques que d'autres dans les modèles animaux, et le microbiote des patients atteints de spondylarthropathies ou de polyarthrite diffère (Breban *et al.*, 2017 ; Liu *et al.*, 2016)
- Psoriasis, acné : une dysbiose intestinale a été observée chez les patients atteints de psoriasis, et des arguments épidémiologiques supposent un lien entre l'axe intestin-cerveau-peau (Tan *et al.*, 2018)
- Gynécologie : le microbiote est suspecté dans les vaginoses et infection urinaires mais non démontré bien que des probiotiques oraux peuvent influencer la flore vaginale (Bohbot et Cardot, 2012 ; Homayouni *et al.*, 2014)

1.3. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

Les MICI regroupent principalement deux maladies distinctes : la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, qui se différencient en fonction de leurs manifestations cliniques (décrites ci-dessous et résumées dans le **Tableau VI**). Environ 15 % des patients présentent des colites dites indéterminées. La distinction entre ces colites s'appuie sur l'âge au diagnostic, la localisation, l'évolution phénotypique (inflammatoire, sténosante, fistulisante), la sévérité et les atteintes extra-digestives.

1.3.1. Épidémiologie

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont des pathologies dont la prévalence augmente dans les pays industrialisés (**Figure 19**). Plus de 200 000 personnes sont atteintes en France selon les estimations de l'Association François Aupetit (AFA – Vaincre la maladie de Crohn et la recto-colite hémorragique) et 2,5 millions en Europe. Ces affections peuvent atteindre la totalité du tube digestif, elles sont particulièrement invalidantes, récidivantes et incurables. Par conséquent, les MICI représentent un véritable enjeu de santé publique compte tenu de leur caractère idiopathique (Molodecky *et al.*, 2012).

Elles évoluent par poussées inflammatoires entrecoupées de phases asymptomatiques. L'étiologie de ces pathologies est à l'heure actuelle encore mal connue et la prise en charge des patients se limite à la gestion des poussées inflammatoires par des traitements palliatifs. La qualité de vie des patients reste fortement impactée. Dans les cas les plus graves, la chirurgie permet de retirer les zones les plus lésées, mais sans effet curatif, et le risque de récidives reste important (Kökten *et al.*, 2016).

Il existe deux pics d'apparition des MICI : entre 20 et 30 ans puis, plus rarement entre 50 et 60 ans. Mais 15 % des cas concernent des enfants, et selon l'Observatoire National des MICI, l'augmentation de l'incidence des MICI chez les moins de 20 ans est un phénomène relativement récent (**Figure 20**).

1.3.2. Maladie de Crohn (MC)

Décrite pour la première fois en 1932 par un médecin américain du nom de Burril B Crohn, cette maladie peut toucher l'intégralité du tube digestif (de la bouche jusqu'à l'anus). Les lésions sont toutefois majoritairement iléo-coliques (Torres *et al.*, 2017).

Les patients sont généralement diagnostiqués entre 20 et 30 ans mais la maladie peut survenir à tout âge. Évoluant sous forme de poussées inflammatoires (on parle alors de période d'activité de la MC) séparées par des périodes de rémission, la MC provoque des douleurs abdominales, accentuées après les repas, des diarrhées pouvant être sanglantes et un risque de lésions anales important.

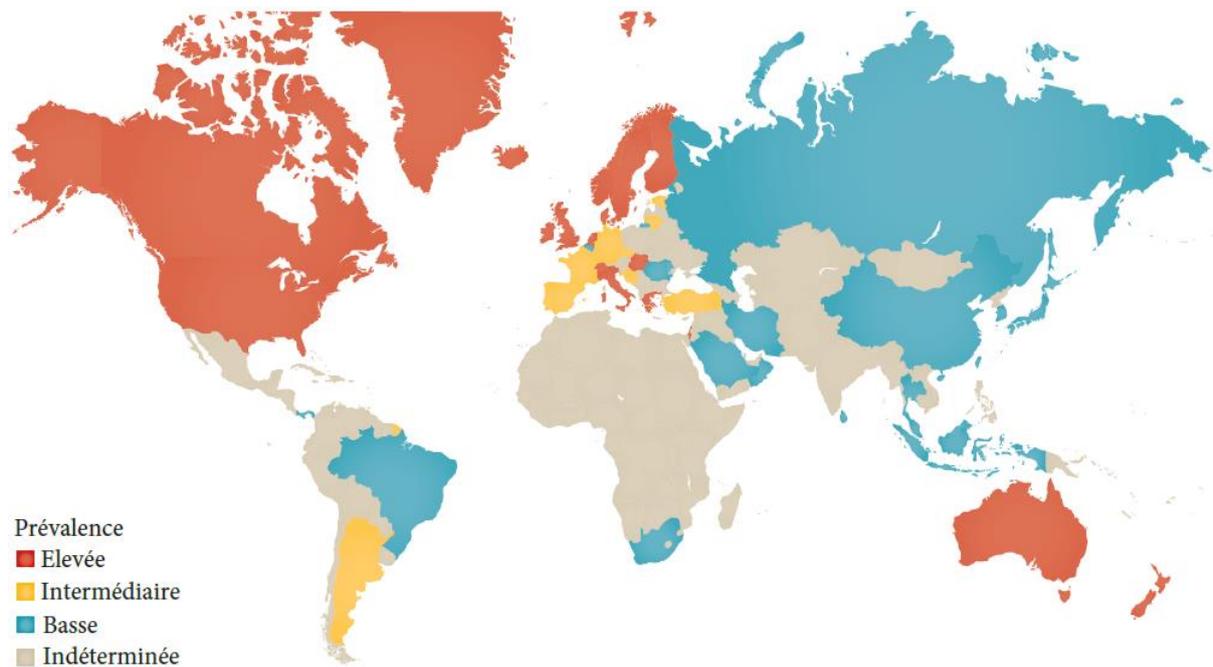


Figure 19 : Incidence des MICI dans le monde en 2015 (d'après Kaplan, 2015). Données épidémiologiques de Molodecky et al., 2012. Ces pathologies touchent majoritairement les pays industrialisés, laissant suggérer un lien entre MICI et facteurs environnementaux (habitudes alimentaires).

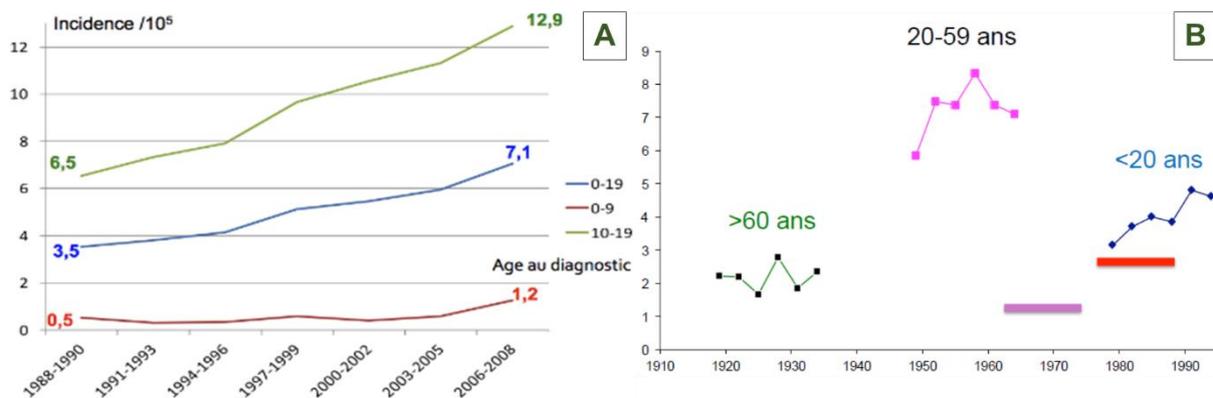


Figure 20 : Progression de l'incidence de la MC entre 1988 et 2008 dans la population des moins de 20 ans (A) et évolution de l'incidence de MC selon l'année de naissance (B) (Registre EPIMAD – Observatoire National de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique). Les MICI touchent des patients de plus en plus jeunes depuis ces dernières décennies, il existe un effet « période » qui confirme l'augmentation de l'incidence de MC chez les moins de 20 ans depuis les années 1980. Ces observations laissent supposer des facteurs de risque récents.

Les lésions ano-périnéales sont d'ailleurs spécifiques de la MC. L'état général des patients est souvent altéré (perte d'appétit, perte de poids, fièvre...) et les poussées inflammatoires s'accompagnent fréquemment de manifestations extra-intestinales (articulaires, cutanées, oculaires...).

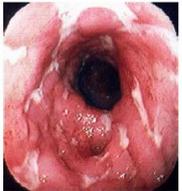
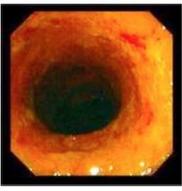
La distribution lésionnelle est discontinue : on observe des zones de paroi saine entrecoupées d'ulcérations aphtoïdes ou linéaires (illustrées dans le **Tableau VI**). Les lésions sont transmursales puisqu'elles atteignent les couches de la musculuse ou de la séreuse, ce qui présente un risque accru de fistule, de perforation et d'abcès. La paroi intestinale est épaissie et on peut noter la présence de follicules lymphoïdes (on parle alors d'hyperplasie lymphoïde).

1.3.3. Rectocolite hémorragique (RCH)

Dans la RCH, l'atteinte est surtout rectale, et bien qu'on puisse observer parfois une extension en amont vers le caecum, l'intestin grêle n'est jamais atteint. Comme pour la MC, la RCH évolue par poussées inflammatoires, provoquant une altération de l'état général, des douleurs abdominales et rectales, des rectorragies et des diarrhées inconstantes avec émission de glaires (Ungaro *et al.*, 2017).

Contrairement à la MC, la distribution lésionnelle est diffuse et continue, limitée à la muqueuse et dans de rares cas à la partie superficielle de la sous-muqueuse. Les ulcérations sont superficielles mais peuvent évoluer vers des ulcérations creusantes sans pour autant former de fistule.

Tableau VI : Caractéristiques cliniques et anatomiques de la MC et de la RCH (D'après Kökten *et al.*, 2016)

	Maladie de Crohn	Rectocolite Hémorragique
Situation	Tout le tube digestif	Rectum et côlon distal
Clinique commune	Altération de l'état général Douleurs abdominales Évolution par poussée	
Clinique spécifique	Masse abdominale, Diarrhée avec ou sans saignement	Diarrhées et glaires
Distribution lésionnelle	Lésions discontinues, hétérogènes et transmursales	Lésions continues homogènes et superficielles
Complications	Fistules fréquentes, Lésions anales fréquentes Risque d'occlusion digestive	Risque de colite aiguë grave
Coloscopie	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Ulcération aphtoïde</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Ulcération linéaire</p>  </div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Ulcération superficielle</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Ulcération creusante</p>  </div> </div>

1.3.4. Physiopathologie des MICI

Ce sont des maladies multifactorielles très complexes : sans que ces maladies ne soient purement héréditaires, de nombreux gènes de susceptibilité ont été identifiés. Les facteurs environnementaux modulant le risque d'apparition d'une MICI ou son évolution sont encore mal connus. En revanche, le microbiote intestinal est apparu comme étant un élément fondamental dans la pathophysiologie des MICI et l'étude de son rôle dans ces pathologies est actuellement un enjeu majeur. La combinaison de ces trois facteurs conduit à une dérégulation de l'équilibre symbiotique entre le microbiote et son hôte, responsable d'une activation excessive et incontrôlée du système immunitaire intestinal contre la flore chez les individus prédisposés génétiquement (**Figure 21**).

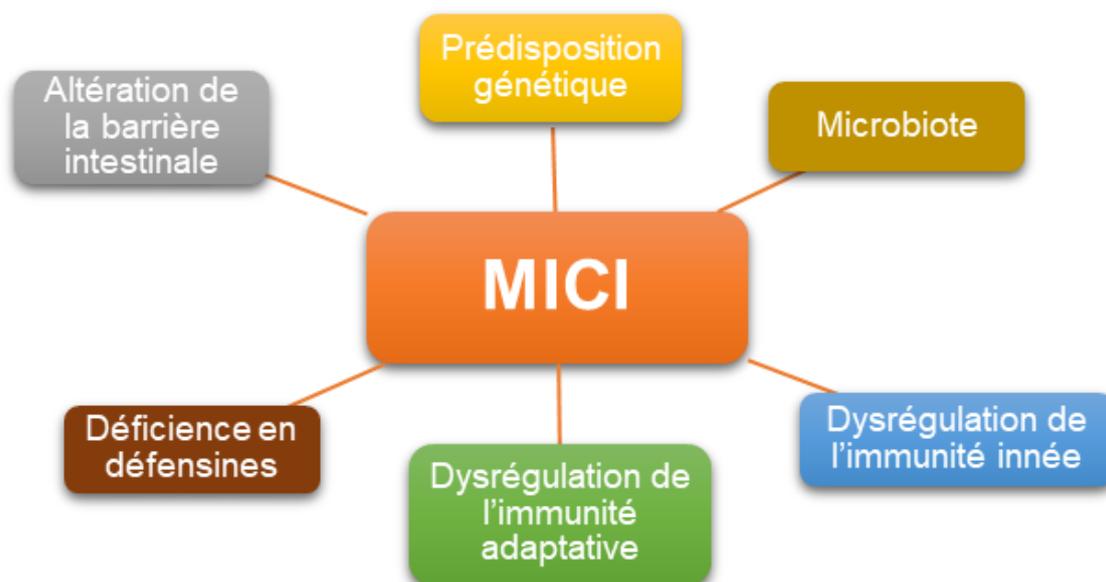


Figure 21 : Étiologie des MICI et mécanismes physiopathologiques impliqués (d'après Rogler 2013). Ce sont des pathologies multifactorielles complexes dont l'étiologie précise est encore mal comprise.

1.3.5. Génétique des MICI

Bien que les MICI ne soient pas des maladies purement génétiques, des enquêtes épidémiologiques ont mis en évidence qu'environ 15 % des patients atteints présentent des antécédents familiaux de MICI (Kökten *et al.*, 2016). Depuis l'association du gène *NOD2* (Nucleotide-Binding Oligomerization Domain 2) avec les MICI, près de 160 *loci* ont été identifiés comme étant impliqués dans la prédisposition génétique aux MICI (Jostins *et al.*, 2012). Un grand nombre des gènes identifiés ont un rôle dans la réponse immunitaire mais également dans des mécanismes de stress cellulaires et autophagique (**Tableau VII**).

Tableau VII : Principaux gènes de susceptibilité des MICI et fonctions biologiques associées (d'après Kökten et al., 2016).

Fonction biologique	Mutation génique
Barrière épithéliale	<i>GNA12, HNF4A, CDH1, ERRF1, MUC19, ITLN1</i>
Recrutement de cellules immunitaires	<i>IL8RA, IL8RB, CCL11, CCL2, CCL7, CCL8, CCR6, MST1</i>
Présentation antigénique	<i>ERAP2, LNPEP, DENND1B</i>
Voie Th17	<i>IL21, STAT3, IL23R, JAK2, TYK2, ICOSLG, TNFSF15</i>
Régulation des lymphocytes T	<i>IL2, IL7R, PIM3, TNFRSF9, TNFSF8, IFNG, NDFIP1, TAGAP, IL2R, TNFSF8, IL12B, IL23, PRDM1, ICOSLG</i>
Régulation lymphocytes B	<i>IL7R, IRF5, IL5, IKZF1, BACH2</i>
Tolérance immunitaire	<i>IL1R1, IL1R2, IL27, SBNO2, NOD2, IL10, CREM</i>
Migration cellulaire	<i>ARPC2, LSP1, AAMP</i>
Autophagie	<i>DAP, PARK7, ATG16L1, IRGM, NOD2, LRRK2, CUL2</i>
Apoptose	<i>DAP, PARK7, ATG16L1, IRGM, NOD2, LRRK2, CUL2</i>
Stress oxydatif	<i>HSPA6, DLD, PARK7, PRDX5, BACH2, ADO, GPX4, GPX1, SLC22A4, LRRK2, NOD2, CARD9, UTS2, PEX13</i>
Stress du réticulum endoplasmique	<i>SERINC3, CPEB4, ORMDL3, XBP1</i>

1.3.6. Facteurs environnementaux et MICI

L'impact de l'environnement sur les MICI est illustré par plusieurs études ayant montré que chez des populations migratoires, l'arrivée dans un pays occidental industrialisé déclenche l'apparition de cas de MICI dans des populations jusqu'alors préservées dans leurs pays d'origine. Face à cette nette corrélation entre l'apparition des MICI et les changements environnementaux, de nombreuses études ont été menées afin d'identifier les facteurs déclenchants ou aggravants des MICI (**Figure 22**) (Foster et Jacobson, 2013 ; Molodecky *et al.*, 2012).

Actuellement, les seuls facteurs environnementaux indiscutablement associés aux MICI sont le tabagisme et l'appendicectomie. Ainsi, le tabagisme possède paradoxalement un effet protecteur vis-à-vis de la survenue des poussées chez les patients RCH (par une diminution de la perméabilité membranaire et une augmentation du mucus au niveau colique) et délétère pour la MC (augmentant le recours à la chirurgie, le risque d'infarctus) (Torres *et al.*, 2017).

De même, l'appendicectomie avant l'âge de 20 ans réduit le risque de 70 % d'apparition de RCH alors qu'elle semble augmenter le risque de MC (Ungaro *et al.*, 2017). Aucun consensus sur l'association entre les autres facteurs environnementaux (alimentation, antibiothérapie, contraceptifs, vaccination...) n'a été trouvé, c'est pourquoi il reste encore des hypothèses.

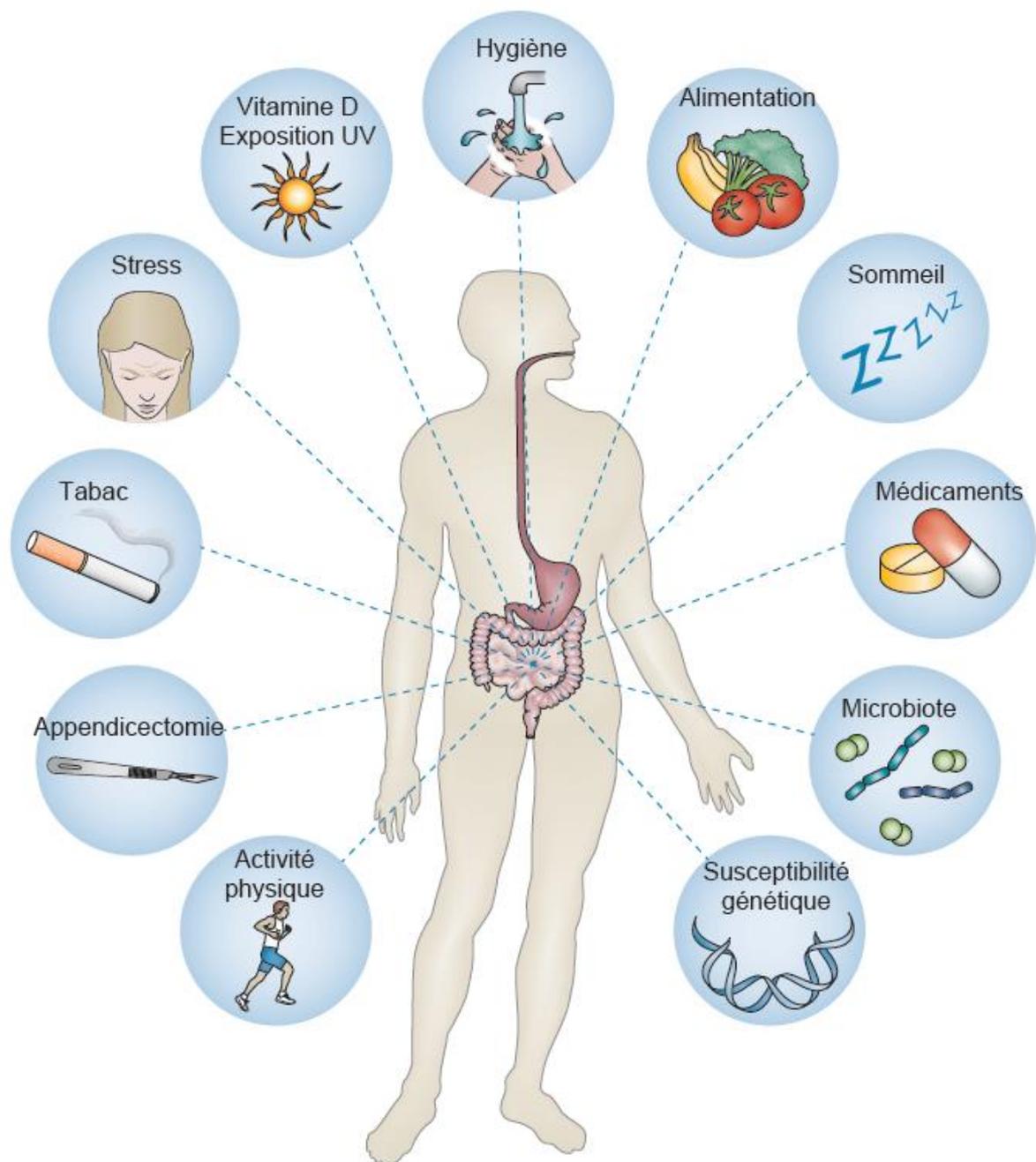


Figure 22 : Facteurs impliqués dans le développement des MICI (adapté de Ananthakrishnan, 2015). Aucun des facteurs de risques seuls n'est suffisant pour le développement de la maladie, il existe des interactions complexes entre chaque facteur qui conduisent au développement d'une MICI.

1.3.7. Microbiote et MICI

Le microbiote est un facteur clé de la physiopathologie des MICI puisque de très nombreuses études montrent une dysbiose intestinale chez les patients (Manichanh, 2006 ; Miyoshi et Chang, 2017). Ce déséquilibre ne concerne pas seulement les bactéries, on observe également des altérations du compartiment fongique, marquées par une diminution de la biodiversité, de la composition et une désorganisation totale du microbiote provoquant une surproduction de cytokines inflammatoires (**Figure 23**) (Sokol *et al.*, 2008, 2017).

En effet, l'inflammation chez les patients MICI touche particulièrement les zones de fortes concentrations en micro-organismes, à savoir l'iléon distal et le côlon (Elson *et al.*, 2005). On observe notamment chez ces patients une diminution des *Firmicutes* par rapport à des témoins sains (Frank *et al.*, 2007), et en particulier la perte de *Faecalibacterium prausnitzii* (une bactérie sécrétant une protéine aux effets anti-inflammatoires par inhibition de la voie NF- κ B sur des modèles de colites expérimentales) qui semble être prédictive des récurrences post-opératoires de la MC, de même que de faibles taux fécaux de micro-organismes (Rajca *et al.*, 2014) (**Figure 24**). Parallèlement, on observe une augmentation de *E.coli adhérente invasive* (AIEC) chez 36 % des sujets atteints de MC (Darfeuille-Michaud *et al.*, 2004). Cette bactérie intracellulaire est capable de survivre et se multiplier dans les macrophages sans induire de mort cellulaire, ces derniers sécrètent alors des taux élevés de TNF- α (Palmela *et al.*, 2018).

Dans la plupart des modèles murins, la présence du microbiote intestinal est nécessaire au développement d'une colite spontanée ou induite (Elson *et al.*, 2005). Il est également décrit chez la souris qu'une mutation du gène *NOD2* est associée à une dysbiose (Natividad *et al.*, 2012). Le développement du modèle TRUC (T-bet-/- RAG2-/- ulcerative colitis) a permis de découvrir de façon inattendue que le facteur de transcription T-bet (régulateur des programmes génétiques de l'immunité innée et adaptative) influence le microbiote intestinal : la perte de ce facteur influence les populations bactériennes rendant le microbiote « colitogène » et transmissible à des hôtes sans prédisposition génétique (Garrett *et al.*, 2007).

Afin de valider les observations faites chez les patients MICI, notamment le déficit en *F.prausnitzii* (une bactérie appartenant au groupe *Clostridium IV*) (Sokol *et al.*, 2009), 17 souches bactériennes appartenant aux clusters *Clostridium* ont été administrées par voie orale à des souris adultes chez qui une colite a été chimio-induite au TNBS (Acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique) par voie rectale : l'atténuation de la colite a été observée (Atarashi *et al.*, 2013).

D'autre part, l'analyse métabolomique de prélèvements fécaux a récemment montré des niveaux réduits de méthylamine et de triméthylamine ainsi qu'une quantité élevée d'acides aminés. Une dysbiose affectant l'absorption des nutriments pourrait être impliquée mais reste à déterminer (Marchesi *et al.*, 2007).

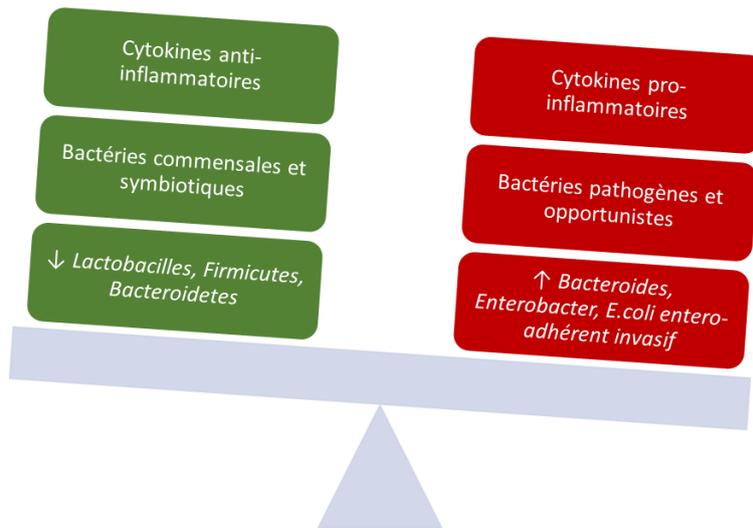


Figure 23 : Dysbiose intestinale observée chez les patients atteints de MICI (d'après Kökten et al., 2016). La dysbiose correspond à un déséquilibre entre les bactéries dites « protectrices » du microbiote intestinal et les bactéries « délétères ». Il en résulte une surproduction de cytokines pro-inflammatoires majorant la réponse immunitaire et donc l'inflammation.

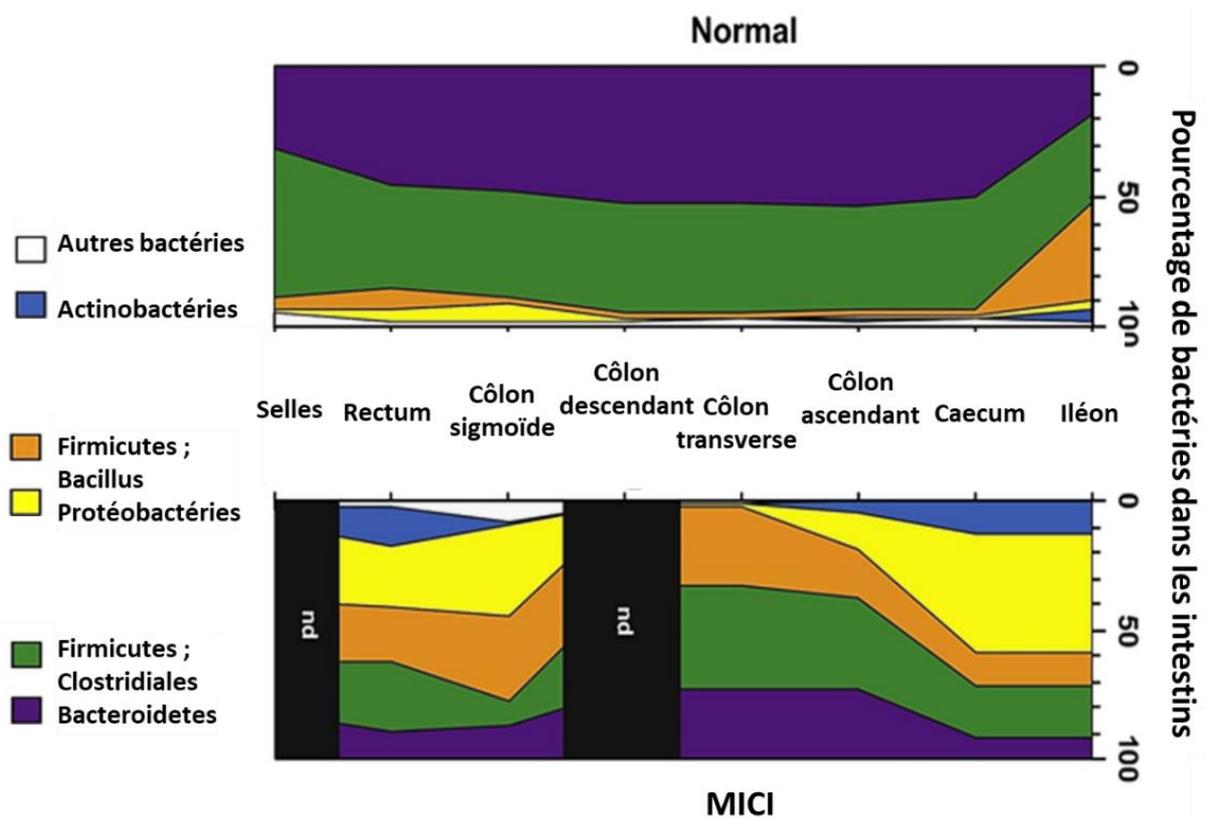


Figure 24 : Comparaison microbiote intestinal "sain" au microbiote observé chez les patients atteints de MICI (adapté de Peterson et al., 2008). La distribution des phylas bactériens prédominants dans le tractus digestif est représentée depuis l'iléon aux selles : l'abondance relative des bactéries a été mesurée chez 5405 patients MICI et 13 000 témoins.

1.3.8. Mécanismes cellulaires

- **Système immunitaire**

Dans le contexte pathologique des MICI, l'équilibre entre le microbiote intestinal et son hôte est rompu. Bien que les mécanismes déclenchants soient encore mal compris, on sait désormais que l'inflammation de la muqueuse et les lésions intestinales observées chez les patients sont la conséquence d'une activation excessive du système immunitaire qui résulte de la dysbiose intestinale d'une part, et de la perte d'intégrité de la barrière muqueuse d'autre part (**Figure 25**).

La dysbiose conduit à une surreprésentation des micro-organismes « délétères » (pro-inflammatoires) par rapport aux bactéries « protectrices ». Cette perte d'homéostasie du microbiote intestinal est aggravée par une perte de l'intégrité de la barrière intestinale. La baisse de sécrétion de mucus par les cellules en gobelet et de défensines par les cellules épithéliales et les cellules de Paneth, conduit à la possibilité de contacts directs et prolongés entre les bactéries et l'épithélium.

Finalement, la perte de certaines jonctions serrées entre les cellules de l'épithélium rend la barrière intestinale perméable aux bactéries intestinales et permet l'invasion de la *lamina propria* (Khor, Gardet et Xavier, 2011). Par conséquent, la dysbiose intestinale et la perte d'intégrité de la barrière muqueuse vont donc conjointement faciliter l'invasion de la muqueuse et déclencher l'activation du système immunitaire en réponse à l'activation par les antigènes bactériens des récepteurs TLR et NOD2 des cellules épithéliales, mésenchymateuses et des macrophages et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL1 β , IL-6 et IL-8).

Finalement, ces cytokines induisent la maturation et la migration vers les ganglions lymphatiques des cellules dendritiques qui vont synthétiser de l'IL-12 pro-inflammatoire au lieu de l'IL-10 anti-inflammatoire (produite habituellement en réponse aux antigènes commensaux). Les LT naïfs CD4⁺ vont alors se différencier en LT effecteurs (LTh1, LTh2 et LTh17) sous l'action d'IL-6 et IL-12 qui vont amplifier l'inflammation en libérant eux aussi des cytokines pro-inflammatoires tels que IFN γ , TNF- α , IL-1 β , et IL-17 (Mowat, 2003).

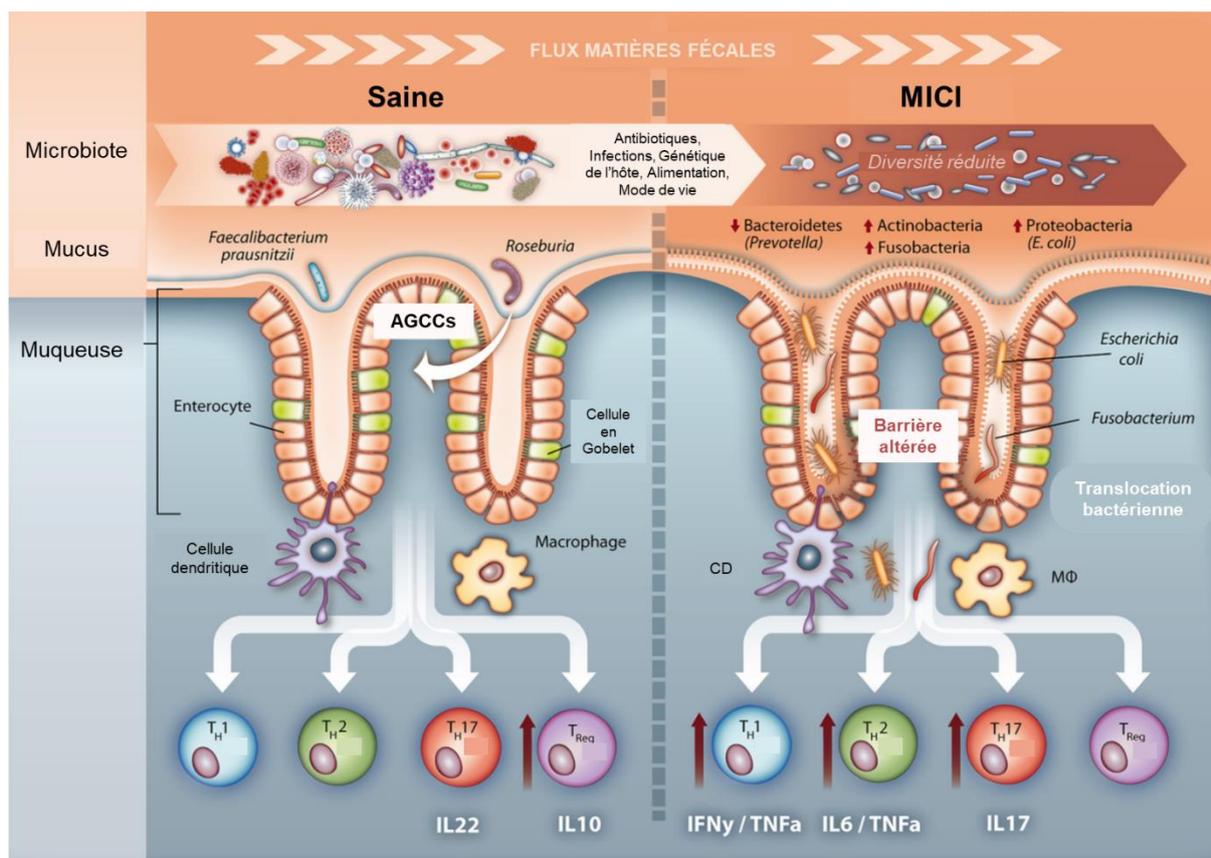


Figure 25 : Comparaison entre une muqueuse saine et inflammée atteinte de MICI (d'après Sommer et al., 2017). La dysbiose du microbiote intestinal conjointement à la perte d'intégrité de la barrière intestinale (diminution de la sécrétion de mucus et dégradation des jonctions cellulaires) conduisent à une hyperperméabilité intestinale, favorisant l'invasion de la lamina propria à laquelle le système immunitaire répond en activant les voies inflammatoire Th1, 2 et 17. AGCCs : Acides Gras à Chaîne Courte, CD : cellules dendritiques, Mφ : macrophage.

- **Autophagie**

L'autophagie est un mécanisme ubiquitaire responsable de la dégradation des constituants cellulaires par le lysosome. Ce processus peut être déclenché par les infections microbiennes, mais aussi l'accumulation de protéines malformées dans la cellule ou encore le stress oxydatif. Il permet le maintien de l'homéostasie cellulaire en recyclant les composants et organites endommagés de la cellule, et est également impliqué dans le développement du système immunitaire (via la présentation antigénique par les CMH).

Lorsqu'une bactérie est reconnue comme pathogène par les cellules de l'épithélium intestinal, elle active une cascade immunitaire afin qu'elle soit éliminée : après avoir été reconnue par divers récepteurs (NOD et TLR) au niveau notamment des macrophages ou des cellules épithéliales, elle est internalisée pour être dégradée par le lysosome. Le rôle de l'autophagie ne se limite pas à l'élimination des micro-organismes ayant envahi la muqueuse, elle participe également à la présentation d'épitopes de la bactérie digérée aux autres cellules de l'immunité (LTh, LT cytotoxiques, macrophages) afin de les activer.

On distingue trois formes d'autophagie (**Figure 26**). La micro-autophagie correspond à l'encapsulation du composé à dégrader par invagination directe de la membrane lysosomiale. La macro-autophagie nécessite la formation autour de l'élément à dégrader d'un autophagosome à double membrane, qui fusionnera avec le lysosome pour former une structure appelée autolysosome qui déverse son contenu dans le lysosome afin qu'il y soit dégradé. Et enfin, l'autophagie médiée par les protéines chaperonnes (CMA) permet une dégradation spécifique par le lysosome de composés cytosoliques (Yang, Goronzy et Weyand, 2015).

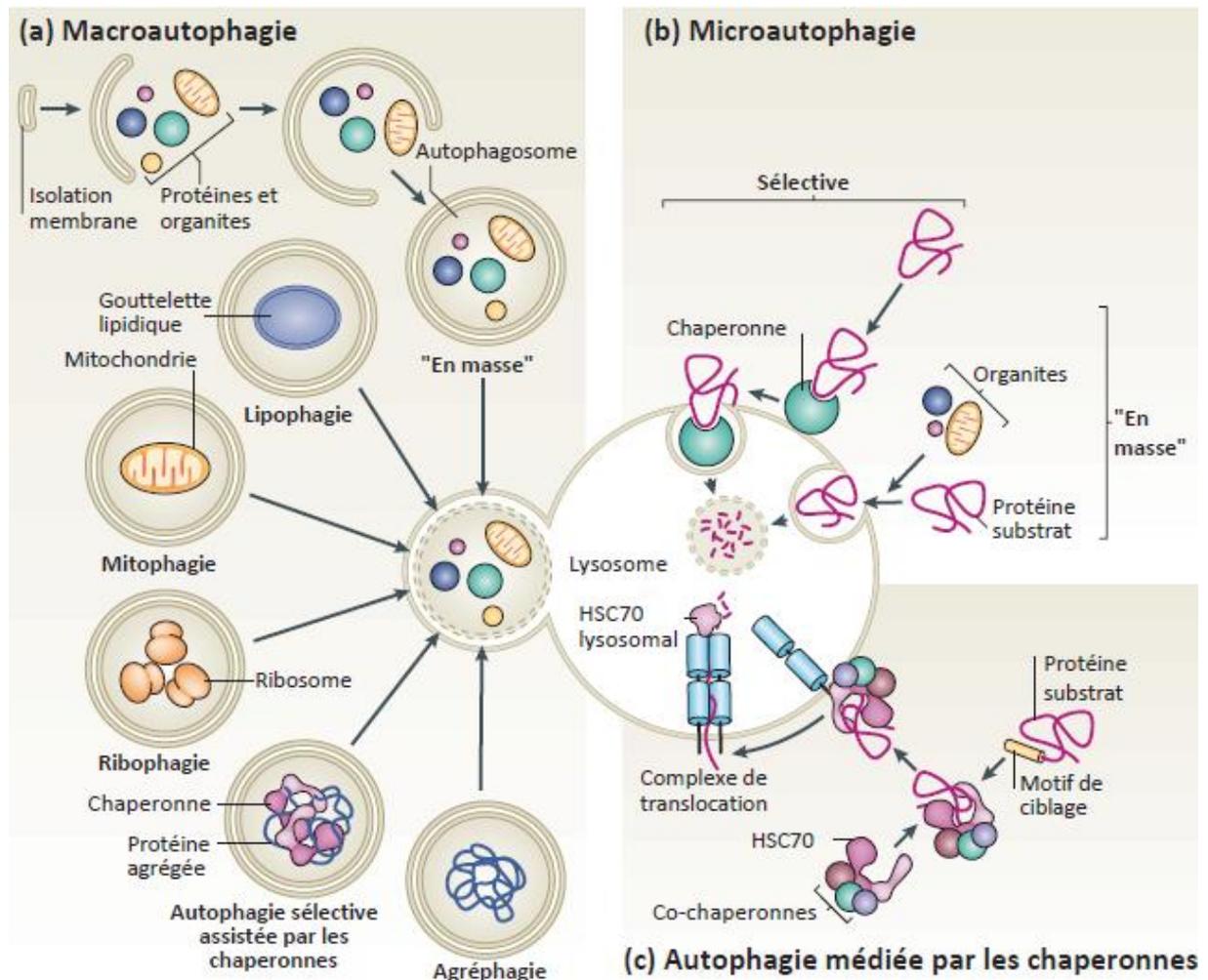


Figure 26 : Présentation des 3 voies de l'autophagie (d'après Cuervo, 2011). La macro-autophagie (a) caractérisée par l'internalisation de la bactérie dans une structure membranaire (phagosome) qui fusionnera avec le lysosome. La micro-autophagie (b) qui correspond à l'internalisation directe par le lysosome de composants cytoplasmiques par invagination de sa membrane. L'autophagie médiée par les protéines chaperonnes (c) permettant l'adressage au lysosome de protéines cytosoliques malformées possédant un motif (KFERQ) grâce aux protéines chaperonnes HSPA8 et HSC70 et au récepteur membranaire LAMP-2A. Une fois dans le lysosome, les protéines sont dégradées par les enzymes lysosomales.

La voie de la macro-autophagie (**Figure 27**) fait intervenir de nombreux médiateurs : tout d'abord elle est induite par le complexe ULK1 (unc51-like kinase) – FIP200 et ATG13 dont l'activité est régulée par la protéine mTOR (inhibiteur de l'autophagie). Ce complexe permet d'initier la formation du phagophore (une structure membranaire isolée). L'élongation de cette structure est assurée par le complexe protéique ATG5, ATG12, ATG16L1 et LC3 et permettra d'enfermer les éléments à dégrader dans l'autophagosome qui pourra finalement fusionner avec le lysosome de la cellule où son contenu sera dégradé (Patel et Stappenbeck, 2013).

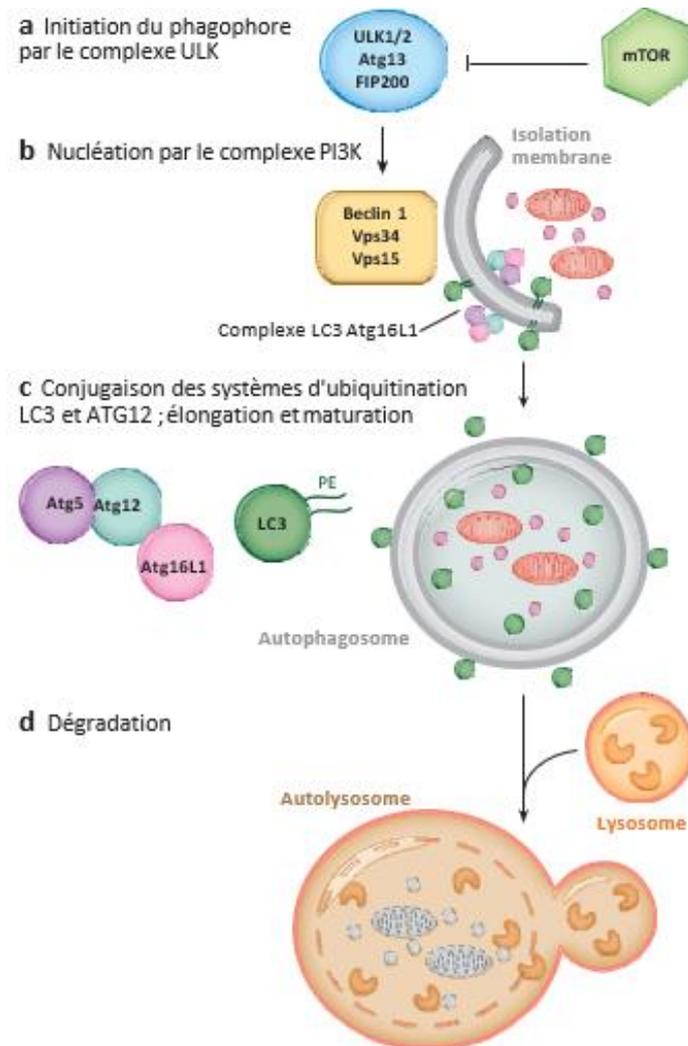


Figure 27 : Présentation du mécanisme séquentiel de la macro-autophagie (adapté de Patel et Stappenbeck, 2013). L'initiation de la formation du phagophore (a) est induite par le complexe ULK1/ATG13/FIP200. Cette structure membranaire est ensuite isolée par le complexe PI3K (b) avant d'être allongée grâce au complexe formé par les protéines LC3/ATG5/ATG12/ATG16L1 afin de former un autophagosome. Cette structure fusionne avec le lysosome de la cellule (d) afin d'en dégrader le contenu.

La CMA permet de dégrader les protéines présentant des anomalies structurales ou oxydées. Son rôle est déterminant en particulier dans un contexte de carence nutritionnelle car elle permet de recycler les acides aminés. C'est une forme de dégradation plus sélective que la macro-autophagie. En effet, les protéines dégradées par cette voie contiennent le motif peptidique KFERQ en position C terminale. Ce motif est spécifiquement reconnu par le complexe de protéines chaperonnes HSC70/HSPA8 afin d'initier l'adressage vers le lysosome.

Au niveau de la membrane lysosomale, ce complexe [Protéine/HSC70/HSPA8] est alors reconnu par le récepteur LAMP-2A présent à la surface du lysosome. En présence de son partenaire HSPA8 lysosomal (HSPA8_{lys}), ce récepteur LAMP-2A permet l'entrée de la protéine à dégrader dans le lysosome (Wang et Muller, 2015).

D'autres protéines chaperonnes, telles que HSP90, sont impliquées dans l'autophagie, mais également dans les différentes réponses au stress cellulaire. Des dysfonctionnements dans le processus autophagique contribuent à la pathogenèse des MICI (**Figure 28**)

Chez les patients souffrants de MICI, des perturbations dans ce mécanisme engendrent un défaut d'élimination des agents pathogènes, qui s'accumulent et favorisent ainsi la dysbiose intestinale. Finalement, ces anomalies conduisent à une réponse exacerbée du système immunitaire intestinal.

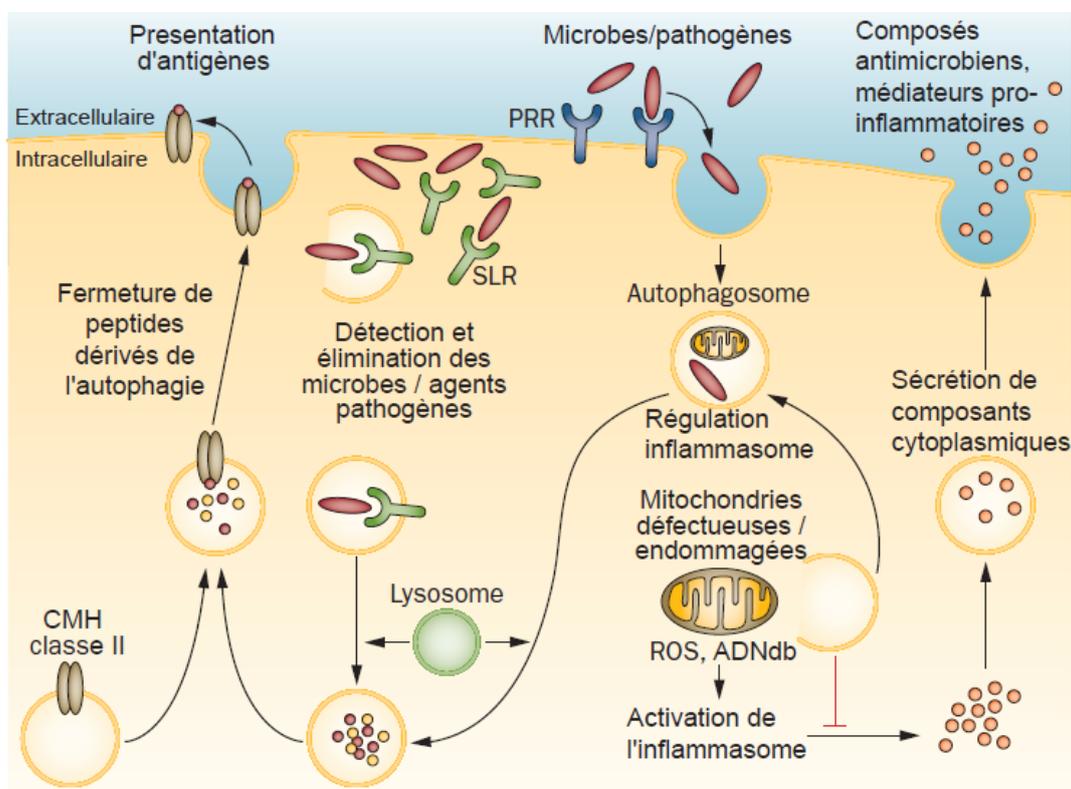


Figure 28 : Autophagie et régulation immunologique MICI (Nys, Agostinis et Vermeire, 2013). L'autophagie interagit avec les étapes essentielles de la réponse immunitaire : ce processus catabolique facilite la détection et l'élimination des pathogènes. Lors de l'activation des PRR (« Pattern Recognition Receptor ») l'autophagie pourrait être induite comme un mécanisme effecteur pendant que les SLR (« sequestosome 1/p62-like receptor ») intracellulaires ciblent les pathogènes de façon directe vers les autophagosomes. L'élimination autophagosomale des organites défectueux (mitochondries libérant des ROS : espèces réactives de l'oxygène et de l'ADN double brin) régule ainsi l'activation de l'inflammasome. L'autophagie pourrait également contribuer à la sécrétion inhabituelle de composés microbiens et médiateurs inflammatoires. Finalement les autophagosomes fusionnent avec les lysosomes où le contenu y est dégradé et les peptides générés peuvent ensuite être acheminés vers la membrane pour la présentation antigénique de CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe II entraînant la régulation de la réponse immunitaire adaptative.

1.3.9. Prise en charge thérapeutique des MICI

Ces pathologies étant cryptogénétiques, la prise en charge thérapeutique actuelle ne permet pas de guérison mais peut limiter la fréquence et la sévérité des poussées. Le diagnostic d'une MICI est difficile à établir, il reste incertain pendant parfois plusieurs années, si bien qu'il peut être récusé 5 ans après sa découverte. En effet, 22,5% des patients initialement diagnostiqués atteints de colite indéterminée, 5,4% des patients diagnostiqués MC et 6,2% des cas de RCH ne sont finalement pas atteints de MICI (Henriksen *et al.*, 2006).

Tableau VIII : Symptômes et complications des MICI (Farré et Pariente, 2017 ; World Gastroenterology Organisation Global, 2015). Les % indiquent la fréquence de survenue. MC Maladie de Crohn, RCH Rectocolite hémorragique.

Type	Description
Symptômes digestifs	Diarrhée (87% MC, 78% RCH) : selles avec mucus ou sang, diarrhée nocturne, incontinence fécale
	Constipation : peut être un symptôme primaire dans la RCH (12% RCH)
	Douleurs ou rectorragie lors de la défécation (11% MC, 72% RCH)
	Crampes et douleurs abdominales : <ul style="list-style-type: none"> - Quadrant inférieur droit fréquemment dans la MC ou autour de l'ombilic (85%) - Quadrant inférieur gauche dans la RCH modérée ou sévère (72% RCH)
	Nausées et vomissements plutôt dans la MC (18% MC, 10% RCH)
Symptômes généraux	Fièvre
	Anorexie, amaigrissement (65% MC, 59% RCH)
	Fatigue
	Sudation nocturnes
	Retard de croissance
	Aménorrhée primaire
Symptômes extra-digestifs	Arthralgies (15-20 % MICI)
	Ulcération ou érythème noueux cutané (5-10% MICI)
	Conjonctivites, sclérite/épisclérite ou uvéites (2-5% MICI)
	Troubles hépatiques
Complications digestives	Hémorragies (ulcères surtout RCH)
	Perforation intestinale
	Abcès intra-abdominaux (25% MC)
	Sténose et obstruction : dans la MC les sténoses sont souvent inflammatoires, dans la RCH les sténoses coliques doivent être considérées comme malignes
	Fistules et maladie périanale : caractéristiques de la MC
	Mégacôlon toxique (rare mais complication potentiellement mortelle de la colite, plus fréquent dans la RCH)
	Cancer (surtout pour la RCH augmentation du risque de cancer colique, dans la MC de l'intestin grêle risque accru d'adénocarcinome)
Complications extra-intestinales	Arthrite ou polyarthrite (parmi les complications les plus fréquentes, 15-20% des patients souffrent d'arthralgies)
	Spondylite ankylosante (1-5 % MICI)
	Pyoderma gagnrenosum (1-3%)
	Cholangite sclérosante primitive (1-5% MICI)
	Ostéoporose
	Maladie thrombo-embolique et épisodes artériels ischémiques (1%)
	Anxiété, dépression
	Stéatose hépatique non alcoolique (complication la plus fréquente 10 à 30%)
	Atteintes pulmonaires (1% MICI)
	Lésions pancréatiques (1% MICI)
	Néphrolithiase et calculs biliaires (MC)

Le diagnostic est généralement établi en période de poussée, mais les patients souffrent de signes peu spécifiques (**Tableau VIII**) et de façon intermittente, il est donc difficile d'évaluer avec précision la pathologie si bien que de très nombreux scores ont été développés pour comparer la sévérité et évaluer au mieux l'évolution de la maladie chez un même malade (Marteau *et al.*, 2003).

Ainsi, le diagnostic clinique doit s'accompagner d'un examen des selles dans un premier temps pour écarter une infection (recherche de *Clostridium difficile*, de sang ou de leucocytes dans les selles, dosage de la calprotectine fécale marqueur de lésions intestinales). Les examens sanguins, bien que peu spécifiques, peuvent montrer une augmentation de la protéine C-réactive (CRP). Il est nécessaire d'écarter une séropositivité au VIH, une maladie cœliaque et il est primordial d'exclure une tuberculose intestinale. En complément, l'état nutritionnel du patient doit être évalué en dosant l'albumine, la ferritine (+/- transferrine), la vitamine B12 et les folates sériques. Enfin, une sérologie permet de rechercher les anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) et les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (pANCA), rares marqueurs spécifiques des MICI (World Gastroenterology Organisation Global, 2015).

Enfin, l'imagerie et tout particulièrement l'endoscopie avec biopsie pour analyse histopathologique fait partie des examens de choix dans le diagnostic des MICI : l'endoscopie digestive permet de rechercher et localiser précisément les lésions. Un entéro-IRM peut compléter l'endoscopie afin d'étudier de manière plus fine l'intestin grêle (Croisé-Laurent, 2012).

Tableau IX : Classification de Montréal (d'après Satsangi, 2006). *L4 peut coexister avec les autres classifications *p la maladie périnéale peut coexister avec les autres classifications. Par exemple un patient diagnostiqué à 21 ans et atteint d'une maladie iléo-colique compliqué d'un abcès abdominal et d'une maladie périnéale serait classé comme A2L3B3p.

Critère	Évaluation	Classification
Âge au diagnostic	< 16 ans	A1
	17-40 ans	A2
	> 40 ans	A3
Localisation	Iléale (+/- caecum)	L1
	Colique	L2
	Iléo-colique	L3
	Tube digestif haut*	L4
Évolution	Inflammatoire	B1
	Sténosante	B2
	Fistulisante	B3
	Maladie périnéale*	p

- **Maladie de Crohn**

Une fois le diagnostic établi, la classification de Montréal permet d'évaluer la sévérité de la maladie afin d'adapter la prise en charge (**Tableau IX**). Cette classification est une mise à jour de la classification initiale de Vienne, qui catégorise les patients selon leur âge au diagnostic, la localisation et leur comportement car ces 3 critères sont des facteurs pronostiques importants. Il existe une modification pédiatrique de cette classification – la classification de Paris – développée pour prendre en compte les effets sur la croissance (Torres *et al.*, 2017).

Cependant, cette classification s'est avérée insuffisante face aux nombreux patients non-répondeurs. Actuellement, aucun consensus international n'a pu être complètement établi sur l'utilisation de ces classifications, bien que toutes les sociétés de gastro-entérologie reconnaissent la nécessité d'évaluer l'activité de la maladie (Van Assche *et al.*, 2010).

En France, le consensus national a établi une classification qui « grade » la maladie en s'appuyant sur deux index, grâce auxquels des algorithmes décisionnels permettent d'établir la prise en charge la plus adaptée (**Tableau X ; Figure 29**). Ainsi, ce n'est pas moins de 9 algorithmes qui ont été approuvés par le consensus national français en 2016, mais seuls deux exemples sont présentés dans la **Figure 30** (Peyrin-Biroulet *et al.*, 2017).

Tableau X : Graduation de l'activité de la maladie de Crohn selon le consensus ECCO (Peyrin-Biroulet *et al.*, 2017). CDAI : Crohn's Disease Activity Index. HBI : Harvey-Bradshaw Index. CRP : protéine C réactive. IMC : indice de masse corporelle.

Grade	Critère	Exemple
Légère	CDAI entre 115 et 220 et score HBI < 8	Patient en ambulatoire, sans gêne alimentaire avec une perte de poids < 10 %. Absence de signe d'occlusion, d'hyperthermie, déshydratation, de masse abdominale ou de sensibilité à la palpation. CRP en général légèrement au-dessus de la limite normale.
Modéré	CDAI entre 220 et 450 et score HBI entre 8 et 12	Vomissements intermittents ou perte de poids > 10 %. Traitement des poussées minimales inefficaces ou masse sensible. Absence de signe évident d'occlusion. CRP augmentée au-dessus de la limite supérieure.
Sévère	CDAI > 450 et score HBI > 12	Cachexie (IMC < 18 kg/m ²) ou occlusion évidente ou abcès). Symptômes persistants malgré un traitement intensif. CRP considérablement augmentée.

<p>1. Nombres de selles liquides ou très molles : $[] [] [] \times 2 = [] [] []$</p> <p>2. Douleurs abdominales : $[] [] \times 5 = [] [] []$ (0 = aucune ; 1 = légères ; 2 = moyennes ; 3 = intenses)</p> <p>3. Bien-être général : $[] [] \times 7 = [] [] []$ (0 = bon ; 1 = moyen ; 2 = médiocre ; 3 = mauvais ; 4 = très mauvais)</p> <p>4. Autres éléments liés à la maladie : $[] \times 20 = [] [] []$ Compter 1 pour chaque catégorie d'éléments présents et souligner l'élément présents :</p> <ul style="list-style-type: none"> - arthrite, arthralgie - iritis, uvéite - érythème noueux, pyoderma gangrenosum, - stomatite aphteuse - fissure, fistule, abcès anal ou péri-rectal - autre fistule - fièvre > 38 °C dans la dernière semaine <p>5. Prise d'anti-diarrhéiques : $[] \times 30 = [] [] []$ (0 = non ; 1 = oui)</p> <p>6. Masse abdominale : $[] \times 10 = [] [] []$ (0 = absente ; 2 = douteuse ; 5 = certaine)</p> <p>7. Hématocrite : Hématocrite = $[] [] []$ % Ajouter ou soustraire selon le signe : Hommes : 47 - Hte = $[] [] []$ × 6 = $[] [] []$ Femmes : 42 - Hte = $[] [] []$</p> <p>8. Poids : $\frac{\text{Poids théorique} \times [] [] [] - \text{Poids actuel} [] [] []}{\text{Poids théorique} [] [] []} \times 100 = [] [] [] \times 1 = [] [] []$</p> <p>Total CDAI = $[] [] []$</p>	<p>Bien-être général [] []</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 0 bon <input type="checkbox"/> 1 moyen <input type="checkbox"/> 2 médiocre <input type="checkbox"/> 3 intense <input type="checkbox"/> 4 (très mauvais) <p>Douleur abdominale [] []</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 0 aucune <input type="checkbox"/> 1 légère <input type="checkbox"/> 2 moyenne <input type="checkbox"/> 3 sévère <p>Selles liquides (nombre par jour) [] [] []</p> <p>Masse abdominale [] []</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 0 aucune <input type="checkbox"/> 1 douteuse <input type="checkbox"/> 2 certaine <input type="checkbox"/> 3 certaine et douloureuse <p>Signes extradiigestifs : (1 point par item présent) Arthralgie, Uvéite, Kératite, Érythème noueux, pyoderma gangrenosum, aphtes bucaux, fissure anale, fistule, abcès [] []</p> <p>Total score $[] []$</p>
--	---

Figure 29 : Scores CDAI (Crohn's Disease Activity Index) et HBI (Harvey-Bradshaw Index) (Brichet et Roblin, 2017).

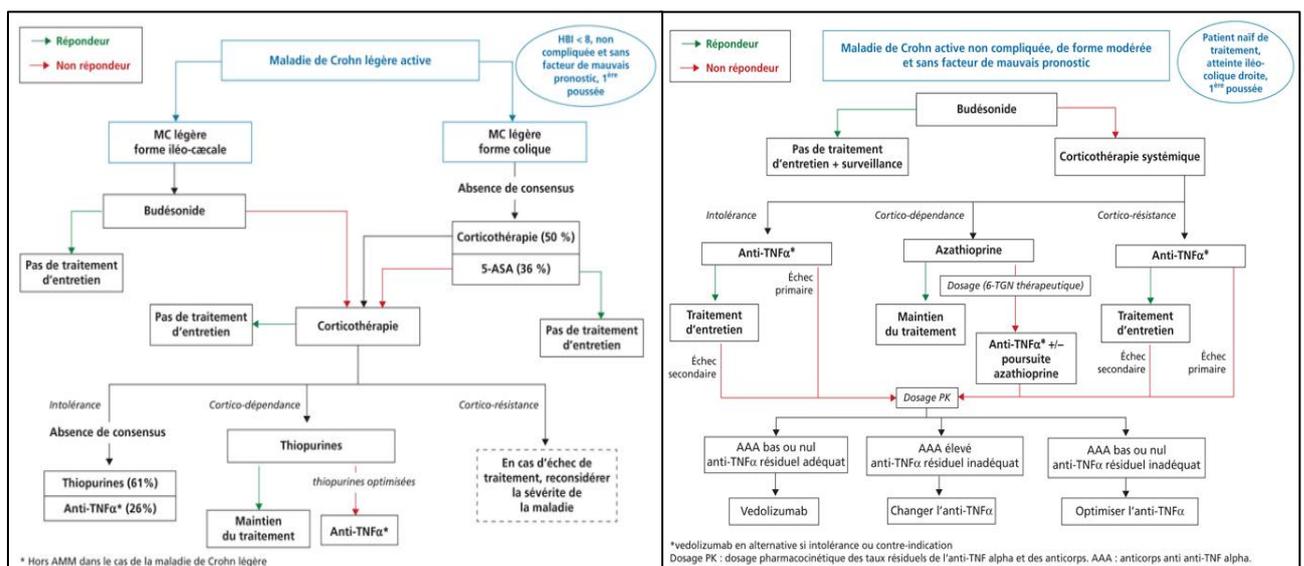


Figure 30 : Algorithme approuvé pour le traitement de la maladie de Crohn légère active et active compliquée (Peyrin-Biroulet et al., 2017).

En dehors de la prévention des complications, de la prise en charge psychologique et nutritionnelle, un arbre décisionnel est présenté en **Figure 31** et les principaux traitements pharmacologiques sont les suivants (HAS, 2019) :

- **5-ASA** (acide 5-aminosalicylique ou pentasa) par voie orale et/ou rectale : molécule anti-inflammatoire à visée intestinale dont le mécanisme d'action n'est pas encore entièrement élucidé bien qu'il implique la voie des récepteurs PPAR- γ et NF- κ B
 - o Mésalazine 1 à 4 g/j en traitement des poussées et prévention des rechutes faibles à modérées
 - o Sulfasalazine 2 à 6 g/j par voie orale uniquement et seulement dans les atteintes coliques
- **Corticothérapie** par voie orale : molécules anti-inflammatoires, immunosuppressives à forte dose, les glucocorticoïdes de synthèse inhibent la production de prostaglandines et de leukotriènes par blocage de la phospholipase A2.
 - o Prednisone et prednisolone durant les phases de poussées d'intensité moyenne à sévère (posologie habituelle 1mg/kg/jour chez l'adulte). La décroissance doit être progressive (par paliers de 7 jours) à partir de la rémission afin d'éviter l'insuffisance surrénalienne. Le test au Synacthène® peut être proposé au moment de l'arrêt après une corticothérapie prolongée.
 - o Budésonide adapté aux formes iléo-coliques droites
- **Antibiotiques** : pas d'indication dans les MC non compliquées ! Une antibiothérapie peut être mise en place (quinolone) dans le traitement des abcès ou des lésions suppuratives. Si le patient présente une diarrhée sous antibiotique, il est impératif de faire une coproculture car suspicion de colite à *Clostridium difficile*.
- **Traitement de la carence martiale** (qu'elle soit associée ou non à une composante inflammatoire) : par voie intraveineuse sous hospitalisation si la carence est majeure ou en cas d'intolérance du fer *per os*. Cependant une coloration noire des selles est habituelle lors du traitement et ne doit pas conduire à l'arrêt du traitement.
- **Immunomodulateurs** : MC résistantes, contexte spécialisé
 - o Azathioprine : promédicament de la 6-mercaptopurine (6-MP), qui une fois captée par les cellules est convertie en thioguanine nucléotides qui agit comme immunosuppresseur.
 - o 6-MP (hors AMM) : pro-drogue inactive, indiquée dans le traitement des leucémies aiguës et utilisée hors AMM dans certaines MC.
 - o Méthotrexate (hors AMM) : antimétabolite indiqué dans le traitement de cancers et maladies autoimmunes, inhibiteur de la dihydrofolate réductase
 - o Anti-TNF (infliximab indication pédiatrique et adalimumab) : anticorps monoclonaux chimérique fixant le TNF- α .

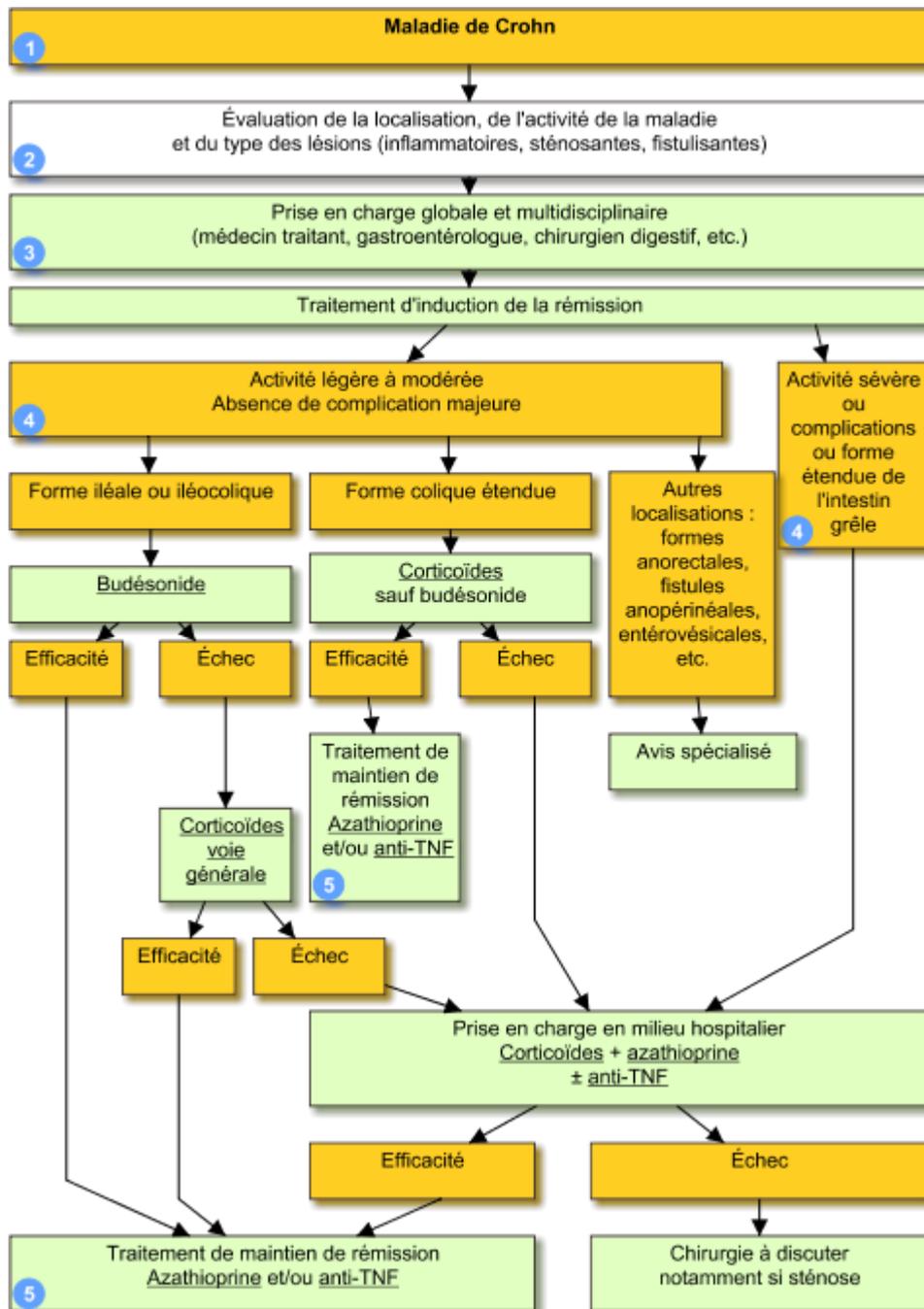


Figure 31 : Arbre décisionnel du Vidal Recommandations 5^{ème} édition, *Prise en charge de la Maladie de Crohn (Vidal recos, 2015)*. 1 – Suspicion de MC. 2 – Évaluation de la localisation des lésions et de l'activité. 3 – Prise en charge globale du patient. 4 – Induction de la rémission. 5 – Maintien de la rémission. Dans tous les cas la prise en charge spécifique de ces traitements (leurs interactions médicamenteuses, complications infectieuses, hépatiques...) doit se faire en partenariat entre le médecin traitant et le spécialiste.

- **Rectocolite hémorragique**

Tout comme la MC, l'objectif de la prise en charge est avant tout de confirmer le diagnostic de RCH et d'en évaluer la sévérité ainsi que la présence de complications. Là aussi des scores ont été établis comme celui Mayo (**Tableau XI**).

Tableau XI : Score de Mayo permettant d'évaluer l'activité de la RCH (d'après Stange et al., 2008). RCH légère : 2 – 5 points ; RCH modérée : 6 – 8 points ; RCH sévère > 9 points.

Critère	0	1	2	3
Fréquence des selles par jour (en plus du nombre habituel)	Normal	1 à 2 / jour	3-4 / jour	5 / jour
Saignement rectal	Sans	Traces de sang < 50 %	Rectorragie évidente la plupart du temps	Saignement en dehors des selles
Observation endoscopique de la muqueuse	Normale	Colite légère (érythème, muqueuse sèche)	Colite modérée (érythème visible, érosion)	Colite sévère (ulcérations, hémorragies spontanées)
Évaluation globale du médecin	Normale	Légère	Modérée	Sévère

Les traitements pharmacologiques sont similaires à ceux de la MC (HAS, 2008) :

- 5-ASA par voie orale et/ou rectale
- Dérivés de l'acide amino-4 salicylique par voie rectale : autre dérivé de l'acide salicylique comme le 5-ASA, plus efficace en traitement local des poussées, ils sont mieux tolérés et plus efficaces que les corticoïdes.
- Corticothérapie par voie locale ou orale (la voie *per os* étant plutôt utilisée en prévention des rechutes et la voie rectale en traitement des poussées)
- Antibiotiques : pas d'indication dans la RCH non compliquée mais un traitement « présomptif » par quinolone peut être mise en place après prélèvement pour coproculture et recherche de colite à *Clostridium difficile*.
- Fer en cas de carence martiale
- Immunomodulateurs (RCH résistantes, contexte spécialisé) :
 - Ciclosporine (hors AMM) : polypeptide cyclique immunomodulateur aux propriétés immunosuppressives indiqué dans le traitement des greffes, dermatites atopiques, polyarthrite rhumatoïde aplasie médullaire...
 - Azathioprine
 - 6-MP (hors AMM)
 - Anti-TNF : infliximab.
- Probiotique : seul *E.coli Nissle 1917* a montré son efficacité chez l'adulte dans la prévention des rechutes mais il n'est pas disponible actuellement en France.

- **Prise en charge non médicamenteuse des MICI**

L'éducation thérapeutique des patients est primordiale, elle est réalisée par tous les professionnels de santé et un soin particulier doit être apporté à aider le patient à mener une existence « normale ». En effet, au vu du caractère chronique et incurable de ces pathologies, pour garantir une bonne observance des traitements il est important d'accompagner les patients au mieux d'un point de vue psychologique (Dalibon, 2015). Les associations de patients telle que l'AFA en France, tiennent une place importante et sont de véritables partenaires aussi bien pour les autorités de santé que pour les professionnels impliqués (Louis et Marteau, 2019).

En dehors des complications graves et situation d'urgence (drainage des abcès, occlusions, péritonites...) la chirurgie est réservée aux malades résistants au traitement bien conduit. Elle consiste en l'exérèse des lésions inflammatoires et doit être la plus limitée possible tout comme le recours aux stomies, le plus souvent provisoire, qui n'est pas rare mais délicat vis-à-vis de la qualité de vie des patients (Caillo et Bourgaux, 2019).

L'alimentation n'est actuellement que peu prise en charge malheureusement, les seules recommandations actuelles sont de conserver une alimentation diversifiée et équilibrée (Hébuterne, 2019). Dans la MC, l'alimentation entérale à débit continu et la nutrition parentérale exclusive ont pourtant une efficacité démontrée en traitement des poussées, en particulier chez l'enfant et aident à corriger la dénutrition associée à la maladie (Wędrychowicz, Zajac et Tomasik, 2016). Dans la RCH, un régime d'épargne intestinale (restriction des fruits et légumes) peut être transitoirement mis en place lors des poussées les plus marquées (HAS, 2008).

L'accompagnement nutritionnel est pourtant capital car les MICI peuvent avoir un retentissement important sur l'état nutritionnel : dénutrition, carences en vitamines et micronutriments (Hébuterne, 2019). On sait aujourd'hui que de nombreux nutriments ont un effet sur l'intestin : les régimes gras et sucrés favorisent la perméabilité intestinale (Martinez-Medina *et al.*, 2014), les acides gras saturés activent la voie TLR4 (Rocha *et al.*, 2016), et la consommation d'antioxydants réduit le risque d'inflammation de la muqueuse (Pierre *et al.*, 2018).

D'autre part, des modèles animaux confirment ce lien entre alimentation et MICI : la consommation de régime hyperlipidique chez des souris $TNF^{\Delta ARE/WT}$ (modèle de MC iléales) provoque une apparition plus précoce de la colite (Gruber *et al.*, 2013a), de même qu'il aggrave les colites spontanément développées par les souris $Mdr1a^{-/}$ (Paik *et al.*, 2013b).

Le rôle de la consommation de **sucres raffinés** dans l'apparition de la maladie de Crohn a été souligné (Sakamoto *et al.*, 2005). De plus, l'étude prospective européenne EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) a analysée de manière globale la composition du régime alimentaire de 121 patients atteints de MC et 484 atteints de RCH. Elle montre qu'un profil alimentaire riche en légumes est inversement associé au risque de MC. Des analyses complémentaires sont en cours pour mieux caractériser le type de légume associé à la diminution du risque. L'effet protecteur pourrait être médié par l'Aryl Hydrocarbon Receptor ou par le maintien d'une eubiose (Racine *et al.*, 2014).

De nombreuses hypothèses sont à l'étude puisque le microbiote semble modifié dans de très diverses pathologies chroniques. L'alimentation ne peut plus être ignorée puisqu'elle module directement le microbiote intestinal et qu'il est lié plus ou moins fortement à de nombreuses pathologies qui touchent particulièrement les pays industrialisés (**Figure 32**).

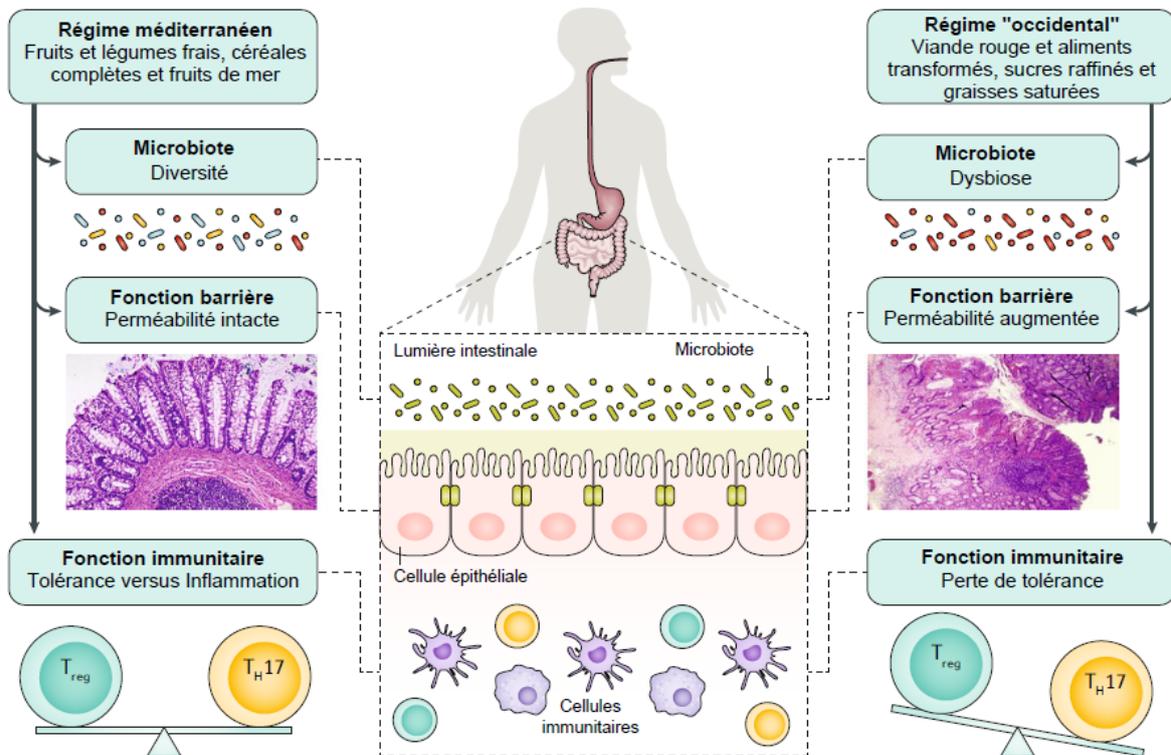


Figure 32 : Hypothèse du lien alimentation, microbiote et MICI (d'après Khalili et al., 2018). Le régime « Western Diet » pourrait augmenter le risque de MICI contrairement au régime méditerranéen bien que le mécanisme exact sous-entendant l'association entre régime alimentaire et MICI reste inconnu. L'hypothèse repose sur les modifications du microbiote et de la barrière intestinale observées dans les régimes occidentaux qui semble provoquer un environnement pro-inflammatoire caractérisé par un déséquilibre entre le ratio de cellules Thelper 17 (T_{H17}) et les cellules régulatrices T_{reg} .

2. Hypothèses de travail et Objectifs

Compte tenu du fait que les MICI sont essentiellement observées dans les **pays industrialisés** (qui sont caractérisés par la consommation de régimes alimentaires riches en sucres et en graisses) et de la composante environnementale de la physiopathologie des MICI, il est légitime d'envisager un impact de l'alimentation sur leur apparition et le mécanisme physiopathologique (Racine *et al.*, 2016).

Ceci est conforté par l'existence de similitudes entre l'obésité et les MICI : tout d'abord, ce sont deux **pathologies chroniques**, qui touchent indifféremment les hommes et les femmes de tout âge. Ensuite, on constate que dans les **pays occidentaux**, la prévalence des MICI a suivi la même courbe ascendante que celle de l'obésité (Blain *et al.*, 2002 ; Cosnes *et al.*, 2011). On sait que l'obésité est un facteur aggravant des MICI (Mendall *et al.*, 2018 ; Singh *et al.*, 2017) et qu'un IMC élevé est associé à de nombreuses complications (Harper et Zisman, 2016). Enfin, on observe ces dernières années que MICI et surpoids touchent des patients de plus en plus jeunes (Ng *et al.*, 2014) .

Ces similitudes suggèrent l'implication du surpoids et de l'alimentation dans la pathogénie des MICI, et cette hypothèse est renforcée par le fait que l'obésité mais également la dysbiose du microbiote engendrent divers problèmes de santé chroniques, en particulier, des pathologies inflammatoires : arthrose et obésité, microbiote et obésité ou encore dysbiose et spondyloarthrites (Brebant *et al.*, 2017) et certains cancers (Hruby et Hu, 2015).

D'autre part, les résultats de 19 études épidémiologiques montrent qu'un apport alimentaire élevé en **graisses** augmenterait le **risque du développement des MICI** (Hou, Abraham et El-Serag, 2011). Ainsi, il existe une association entre le risque de MC et les IMC élevés qui définissent l'obésité (Mendall *et al.*, 2011)(Harpsøe *et al.*, 2014). Un IMC élevé est également associé avec une **évolution défavorable** des MICI, un risque plus élevé de **rechutes, d'abcès, de complications chirurgicales** et d'hospitalisations (Blain *et al.*, 2002) (Hass *et al.*, 2006).

Notre hypothèse est qu'une **alimentation hypercalorique** pourrait **favoriser une flore intestinale délétère** accélérant et/ou **aggravant la colite** et activer des mécanismes cellulaires délétères de la pathogénie des MICI alors qu'à l'inverse, un **régime hypocalorique** tel que le **jeûne** pourrait protéger et/ou **diminuer la sévérité de l'inflammation** intestinale, en limitant d'une part la dysbiose, et d'autre part l'activité de mécanismes cellulaires délétères de la pathogénie des MICI.

L'objectif de mon travail de thèse est de **mieux comprendre les liens** entre l'apport alimentaire, la composition du microbiote intestinal, la sévérité d'une colite chimio-induite et la régulation de l'activité de mécanismes clés dans la pathogénie des MICI afin d'améliorer la prise en charge de ces patients.

Pour vérifier ces hypothèses nous avons mis en place plusieurs **protocoles *in vivo***. Un premier protocole expérimental a consisté à évaluer les effets de régimes **hypercaloriques** (hyperlipidique et hyperglucidique) ainsi que des régimes hypocaloriques (jeûne) lorsqu'ils sont consommés durant huit semaines chez des souris mâles et femelles (afin de tenir compte des différences entre les deux sexes).

Les sucres rapides contribuent en moyenne à 9,5 % de l'apport énergétique des adultes français et **41 % des adultes dépassent le seuil de recommandation de OMS** de 10 % de l'apport énergétique journalier. Nous avons donc choisi de nous intéresser plus particulièrement au sucre dans le cadre d'un second protocole *in vivo* (MICICAL 2018).

3. Matériels et Méthodes

3.1. Expérimentation animale

3.1.1. Choix du modèle animal

Les souris C57BL/6 sont les plus largement utilisées pour l'étude des maladies humaines, suivant les recommandations de l'« US National Committee on Ethics Reflection Experiment » décrites dans le « *Guide for care and use of laboratory animals* » (National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011). Cette souche C57BL/6 est obtenue par croisement consanguin et constitue ainsi une lignée stable. Elle possède de bonnes capacités de reproduction et la facilité de son élevage en font la souche la plus répandue dans les animaleries de laboratoire. C'est aussi la première lignée dont le génome a été entièrement séquencé en 2002 (Gunter et Dhand, 2002). Par ailleurs, elle sert également de base pour le développement de nombreux modèles transgéniques de souris mimant des pathologies métaboliques dont certains pourraient être utilisés dans le cadre du projet du laboratoire notamment les souris *Nod2*^{-/-}, principal gène de susceptibilité de la MC (Nancey *et al.*, 2017).

3.1.2. Conditions d'élevage

Les souris sont élevées dans un local fermé de l'animalerie où la température ambiante est maintenue à 22-23°C et l'hygrométrie inférieure à 40 %. La pièce est maintenue en surpression afin de limiter les éventuelles contaminations et chaque cage est reliée à un système de filtration d'air (SmartFlow Teniplast®). Un cycle de lumière/obscurité de 12h est instauré selon les réglementations du Comité National de Réflexion d'Éthique sur l'Expérimentation (décrites dans le « *Guide for care and use of laboratory animals* »). Les souris sont maintenues dans des cages disposant de produits d'enrichissement où elles ont un accès libre à l'eau ainsi qu'à la nourriture. Le projet a reçu un avis favorable du comité d'éthique lorrain CELMEA n°66 (dossier APAFIS9027-2017021317271887) et validé par le ministère.

3.1.3. Protocole préliminaire MICICAL 2017

Des souris âgées de 9 semaines ont été nourries avec 3 régimes alimentaires différents (**Tableau XII ; Figure 33**). Les animaux ont été répartis en 3 groupes de 8 mâles et 8 femelles et distribués par groupes de 4 animaux par cages. Le régime utilisé pour l'entretien des souris dans l'animalerie a été utilisé comme référence normocalorique. Après deux semaines d'acclimatation, les régimes hyperglucidique et hyperlipidique ont été administrés pendant 8 semaines. Les animaux ont été pesés de façon hebdomadaire, le sang et les selles prélevés tous les mois.

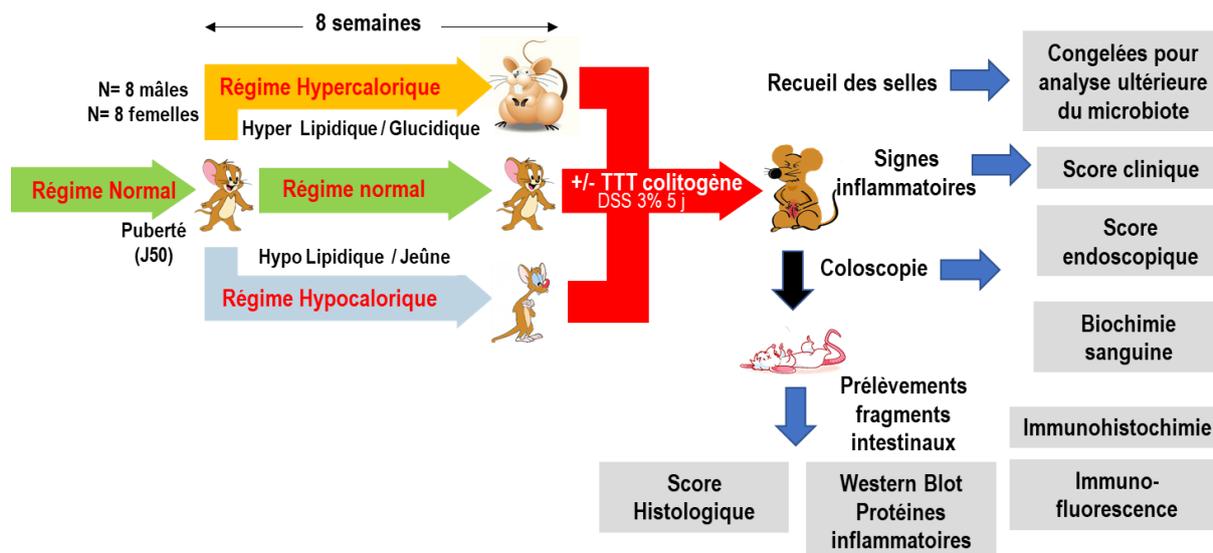


Figure 33 : Schéma général du projet préliminaire MICICAL 2017. Étude in vivo de l'influence des graisses, du sucre et du jeûne sur la colite expérimentale. Des groupes de 4 souris mâles et 4 souris femelles ont été soumis à différents types de régimes alimentaires avant d'induire une colite en administrant du Sulfate de Sodium Dextran (DSS).

Tableau XII : Composition et référence des régimes alimentaires des souris

Régimes	Références	Apports caloriques	Compositions
Normo calorique (NC)	A04 Safe Diets	3339 kcal/kg	Orge, Blé, maïs, tourteau d'extraction de soja, son de blé, protéines de poisson hydrolysées, prémélange de vitamines et minéraux, phosphate bicalcique, carbonate de calcium
Hyper lipidique (HL)	U8957 Safe Diets	4775 kcal/kg	Saccharose, saindoux, caséine, prémélange de minéraux PM 205B, prémélange de vitamines PV 200 1 %
Hyper glucidique (HG)	U8960 Safe Diets	5524 kcal/kg	Saccharose, caséine, saindoux, amidon de maïs, pré-gélatinisé, cellulose brute, huile de soja, prémélange de minéraux PM 205B, prémélange de vitamines PV 200 1 %, DL - méthionine, bitartrate choline

3.1.4. Protocole MICICAL 2018

Un second protocole (MICICAL 2018) a permis de répliquer et compléter nos résultats. Pour des raisons pratiques, nous avons choisi de cibler les mâles dans un premier temps. Nous avons donc mis en place un protocole plus long (16 semaines) ainsi que deux régimes alternant hyperglucidique et retour à un régime normal afin d'étudier un éventuel effet « mémoire » du microbiote (**Figure 34**). Les animaux ont été suivis quotidiennement et pesés individuellement de façon hebdomadaire tout au long du protocole.

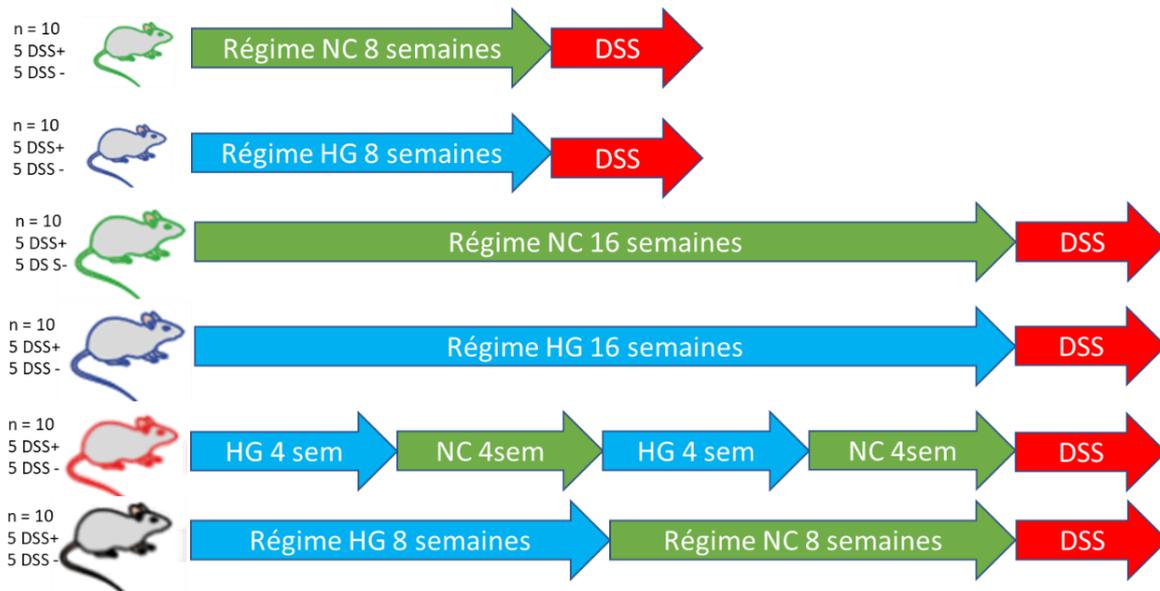


Figure 34 : Schéma du protocole animal MICICAL 2018. Étude *in vivo* de l'influence du régime hyperglucidique sur la colite expérimentale. Des groupes de 5 souris mâles ont été soumis à différentes durées de régime hyperglucidique (HG). NC : régime normocalorique, DSS : Dextran Sulfate Sodium.

3.1.5. Prélèvements *in vivo*

Au cours des différents protocoles, les selles des souris ont été prélevées de manière individuelle 1 fois par semaine (souris isolées le temps du prélèvement puis selles fraîches immédiatement congelées à -80°C). La composition du microbiote fécal est étudiée à l'Institut Pasteur de Lille en collaboration avec le Pr Chamaillard avec l'Unité 1019 INSERM & Unité 8204 CNRS. Le sang des souris a également été prélevé mensuellement dans la veine sous-mandibulaire puis immédiatement centrifugé et le plasma congelé à -80°C .

3.1.6. Traitement colitogène

Le sulfate de dextrane sodique (DSS) est un produit chimique permettant d'induire expérimentalement une colite mimant celle observée chez les patients souffrants de MICI. En effet, la prise orale de DSS entraîne des lésions au niveau de l'épithélium intestinal. Celles-ci favorisent le contact entre la flore intestinale et l'épithélium. Ce dernier engendre l'activation du système immunitaire intestinal et le recrutement de cellules inflammatoires. C'est un modèle expérimental hautement reproductible et couramment utilisé au laboratoire comme dans la littérature.

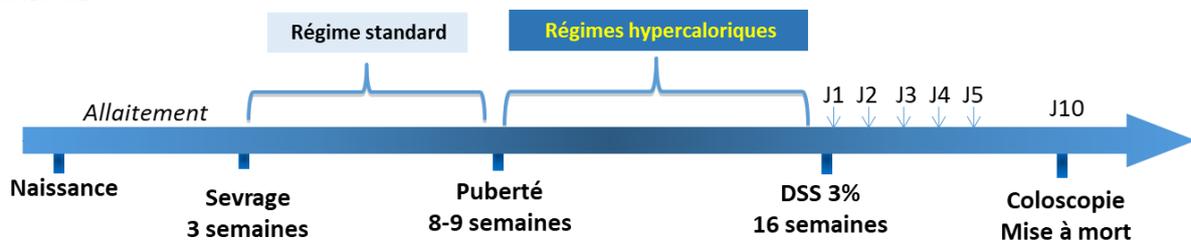


Figure 35 : Chronologie des protocoles expérimentaux. Les animaux sont soumis aux régimes à partir de l'âge de la puberté pendant une durée de 8 semaines puis le traitement colitogène est administré durant 5 jours et les animaux sont mis à mort à J10. Les souris non traitées avec le DSS (Sulfate de Dextran Sodique) ont été utilisées comme référence.

Après chaque régime alimentaire, la moitié des souris pour chaque groupe ont été traitées durant 5 jours avec du DSS dilué à 3 % (m/v) dans l'eau de boisson (PM 36000-50000 MP Biomedicals[®], Strasbourg, France) afin d'induire chimiquement une colite. Après 5 jours de traitement, la solution de DSS est remplacée par de l'eau claire durant 5 jours (le processus inflammatoire s'auto-entretient après traitement) et toutes les souris sont finalement mises à mort à J10. La chronologie du protocole est présentée dans la **Figure 35**.

3.1.7. Score clinique d'inflammation

Durant ces 10 jours, chaque animal a été pesé quotidiennement, son état général a été observé afin d'établir un score clinique d'inflammation ou score DAI pour « *Disease Activity Index* », permettant d'évaluer la sévérité de la colite (Cooper *et al.*, 1993). Ce score s'appuie sur trois critères : la perte de poids, la consistance des selles (normales, molles, diarrhée) ainsi que la présence ou non de sang dans les selles ou de rectorragie (**Tableau XIII**). Après avoir évalué chaque critère, le score DAI est calculé en faisant la moyenne des scores obtenus chaque jour, pour chacune des souris.

Tableau XIII : Critères utilisés pour calculer le score DAI « Disease Activity Index » (d'après Murthy *et al.* 1993). Le DAI correspond aux scores combinés (poids, selles, saignement) / 3.

Score	Perte de poids (%)	Consistance des selles	Saignement, Rectorragie
0	0	Normales (crottes bien moulées)	Négatif
1	1-5	Molles (pâteuses mais qui ne collent pas à l'anus)	Négatif
2	5-10	Molles (pâteuses mais qui ne collent pas à l'anus)	Sang dans les selles
3	10-15	Diarrhée (liquide qui colle à l'anus)	Sang dans les selles
4	> 15	Diarrhée (liquide qui colle à l'anus)	Saignement rectal

3.1.8. Examen coloscopique

À l'issue du protocole *in vivo*, les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'isoflurane 3 % (Abbvie Forene[®]), produit volatil d'anesthésie générale distribué dans de l'oxygène à l'aide d'un appareil d'anesthésie mobile distribuant le gaz dans un masque.

Une fois l'animal anesthésié, une coloscopie est réalisée à l'aide d'un endoscope adapté pour le petit animal de laboratoire (Karl Storz Endoskope 200903-31[®]) (**Figure 36**). La procédure permet de visualiser les éventuelles lésions au niveau du côlon distal (environ 4 cm) et du rectum à l'aide d'un mini endoscope rigide Storz Hopkins II[®] (longueur 30 cm, diamètre 2mm ; Storz) couplé à un système de caméra Coloview (lampe au xeson 175 et caméra Endovision SLB Telecam Storz[®]). De l'air est insufflé *via* une canule ainsi que de l'eau à l'aide d'une pompe à basse pression (Rena air 200 ; Rena[®]). Les images sont observées sur un ordinateur relié au moniteur et enregistrées avec un logiciel de capture vidéo (Studio Movie Board Plus[®], Pinnacle).



Figure 36 : Endoscopie souris au laboratoire N-GERE. L'animal est maintenu anesthésié à l'isoflurane via un masque durant l'examen.

Les vidéos sont ensuite analysées en aveugle par au moins deux expérimentateurs différents formés par un gastro-entérologue du CHRU de Nancy-Brabois afin d'établir un score endoscopique d'inflammation (UCEIS : « *Ulcerative Colite Endoscopic Index of Severity* ») prenant en compte la vascularisation de la paroi (visibilité du réseau vasculaire), les saignements (superficiels ou profonds) et l'érosion ou l'ulcération de la muqueuse (dépôts de fibrine, ou lésions creusantes de la muqueuse) permettant ainsi d'évaluer la sévérité de la colite. Les critères d'établissement de ce score sont détaillés dans le **Tableau XIV**, le score total correspond à la somme des 3 critères (Travis *et al.*, 2012).

Tableau XIV : Critères utilisés pour calculer le score UCEIS : « *Ulcerative Colite Endoscopic Index of Severity* » (d'après Travis *et al.* 2012). Le score final est la somme de chaque critère.

Description	Score	Définition
Vascularisation	1 : Normal	Réseau vasculaire normal, capillaires et arborisation vasculaire clairement visible ou avec perte légère des marges capillaires
	2 : Partiellement oblitéré	Réseau vasculaire partiellement visible, oblitération irrégulière
	3 : Oblitéré	Oblitération complète du réseau vasculaire
Saignement	1 : Pas de saignement	Pas de sang visible
	2 : Muqueux	Quelques tâches ou stries de sang coagulé sur la surface de la muqueuse, qui peut être lavé
	3 : Luminal léger	Présence de sang liquide dans la lumière
	4 : Luminal modéré ou sévère	Présence franche de sang dans la lumière devant l'endoscope, suintement visible de la muqueuse après avoir lavé le sang intraluminal ou suintement visible d'un muqueuse hémorragique
Érosions et ulcérations	1 : Pas d'érosion	Muqueuse normale, pas d'érosion ou d'ulcération visible
	2 : Érosions	Petites (≤ 5 mm) lésions dans la muqueuse, de blanche ou jaune, aux bords plats
	3 : Ulcération superficielle	Zones importantes (> 5 mm) lésées dans la muqueuse, ulcères discrets couverts de fibrine mais restent superficiels
	4 : Ulcération profonde	Lésions excavées, profondément creusées dans la muqueuse, avec bord légèrement étiré

3.1.9. Prélèvements et préparation des échantillons biologiques

Après l'examen endoscopique, les animaux sont mis à mort par décapitation. Différents segments du tube digestif ont ensuite été prélevés : duodénum, jéjunum, iléon, côlon (**Figure 37**) ainsi que la graisse mésentérique, le foie et le sang afin d'en extraire le plasma. Les fragments intestinaux ont été ouverts de manière longitudinale puis lavés au PBS 1X (2,7 mM KCl, 140 mM NaCl, 6,8 mM Na₂HPO₄.2H₂O, 1,5 mM KH₂PO₄, pH 7,4). Les tissus destinés à l'extraction protéique ont été immédiatement congelés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C.

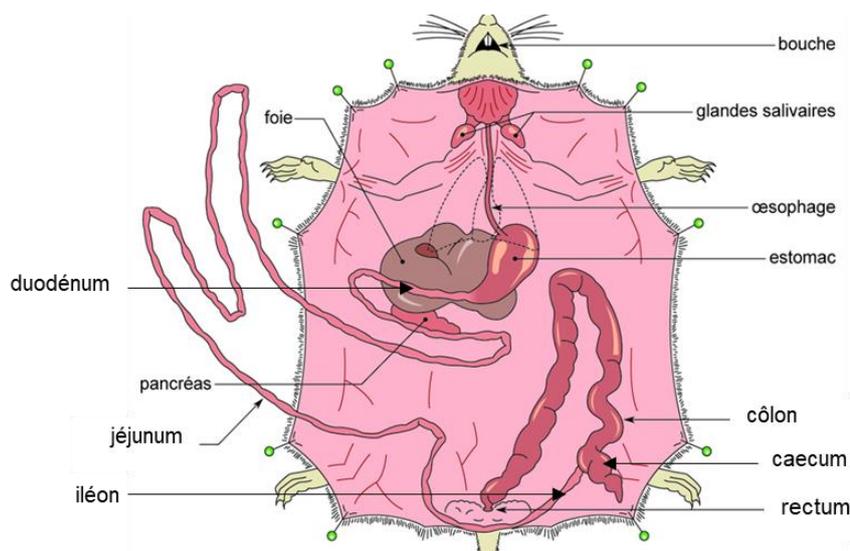


Figure 37 : Schéma anatomique de la souris au cours de la dissection. Quatre fragments de l'intestin ainsi que le foie, la rate et le tissu adipeux mésentérique ont été prélevés.

Les tissus destinés à l'histochimie (un fragment de côlon et un fragment de jéjunum) sont fixés dans du paraformaldéhyde 4 % durant une nuit à 4°C, et un morceau est conservé dans l'éthanol dans l'attente d'être inclus en paraffine et envoyé en anatomopathologie au CHU pour établir un score histologique. L'autre partie est déshydratée dans une solution de sucrose avant d'être inclus dans du TissueTEK pour coupes congelées (Richar-Allan Scientific™ Neg-50™ ThermoFischer Scientific) puis conservées à -80°C avant de réaliser des coupes au cryostat pour une analyse en immunofluorescence ultérieure.

3.2. Analyse par Western blot

3.2.1. Broyage et extraction des protéines

Le travail a été effectué sur glace tout au long du protocole afin de limiter la dégradation des protéines. Les échantillons ont été broyés à l'aide d'un mortier et d'un pilon dans l'azote liquide afin de ne pas décongeler l'échantillon biologique. Environ 50 mg de broyat sont prélevés et re-suspendus dans 550 µL de tampon RIPA froid (50 mM Tris-HCl pH 8, 150 mM NaCl, 0,5 % deoxycholate de sodium, 0,1 % SDS, 1 % NP-40, PMSF Sigma® 10µL/mL, orthovanadate Na₃VO₄ 10 µL/mL et PIC Photostop Roche®) ou de tampon Gerdy froid (5 mM Tris-HCl pH 7,6, 2mM EDTA, 0,5 % SDS).

Pour les échantillons extraits au RIPA : après une incubation de 10 minutes sur glace, les échantillons ont été homogénéisés en réalisant plusieurs aspirations et refoulements à l'aide d'une seringue et d'une aiguille 23G (0,6x16mm). Puis, trois cycles de congélation (azote liquide) et décongélation (bain marie 37°C) ont été effectués pour une lyse complète des cellules avant une centrifugation à 18 000 xG pendant 30 minutes à 4°C. Le surnageant a été récupéré et stocké à - 80°C. Pour les échantillons extraits au Gerdy, les échantillons ont été homogénéisés à température ambiante par aspirations-refoulement puis passés au sonicateur 3 fois 10 secondes.

Sur le protocole MICICAL 2018 nous avons optimisé le broyage afin de limiter la perte et la décongélation des échantillons : 25 mg de tissu congelé sont placés dans des tubes de lyse contenant des microbilles de céramique (Precellys Lysing Kit Soft Tissue homogenizing CK14 Bertin Technologies®, France) ainsi que 275 µl de tampon RIPA. Les tubes sont ensuite placés dans l'homogénéisateur (Precellys Bertin Technologies®) préalablement refroidi, durant deux cycles de 10 secondes à 4000 xG. Les protéines de chaque échantillon sont ensuite dosées au BCA (kit BCAssay Protein quantification kit Interchim®).

3.2.2. Électrophorèse et immunodetection

Chaque échantillon contenant 20 µg de protéines totales est chauffé 5 min à 100°C dans un tampon de dénaturation Laemmli 2X (Bio-Rad, USA, + 5 % β-Mercaptoéthanol), avant d'être déposé dans un gel d'acrylamide dont le pourcentage est adapté à la taille de la protéine d'intérêt (**Tableau XV**). Après migration (Tampon 25 mM Tris, 0.192 M Glycine M, 0.1 % SDS ; pH = 8.3), les protéines sont transférées sur membranes PVDF ou Nitrocellulose de 0,45 µm (Amersham Protran, GE Healthcare Life Sciences®) selon la protéine recherchée, par électrotransfert liquide (tampon Bjerrum Schafer-Nielsen : 48 mM Tris, 39 mM Glycine, 0.0375 % SDS ; pH = 9.2, 20% éthanol).

La membrane est ensuite saturée avec une solution de lait ou BSA 5% dilué dans du tampon Tris-Buffered Saline-Tween 20 (1X TBST : 20 mM Tris, 500 mM NaCl, 0.05 % Tween 20 ; pH = 7.4) sous agitation. Les différentes concentrations d'anticorps et leur référence sont résumées dans le **Tableau XV**. Les protéines sont ensuite détectées grâce au kit ECL PLUS (Bio-Rad Clarity™ Western ECL) et le signal est mesuré grâce à un système d'acquisition d'image Fusion Fx7 Thermofischer Scientific®.

Enfin, une analyse densitométrique à l'aide du logiciel Icy v1.8.6.0 qui est une évolution d'ImageJ (Image Processing and Analysis Java NIH Image) a permis d'étudier de façon semi-quantitative les protéines dans chaque lysat protéique. La quantité de chaque protéine d'intérêt a été normalisée par rapport à la quantité de β-actine utilisée comme protéine de référence.

Tableau XV : Anticorps et conditions utilisées en Western Blot. PM : poids moléculaire en kilo Dalton. PVDF : Polyvinylidene Fluoride. BSA : Bovine Serum Albumin.

	Protéines		Anticorps			Conditions expérimentales
	Nom	PM (kDa)	Référence fournisseur	Dilution utilisée	Type de membrane	Solution de blocage et dilution
Anticorps primaires	IL-1 β	35	Abcam Ab9722	1/1000	Nitrocellulose 0,45 μ m	Lait 5 %
	TNF α	25	Cell Signaling 3707s	1/700	Nitrocellulose 0,45 μ m	BSA 5 %
	IL-6	23	Abcam Ab208113	1/1000	Nitrocellulose 0,45 μ m	BSA 5 %
	IL-10	20	Abcam Ab9969	1/1000	PVDF 0,45 μ m	Lait 5 %
	TGF β	45	Abcam abb66043	1/1000	PVDF 0,45 μ m	BSA 5 %
	ATG5	55	Cell Signaling 12994s	1/1000	PVDF 0,45 μ m	BSA 5 %
	LC3 I/II	14-16	Cell Signaling 12741s	1/1000	PVDF 0,45 μ m	BSA 5 %
	ATG13	45	Cell Signaling	1/1500	PVDF 0,45 μ m	BSA 5 %
	HSP90	90	Cell Signaling 4877	1/700	PVDF 0,45 μ m	BSA 5 %
	ULK1	130	Cell Signaling 8054s	1/500	PVDF 0,45 μ m	BSA 5 %
	ATG16L1	68	Cell Signaling 8089s	1/1000	PVDF 0,45 μ m	BSA 5 %
	HSPA8	70-72	Cell Signaling 8444s	1/700	Nitrocellulose 0,45 μ m	Lait 5 %
	mTOR	240	Cell Signaling 2983s	1/1500	Nitrocellulose 0,45 μ m	Lait 5 %
	Anticorps couplé à la HRP	β -Actine	42	Abcam Ab185067	1/10000	Nitrocellulose ou PVDF
Anticorps Secondaire	Anti- lapin IgG couplé HRP	/	Jackson Immuno Research	1/1000	Nitrocellulose ou PVDF	BSA ou lait 5 %

3.3. Mesure des marqueurs biochimiques sanguins des animaux

Après la mise mort, le sang de chaque animal a été prélevé dans des tubes héparinés (BD Vacutainer® PST™). Après centrifugation des prélèvements pendant 10 minutes à 3000 xg , le plasma a été récupéré et conservé à $-80^{\circ}C$ jusqu'à analyse par un laboratoire de biologie médicale (appareil Cobas® 8000 Roche). Les mesures de la glycémie, de la lipémie, de la triglycéridémie, de la cholestérolémie, ainsi que de l'albuminémie, ont été comparées aux paramètres de référence biochimiques sanguins des souris C57BL/6 fournis par le laboratoire Janvier Labs (https://www.janvier-labs.com/fiche_produit/souris-c57bl-6jrj/).

Concernant le protocole MICICAL 2018, le sang a été prélevé sous anesthésie dans la veine sous-mandibulaire dans des tubes héparinés. Le sang a été ensuite centrifugé et le plasma récupéré puis congelé à $-80^{\circ}C$. Les glycémies ont été mesurées par méthode enzymatique à la glucose-oxydase à l'aide du Kit Glucose GOD-PAP (Biolabo®) sur une plaque 96 puits : 2 μL de plasma sont incubés avec 200 μL de réactif durant 20 minutes à température ambiante. Une gamme étalon est réalisée en parallèle et permet de déterminer la concentration en glucose après lecture de l'absorbance à 500 nm.

3.4. Étude histologique

Après fixation des échantillons de côlons dans la paraffine, des coupes ont été réalisées au microtome. Les lames ont été colorées à l'hématoxyline-éosine-safran (HES) avant lecture « en aveugle » par deux anatomopathologistes des CHU de Nancy et Reims. Un score est ensuite établi en s'appuyant sur six paramètres : l'infiltrat des cellules inflammatoires (polynucléés dans la *lamina propria*), abcès cryptiques, absence des mucines, l'intégrité de l'épithélium, l'infiltrat de cellules inflammatoires chroniques (cellules rondes dans la *lamina propria*) et irrégularités architecturales des cryptes. Chaque paramètre est évalué sur une échelle de 4 points (Morson, Shepherd et Dawson, 2013 ; Riley *et al.*, 1991)

3.5. Étude du microbiote intestinal

L'ADN a été extrait pour chaque échantillon fécal de chaque souris à des temps différents (J0, J5 et J7 ou J9 du traitement au DSS). Puis, une analyse par séquençage MiSeq, du gène de l'ARNr 16S a été amplifié avec la paire d'amorces S-D-Bact (plateforme Genoscreen, méthodologie Métabiote® Lille). L'analyse bio-informatique est ensuite réalisée par l'Institut Pasteur de Lille, équipe du Pr Chamillard Unité INSERM 1019 & Unité CNRS 8204.

3.6. Analyses statistiques

Pour chaque critère étudié, les résultats sont présentés sous forme graphique présentant la moyenne \pm erreur standard-type. Les logiciels Rstudio version 1.0.136 (utilisant R) et Excel 2016 ont été utilisés pour calculer les valeurs p et valider statistiquement par un test t de Student les différences observées entre chaque régime alimentaire et le régime de référence ou les effets du traitement au DSS.

4. Résultats

4.1. Protocole MICICAL 2017 : Régimes hypercaloriques

Les analyses sur les femelles ne seront pas présentées ici et feront l'objet d'une étude ultérieure.

4.1.1. Suivi de la consommation alimentaire

Au cours des 8 semaines de régime normal et hypercalorique, la consommation alimentaire des animaux, la prise de poids et la morphologie des animaux ainsi que la consistance des selles, ont été suivies pour décrire leur comportement vis-à-vis des régimes proposés.

Pour chacun des trois régimes alimentaires, la prise alimentaire a été suivie tout au long des 8 semaines du protocole (**Figure 38**). Avec le **régime témoin**, la consommation moyenne de nourriture est **en accord avec les recommandations nutritionnelles** du fabricant (2 à 4 grammes / jour ; recommandations Safe Diets). La consommation du régime hyperlipidique est apparue légèrement inférieure. En revanche, les souris semblent avoir une très forte appétence pour le régime hyperglucidique, puisque qu'une surconsommation alimentaire est observable après 4 semaines.

4.1.2. Suivi de la prise de poids

L'étude des régimes alimentaires hypercaloriques a été initiée lorsque les souris étaient âgées de 8 à 9 semaines, soit juste après la maturité sexuelle. Au début du protocole, les mâles pesaient 24 g en moyenne. Pour chacun des régimes alimentaires, la prise de poids a été régulière tout au long des 8 semaines du protocole *in vivo* (**Figure 39**). Avec le régime normal, le poids moyen des souris a augmenté de façon similaire aux précédents protocoles réalisés au laboratoire (+ 25 % par rapport au poids initial à 8-9 semaines).

Les régimes **hypercaloriques** ont provoqué **une prise de poids importante** chez les souris par rapport au régime de référence. À la fin du protocole *in vivo*, la prise de poids moyenne des souris nourries avec le régime hyperlipidique a été plus importante (+ 56 %) que chez les souris soumises à un régime hyperglucidique (+ 44 %). Aucune différence réelle entre les 2 types de régimes hypercaloriques n'a été observée chez les mâles (résultats statistiques non montrés).

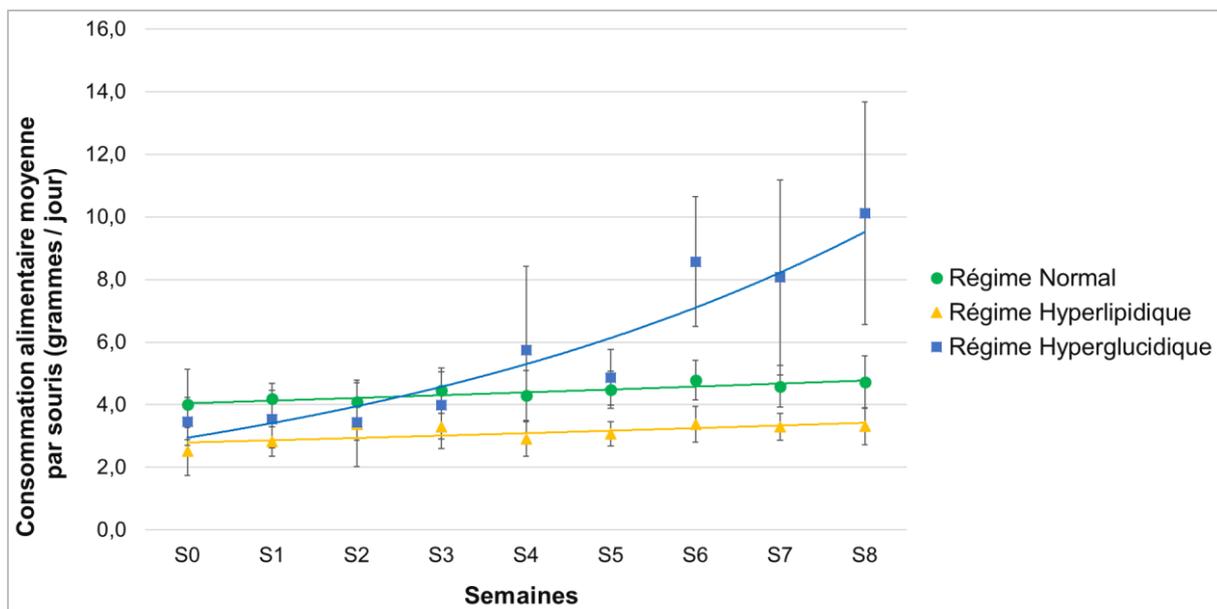


Figure 38 : Suivi de la prise alimentaire. La consommation alimentaire des animaux a été suivie chaque semaine au cours des 8 semaines de régime normocalorique NC (—●—), hyperlipidique HL (—▲—) et hyperglucidique HG (—■—). Les résultats présentés correspondent à la moyenne approximative calculée par jour par souris \pm erreur standard et courbe de tendance ($N = 8$ pour chacun des groupes).

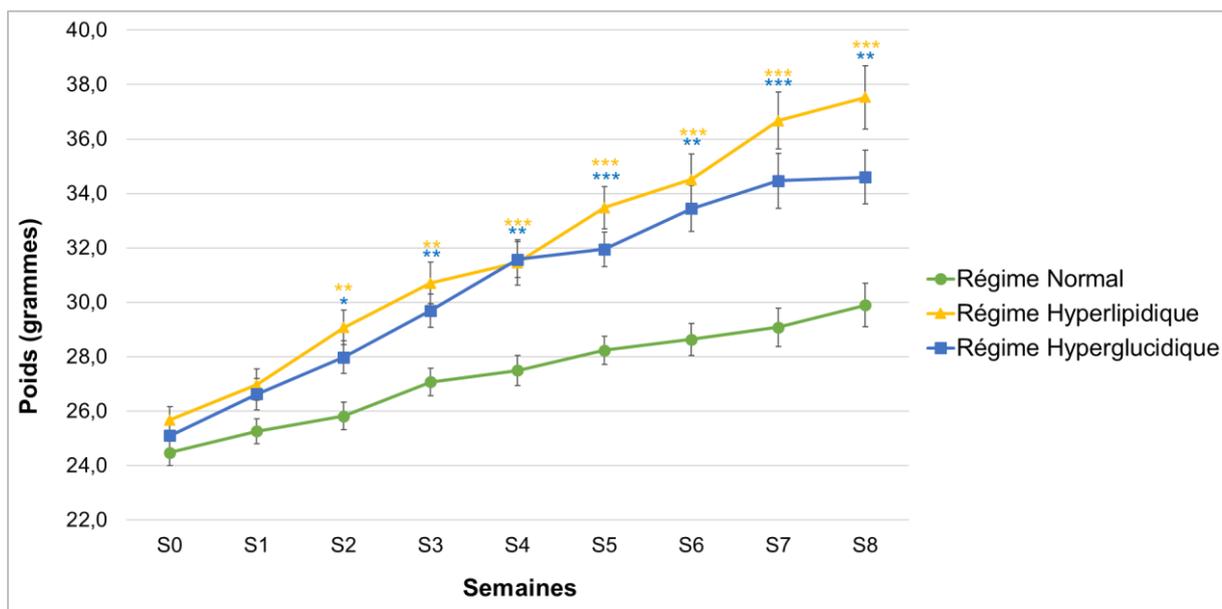


Figure 39 : Étude de la prise de poids. Le poids des animaux a été suivi chaque semaine au cours des 8 semaines de régime normocalorique NC (—●—), hyperlipidique HL (—▲—) et hyperglucidique HG (—■—). Les résultats présentés correspondent au poids moyen \pm erreur standard ($N = 8$ pour chacun des groupes). La significativité des différences observées entre le régime étudié et le régime de référence a été établie par un test t de Student (HG : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – HL : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Au niveau morphologique, les animaux alimentés avec les régimes hypercaloriques semblaient plus gros que les souris nourries avec le régime témoin (*Figure 40*) mais ces observations seraient à confirmer en mesurant par absorptiométrie à rayons X (DEXA) de l'accumulation graisse abdominale (Gargiulo *et al.*, 2014).

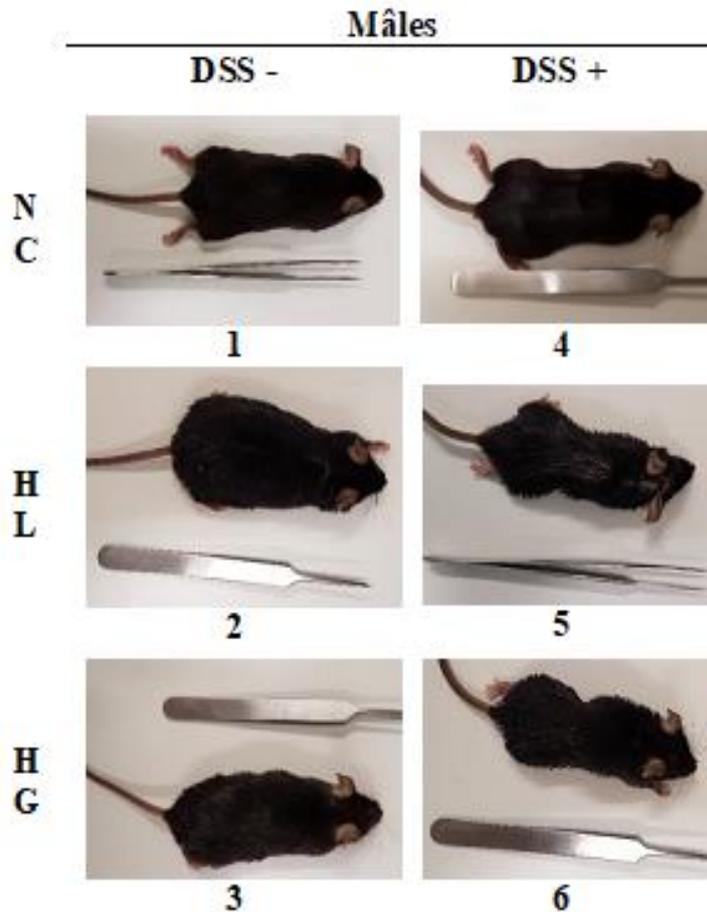


Figure 40 : Visualisation des animaux au terme du protocole in vivo. Les souris mâles âgées de 18 semaines après 9 semaines de régime normocalorique (NC), hyperlipidique (HL) et hyperglucidique (HG) avec (DSS +) ou sans traitement colitogène (DSS -).

4.1.3. Étude des selles

Tout au long du protocole les selles ont été examinées. Nous avons pu remarquer une coloration verdâtre des selles des souris après 5 semaines de consommation du régime hyperglucidique. De même, chez les souris soumises à un régime hyperlipidique, nous avons pu observer des selles de plus en plus petites et foncées durant les dernières semaines de régime. Il nous a également semblé que les animaux soumis à un régime hyperlipidique avaient des selles plus nombreuses. La consistance des selles n'a pas été modifiée massivement en fonction des régimes alimentaires. En revanche, le traitement colitogène a entraîné des modifications importantes (diarrhées) selon les régimes qui ont servi à établir le score DAI.

4.1.4. Analyse de marqueurs biochimique sanguins

Un dosage des marqueurs biologiques sanguins a permis de définir les conséquences métaboliques des régimes alimentaires hypercaloriques (**Figure 41**). Ces analyses n'ont pu être effectuées que chez les animaux non traités au DSS car il a été impossible de prélever suffisamment de sang chez les animaux souffrant de colite chimio-induite.

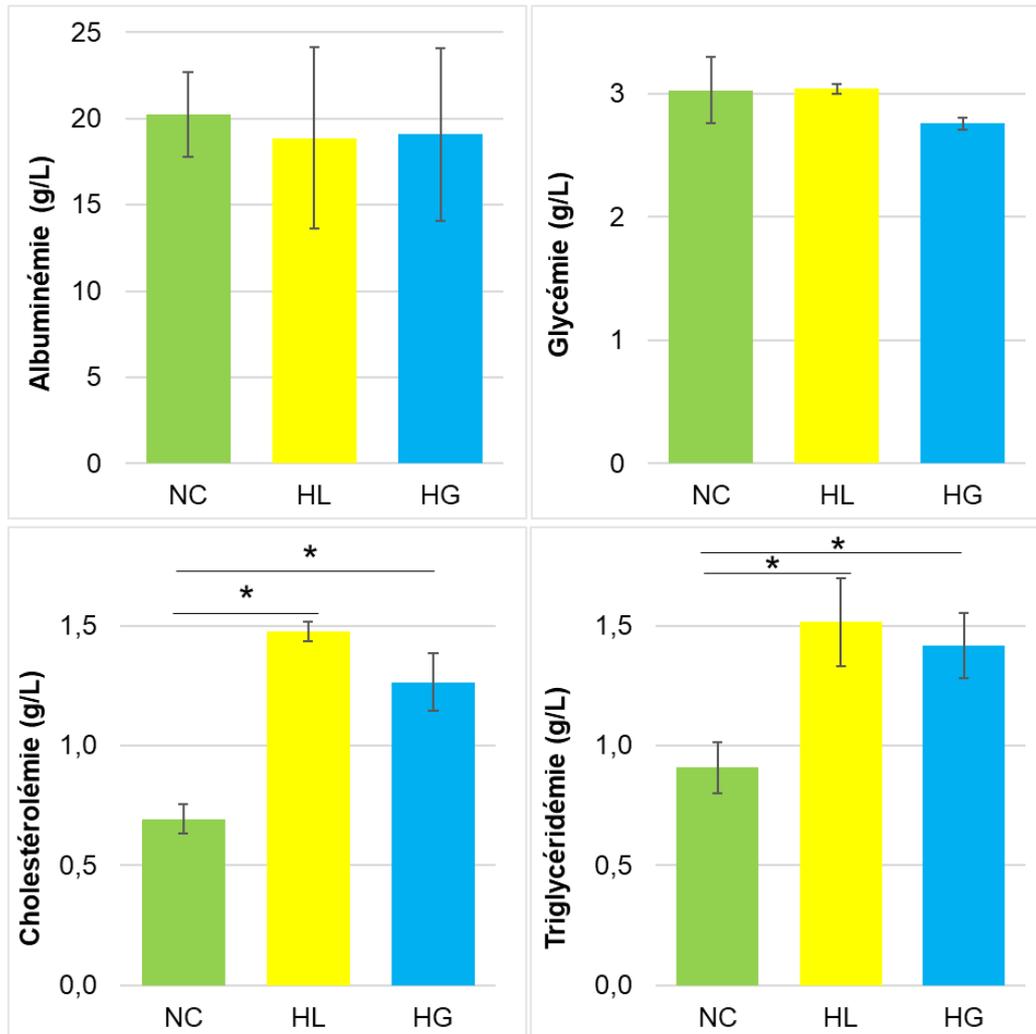


Figure 41 : Étude des analyses sanguines des souris. Les résultats en fonction des régimes alimentaires normocalorique (NC) (■), hyperlipidique (HL) (■), et hyperglucidique (HG) (■) correspondent aux moyennes calculées \pm erreur standard pour chacun des groupes ($N = 4$). La significativité des différences observées a été établie par un test *t* de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

La consommation des régimes hyperglucidique et hyperlipidique n'a pas entraîné de modification de l'albuminémie (**Figure 41**) ni de la glycémie qui est restée conforme à la normale des souris ($3,3 \pm 0,7$ g/L à jeun ; Données Janvier Labs 2017). En revanche, la consommation des deux types de régimes hypercaloriques a provoqué une hausse significative des lipides totaux, du cholestérol total (normale $1,1 \pm 0,1$ g/L), et des triglycérides (normale $2,1 \pm 0,5$ g/L) dans le sang, indiquant que les régimes ont effectivement eu un impact métabolique dans le sens d'une prise de masse grasse.

4.1.5. Étude des signes cliniques

Pour chaque régime alimentaire étudié, 4 animaux ont été traités avec le DSS pour induire une colite et 4 animaux n'ont pas reçu le traitement. Les signes cliniques d'inflammation (perte de poids, aspects des selles et saignement) ont été analysés afin d'établir quotidiennement le score DAI permettant d'évaluer la sévérité de la colite chimio-induite (**Figure 42**).

Comme prévu, aucune manifestation caractéristique d'inflammation n'a été observée en l'absence de traitement colitogène. Le DSS a provoqué une perte de poids chez les animaux nourris avec le régime normocalorique à partir du 6^{ème} jour (**Figure 42**). La sévérité de la colite a augmenté significativement à J7 : les animaux traités présentaient une perte de poids importante, des selles molles voire liquides et certains présentaient des rectorragies.

De façon remarquable, les manifestations de la colite sont apparues plus tôt (J3-J5) et ont été plus graves (score dépassant 3/4 dès J7) chez les animaux ayant consommé les régimes hypercaloriques que chez les animaux ayant consommé le régime de référence (**Figure 42**). La consistance des selles a été modifiée très rapidement jusqu'à des diarrhées liquides dès le 4^{ème} jour (alors qu'elles sont apparues au 7^{ème} jour avec le régime de référence).

La consommation du régime hyperglucidique a provoqué une apparition plus précoce et une aggravation de la colite par rapport au régime normocalorique et au régime hyperlipidique. L'impact délétère marqué des régimes hypercaloriques sur l'effet colitogène est renforcé par l'observation faite lors de l'inspection journalière des souris du comportement adopté par celles-ci : posture courbée, particulièrement creusées, et montrant des signes d'asthénie et d'anorexie. Elles présentaient des diarrhées sanglantes ainsi que des rectorragies importantes plus nettes que pour les autres groupes lors des derniers jours de traitement ce qui a abouti à abréger le protocole pour deux animaux.

⇒ La consommation des régimes hypercaloriques aggrave l'effet colitogène du DSS de façon significative.

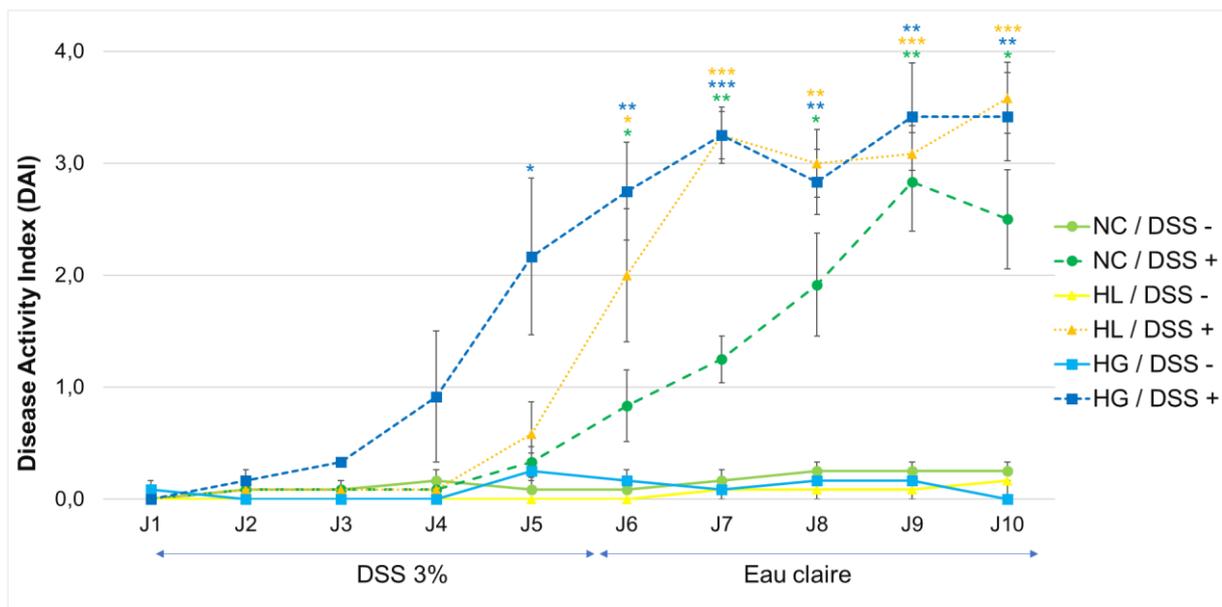


Figure 42 : Étude des signes cliniques de la colite expérimentale. La perte de poids, la consistance des selles et la présence de sang ont été suivies quotidiennement pour chaque souris en fonction des régimes normocalorique NC (—●—), hyperlipidique HL (—▲—) et hyperglucidique HG (—■—) et en présence ou non du traitement colitogène (en pointillés). Ces critères permettent de calculer le score DAI. Certains animaux ont dû être mis à mort plus précocement, pour ceux-ci le dernier score connu a été gardé les jours suivants. Les résultats présentés correspondent aux moyennes calculées \pm erreur standard pour chaque groupe de souris ($N = 4$). La significativité des différences observées entre les groupes traités avec le DSS et les groupes non traités a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.1.6. Étude du score endoscopique

Un examen coloscopique a été réalisé à J10 pour chaque animal avant la mise à mort afin de scorer la sévérité de l'inflammation et confirmer le score clinique DAI (*Figure 43*).

Contrairement à ce que pouvait laisser penser le score clinique, l'étude endoscopique révèle des lésions au niveau de la muqueuse intestinale des animaux ayant consommé les régimes hypercaloriques et **pourtant non soumis au traitement colitogène** (*Figure 43 A3 et A5*). En effet, les images endoscopiques ont révélé de très nombreux saignements diffus dans la lumière intestinale mais également des ulcérations creusantes (*Figure 43 A3 et A5*).

L'examen coloscopique montre que les lésions sont d'autant plus prononcées et atypiques chez les souris traitées avec le DSS (*Figure 43 A2, A4 et A6*) lorsqu'elles ont consommé ces régimes hypercaloriques et le score endoscopique est significativement augmenté quel que soit le régime alimentaire consommé (*Figure 43 B*). Ainsi, les images endoscopiques montraient de très nombreux dépôts de fibrine (*Figure 43 A4 et A6*), témoignant de la cicatrisation de lésions dans la muqueuse. De plus, des ulcérations particulièrement profondes ainsi que de nombreux saignements ont été observés.

Cela se traduit par une hausse significative du score endoscopique pour les deux régimes hypercaloriques par rapport au score observé avec le régime normocalorique (qui est conforme à ce qui est observé en général dans ces conditions) (*Figure 43*).

- ⇒ Des lésions endoscopiques sont visibles sans traitement colitogène chez les animaux ayant consommé les régimes hypercaloriques. Le score endoscopique confirme l'aggravation de la colite chez les animaux mâles ayant consommé les régimes hypercaloriques.

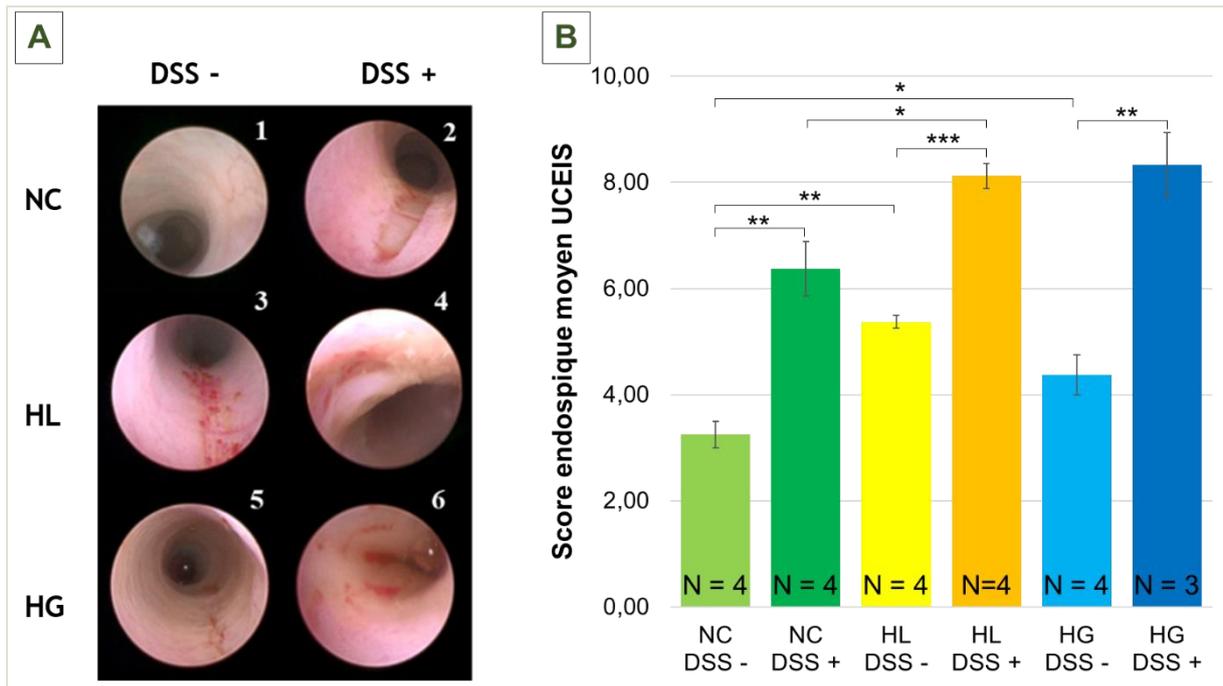


Figure 43 : Visualisation des images endoscopiques (A) et étude des scores endoscopiques de la colite chimio-induite (B). Le score établi s'appuie sur la vascularisation de la paroi, les saignements et la présence d'érosions ou d'ulcérations de la muqueuse. Il a été établi par deux expérimentateurs en double aveugle pour chaque souris en fonction des régimes alimentaires normocalorique (NC) non traitée au DSS (■), NC traitée au DSS 3 % (■), hyperlipidique (HL) non traitée au DSS (■), HL traitée au DSS (■), hyperglucidique (HG) non traitée au DSS (■) et HG traitée au DSS (■). Les résultats présentés correspondent aux moyennes calculées \pm erreur standard pour chacun des groupes. La significativité des différences observées entre les groupes a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

4.1.7. Analyse par Western-Blot dans la muqueuse colique

- **Étude des marqueurs de l'inflammation**

L'expression de marqueurs de l'inflammation a été étudiée dans la muqueuse colique de toutes les souris mâles incluses dans le protocole *in vivo* afin de valider la mise en place du mécanisme inflammatoire au niveau moléculaire.

En **l'absence de traitement colitogène**, aucune modification de la quantité de ces deux marqueurs n'a été observée avec les régimes hypercaloriques (résultats non montrés).

Chez les animaux ayant consommé le régime hyperlipidique, **l'effet du DSS sur l'expression de TNF- α est augmenté d'un facteur 2** bien que ce ne soit pas significatif (**Figure 44 C**). Cet effet est plus important que celui observé chez les animaux ayant reçu le régime normal. Curieusement, chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique, nous observons une tendance à la diminution de la quantité de TNF- α dans le côlon après traitement au DSS par rapport au souris non traitées.

La quantification de l'IL-1 β dans la muqueuse colique des animaux traités avec le DSS a montré une augmentation par rapport à celles non traitées (**Figure 44 B**). La quantité de cette cytokine ne semble en revanche pas affectée par la consommation des régimes hypercaloriques.

Nous avons également étudié deux marqueurs anti-inflammatoires. L'expression de TGF- β ne semble pas modifiée dans aucun des groupes (**Figure 44 F**). En revanche, la quantité d'IL-10 est nettement diminuée par le DSS et d'autant plus chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique (**Figure 44 E**).

⇒ Le traitement colitogène semble augmenter mais de manière non significative l'expression de protéines pro-inflammatoires telles que TNF- α et IL-1 β et diminue celle d'IL-10 anti-inflammatoire.

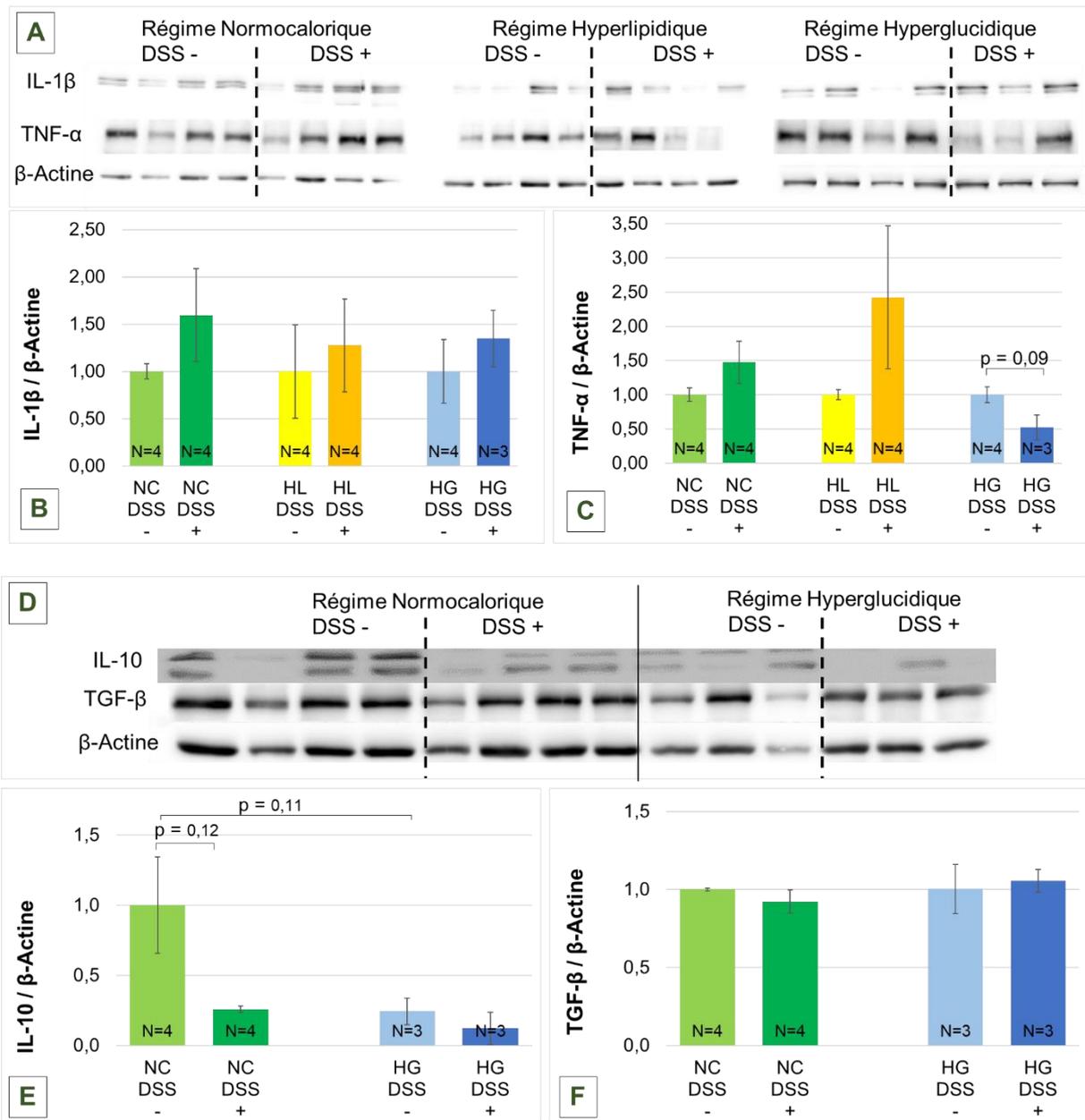


Figure 44 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'inflammation dans la muqueuse colique des souris. La quantité des protéines d'intérêt a été rapportée à celle de la β -actine utilisée comme protéine de référence. Les résultats concernent les mâles traités ou non au DSS ayant été soumis au régime normocalorique (NC), hyperlipidique (HL), et hyperglucidique (HG). Les résultats présentés correspondent aux moyennes des mesures densitométriques normalisées \pm erreur standard (N = 4 pour chacun des groupes). Pour chaque régime, la significativité des différences observées entre les animaux traités avec le DSS et les animaux non traités a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

- **Étude de l'expression des acteurs de l'autophagie**

L'expression de marqueurs de la macro-autophagie (ATG13, ATG5, LC3 II / LC3 I), de la CMA (HSPA8) et HSP 90 (impliqué dans les 2 voies considérées) a été étudiée dans les côlons de toutes les souris incluses dans le protocole *in vivo* afin de vérifier l'implication du processus autophagique dans la réponse au DSS et l'impact des régimes hypercaloriques sur ce mécanisme cellulaire.

En l'absence de traitement colitogène, aucune variation significative des marqueurs de la macro-autophagie n'a été mise en évidence en fonction des régimes alimentaires. De même, la consommation du régime hyperglucidique ne semble pas provoquer de changement dans l'expression des marqueurs de la CMA. En revanche, la consommation du régime hyperlipidique entraîne une modification de la quantité de HSP90 (- 21 %) et de HSPA8 (+ 42 %) (**Figure 45 B et C**).

Contrairement à nos attentes, nous n'avons pas observé de modification significative de la quantité des marqueurs de l'autophagie pour les animaux ayant consommés le régime normocalorique lorsqu'ils ont été traités avec le DSS (**Figure 45**). Le régime hyperlipidique ne modifie pas sensiblement l'effet du DSS observé avec le régime de référence sauf au niveau de l'expression du marqueur ATG13 (**Figure 45 E**). En revanche, la quantité de HSP90, ATG5 et ATG13 est apparue comme étant diminuée chez les animaux traités avec le DSS qui ont consommé le régime hyperglucidique par rapport aux animaux sains (**Figure 45 B, E, F**).

En raison d'un problème d'anticorps, les protéines ATG13 et HSP90 n'ont pas pu être répliqués. En revanche concernant ATG5, HSPA8 et LC3 nous obtenons des résultats discordants : tout d'abord on observe une augmentation de la quantité d'ATG5 chez les animaux ayant consommé le régime normal et traités au DSS (**Figure 45 L**) que nous n'avons pas observé précédemment et nous ne retrouvons pas la diminution observée chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique. Concernant HSPA8 et LC3 (**Figure 45 J et K**), comme précédemment nous n'avons pas observé de modification significative. Deux autres marqueurs de l'autophagie ont été étudiés. La consommation des régimes ne semble pas modifier l'expression d'ULK1 (**Figure 45 I**), par contre nous observons une diminution d'ATG16L1 chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique et traités au DSS (**Figure 45 H**).

⇒ Le mécanisme autophagique est perturbé par la consommation des régimes hypercaloriques, et d'avantage encore après traitement par le DSS. Il semble que l'initiation et l'élongation de la macro-autophagie soit diminuée. Concernant l'autophagie médiée par les protéines chaperonnes, la suite des analyses devrait confirmer son rôle.

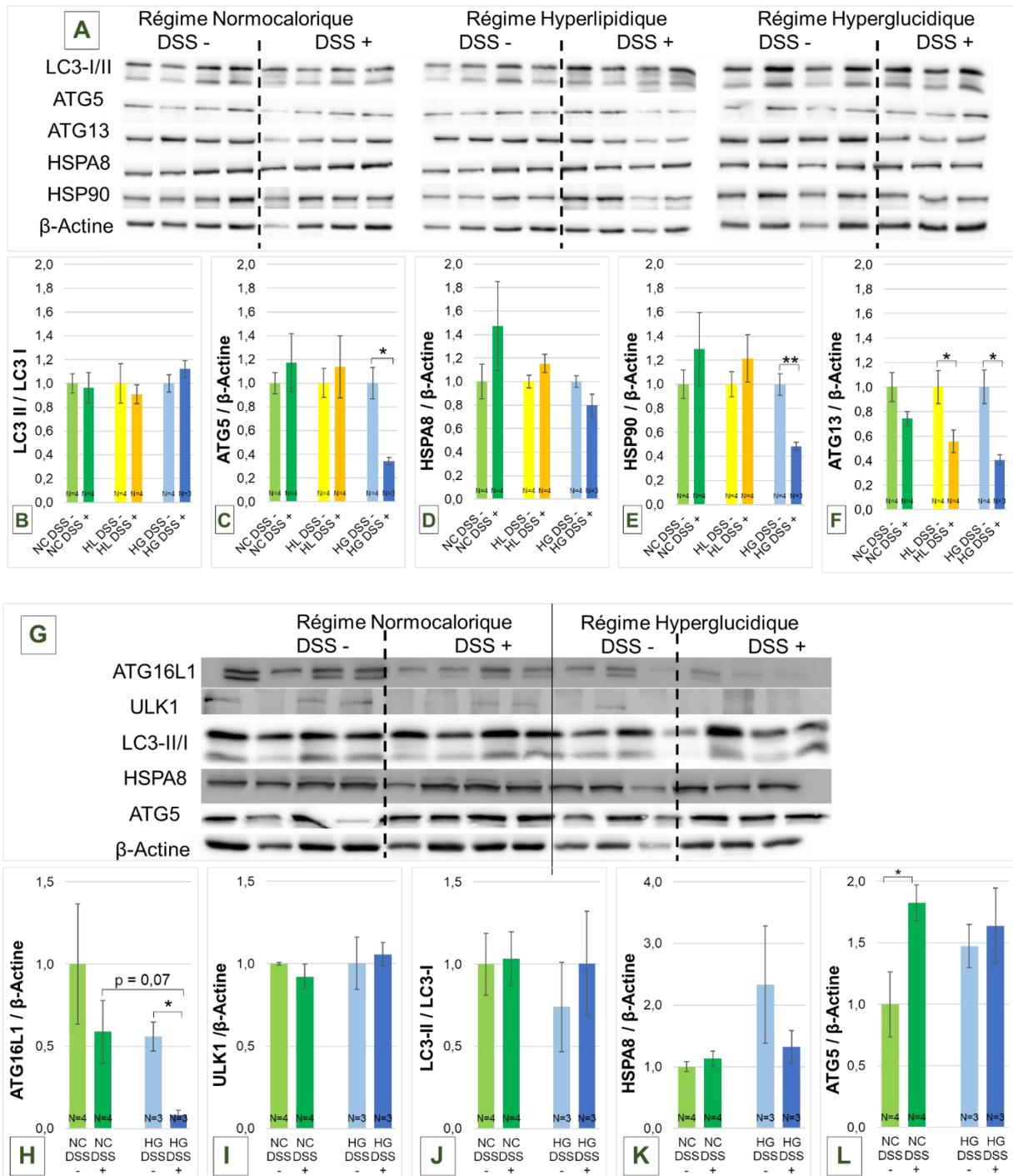


Figure 45 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'autophagie dans la muqueuse colique des souris. La quantité des protéines d'intérêt a été rapportée à celle de la β -actine utilisée comme protéine de référence. Les résultats concernent les mâles traités ou non au DSS ayant été soumis au régime normocalorique (NC), hyperlipidique (HL), et hyperglucidique (HG). Les résultats présentés correspondent aux moyennes des mesures densitométriques normalisées \pm erreur standard ($N = 4$ pour chacun des groupes). Aucune différence n'a été observée sans DSS (résultats non montrés). Pour chaque régime, la significativité des différences observées entre les animaux traités avec le DSS et les animaux non traités a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.1.8. Étude du microbiote fécal

Les résultats sont obtenus sur les selles prélevées chez les mâles dans chaque groupe de régime à J0, J5 et J7-9 du traitement colitogène (certains animaux n'avaient plus de selles en fin de protocole c'est pourquoi le dernier prélèvement a été analysé allant de J7 à J9). Ces selles ont été prélevées chez l'ensemble des animaux du protocole, ayant reçu ou non le traitement colitogène.

- **Alpha-diversité**

L' α -diversité explore la **diversité taxonomique des communautés bactériennes** de chaque animal. Sur la **Figure 46**, différents indices sont utilisés : le nombre de **taxa**, l'indice de **Chao** (qui estime la diversité de l'abondance dans chaque échantillon), de **Shannon** (qui mesure la diversité spécifique) ou de **Simpsons** (qui quantifie la biodiversité par échantillon).

Chez les souris non traitées au DSS (**Figure 46 A**), on observe une nette différence entre les animaux ayant consommé le régime normal et ceux ayant consommé les régimes hypercaloriques. Quel que soit l'indice utilisé, il y a une **diminution de la diversité microbienne** liée à la consommation des régimes hypercalorique.

Conformément à la littérature, le **traitement DSS (Figure 46 B) provoque une baisse** de la diversité microbienne chez les animaux ayant consommé le régime normal. Chez ceux ayant consommé les régimes hypercaloriques, la diversité est massivement réduite dès J5 pour se stabiliser jusqu'à J7.

- **Beta-diversité**

La β -diversité est une analyse en composante principale (PCA) qui explore **les différences de composition entre les microbiotes** de quatre échantillons distincts. La composition globale des communautés microbiennes est comparée ici en **tenant compte de l'abondance de chaque espèce bactérienne dans ces communautés**. Deux analyses sont effectuées : **Bray-Curtis** analyse le nombre d'espèces en tenant compte de l'aspect quantitatif et est donc plus influencé par les taxons les plus abondants et **Jaccard** ne prend plus en compte l'aspect quantitatif mais uniquement les données présence/absence et est donc plus influencé par les espèces rares (**Figure 47**).

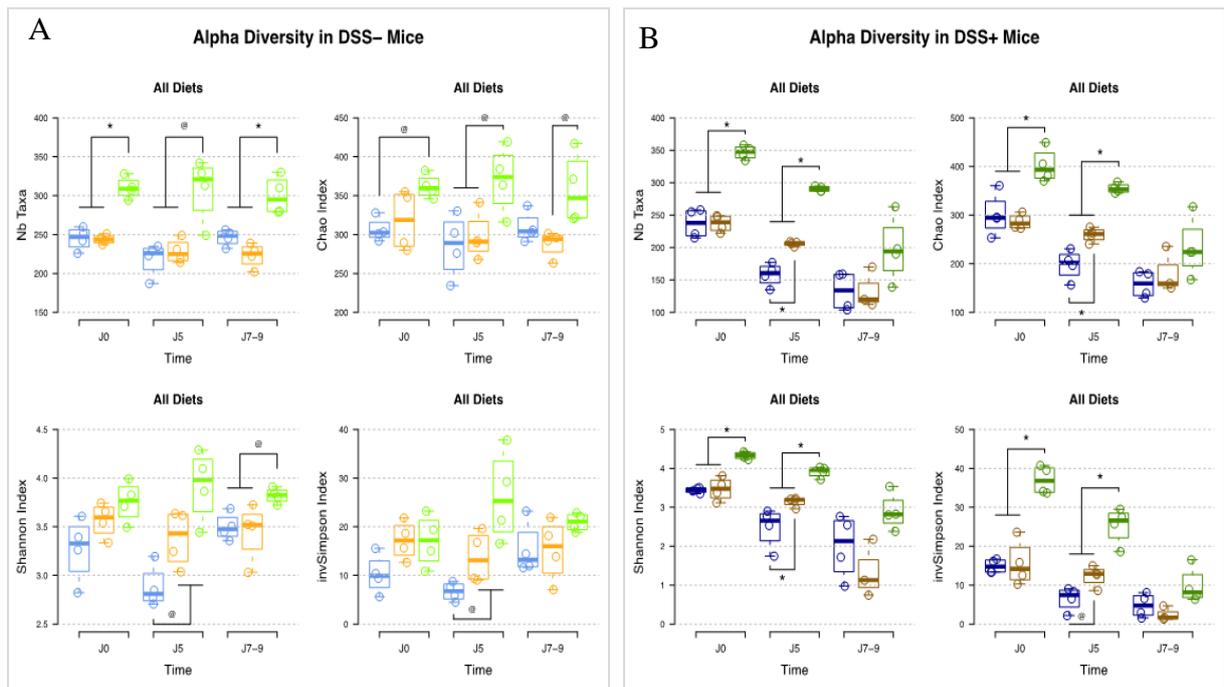


Figure 46 : Étude de l'alpha-diversité du microbiote sur les selles des souris mâles traitées ou non au DSS. Représentation de la diversité taxinomique des microbiotes des souris ayant consommé le régime normocalorique (en vert), le régime hyperglucidique (en bleu) et le régime hyperlipidique (en orange) sans traitement avec le DSS (A) puis au cours du traitement par le DSS (B). Les résultats présentés correspondent à la répartition par groupe (N = 4).

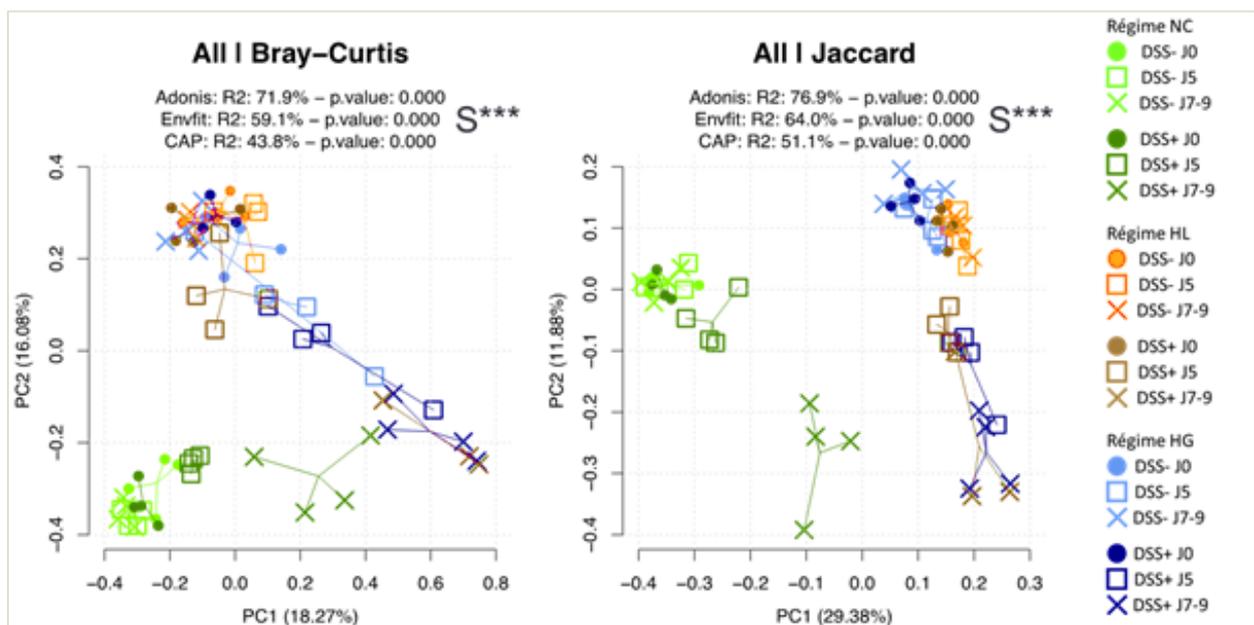


Figure 47 : Effet du temps, du traitement colitogène et des régimes alimentaires sur la Beta-diversité du microbiote des souris mâles. Représentation des différences de composition des microbiotes des souris ayant consommé le régime normocalorique (en vert), le régime hyperlipidique (en orange) le régime hyperglucidique (en bleu). Effet du temps et des régimes alimentaires chez les souris soumises ou non au traitement colitogène.

Avant traitement colitogène on observe des différences liées aux régimes hypercaloriques : à J0, quel que soit l'indice utilisé (*Figure 47*), les deux régimes (hyperglucidique et hyperlipidique) sont similaires entre eux mais se distinguent nettement du régime normocalorique. Puis après 5 jours de traitement, on constate toujours l'effet des régimes alimentaires et chez les animaux traités au DSS, **les deux groupes hypercaloriques se rapprochent d'avantage du régime normal**, ceci indique une baisse de la diversité microbienne ce qui peut s'expliquer par l'appauvrissement global du microbiote au cours du traitement colitogène. La plus grande distance observée pour les régimes hypercaloriques entre J0 et J9 que celle observée pour le régime normal suggère que ces régimes amplifient plus rapidement l'effet appauvrissant du DSS.

Après stratification en fonction de la présence ou non de traitement avec le DSS, on observe tout d'abord qu'**en l'absence de DSS** (*Figure 48*) il y a une **forte influence du régime alimentaire sur la composition du microbiote** : le régime normal se distingue nettement des régimes hypercaloriques qui sont similaires avec l'indice de Bray-Curtis (pas de différences notables entre l'hyperlipidique et l'hyperglucidique).

En revanche après traitement avec le DSS (*Figure 48*) le régime hyperglucidique devient complètement indiscernable de l'hyperlipidique : les échantillons à J7-9 sont quasi-superposés.

D'autres analyses permettront de décrire de façon détaillée la composition du microbiote afin d'identifier les espèces et phyla microbiens particulièrement impactées par le régime et le traitement. Cette analyse sera répliquée sur les selles prélevées lors du protocole 2018 et permettra d'appréhender les effets de la durée du régime hyperglucidique (16 semaines) et du mode de consommation (alternance ou non avec le régime normocalorique) sur la composition de la flore. Un enrichissement en bactéries pathogènes pro-inflammatoires (*Bacteroides*, *Enterobacter*) ou un appauvrissement en bactéries dites « protectrices » (*Lactobacilles*, *Firmicutes*) après consommation du régime hyperglucidique pourrait expliquer les effets délétères de ce régime.

⇒ Le microbiote intestinal est impacté à la fois par le traitement colitogène et les régimes hypercaloriques : la diversité microbienne diminue après consommation de régimes hypercaloriques, et d'avantage encore après traitement colitogène.

All (Diet x Time)

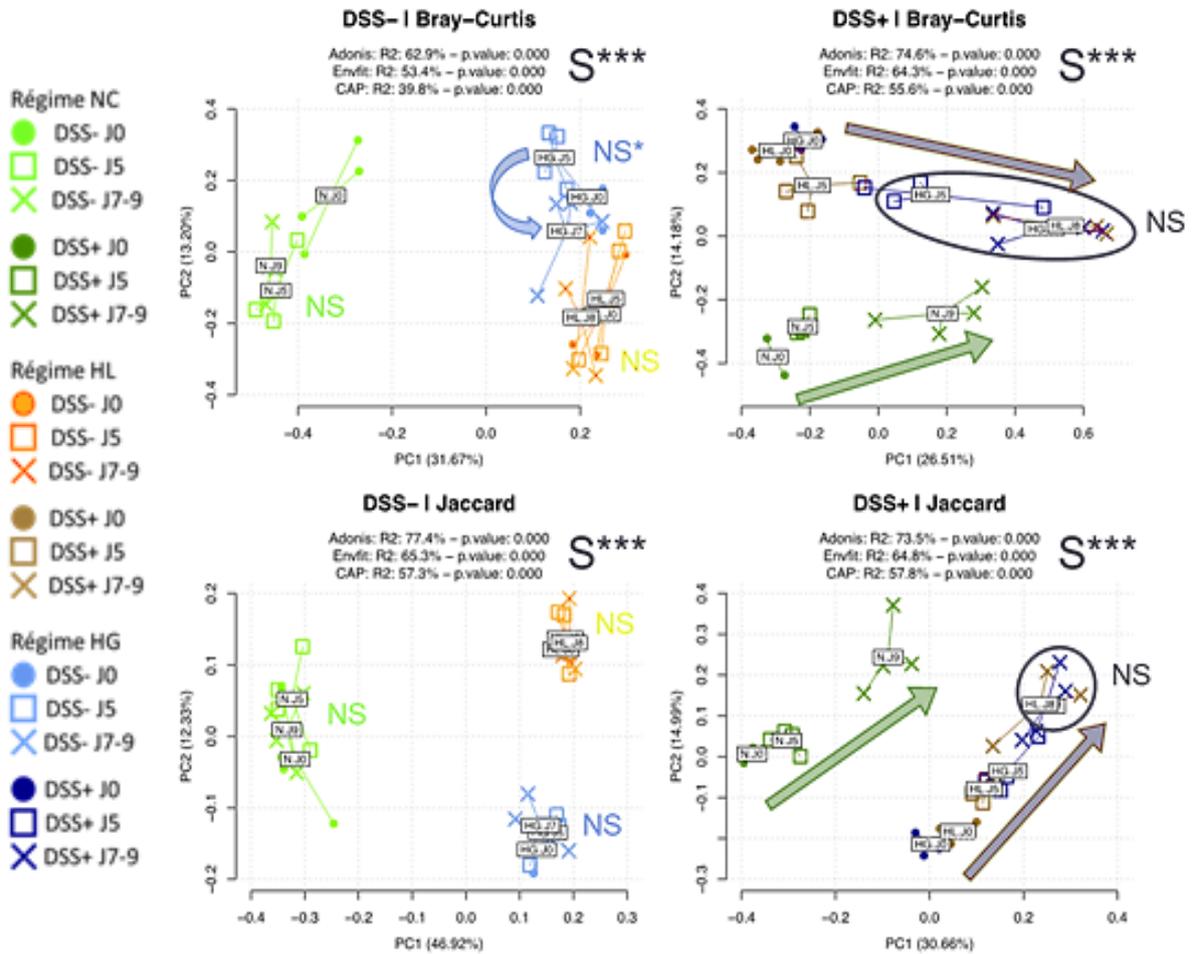


Figure 48 : Effet du temps et des régimes alimentaires sur la β -diversité du microbiote des souris. Représentation des différences de composition des microbiotes des souris ayant consommé le régime normocalorique (en vert), le régime hyperlipidique (en orange) le régime hyperglucidique (en bleu).

4.2. Protocole MICICAL 2018 : durée des régimes et effet "mémoire" du microbiote

4.2.1. Suivi de la prise de poids

La consommation alimentaire quotidienne pour les animaux soumis au régime normal est de 4,1 g/jour en moyenne, ce qui correspond aux recommandations de Safe Diets (2 à 4 g/jour). Comme lors du protocole préliminaire MICICAL 2017, le régime hyperglucidique est beaucoup plus appétant d'où une augmentation de la consommation moyenne (7,5 g/jour). La consommation hydrique a été similaire dans les différents groupes (en moyenne 5 mL/jour/souris). Au début du protocole, les souris étaient âgées de 8 semaines et pesaient en moyenne 28 grammes. Les animaux ont été pesés de façon hebdomadaire tout au long du protocole *in vivo*.

Après 8 semaines de suivi, en cas de régime normocalorique, la prise de poids des animaux a été en moyenne de 11 %. Les animaux nourris avec le régime **hyperglucidique** ont eu une **prise de poids plus importante** (+ 23 % par rapport au poids initial) (**Figure 49 A**). Après les 16 semaines de régimes, le poids des animaux a augmenté de 25 % (par rapport au poids initial) après consommation du régime normocalorique, de + 40 % ($p < 0,05$) après consommation du régime hyperglucidique en continu (**Figure 49 B**).

Concernant les **régimes alternés**, le poids des animaux a augmenté de 34 % après consommation du régime alterné toutes les 8 semaines, et de + 31 % après consommation du régime alterné toutes les 4 semaines. De façon surprenante les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique durant 8 semaines ont un poids qui augmente plus rapidement alors que la prise de poids est moindre lorsqu'ils consomment 4 semaines de régime hyperglucidique puis 4 semaines de régime normal (**Figure 49 B**).

⇒ Comme attendu, la consommation du régime hyperglucidique durant 8 et 16 semaines augmente le poids des animaux. L'alternance de régimes sur 4 semaines ne semble pas avoir d'effet, tandis que sur 8 semaines on se rapproche de l'effet de la consommation du régime hyperglucidique en continu.

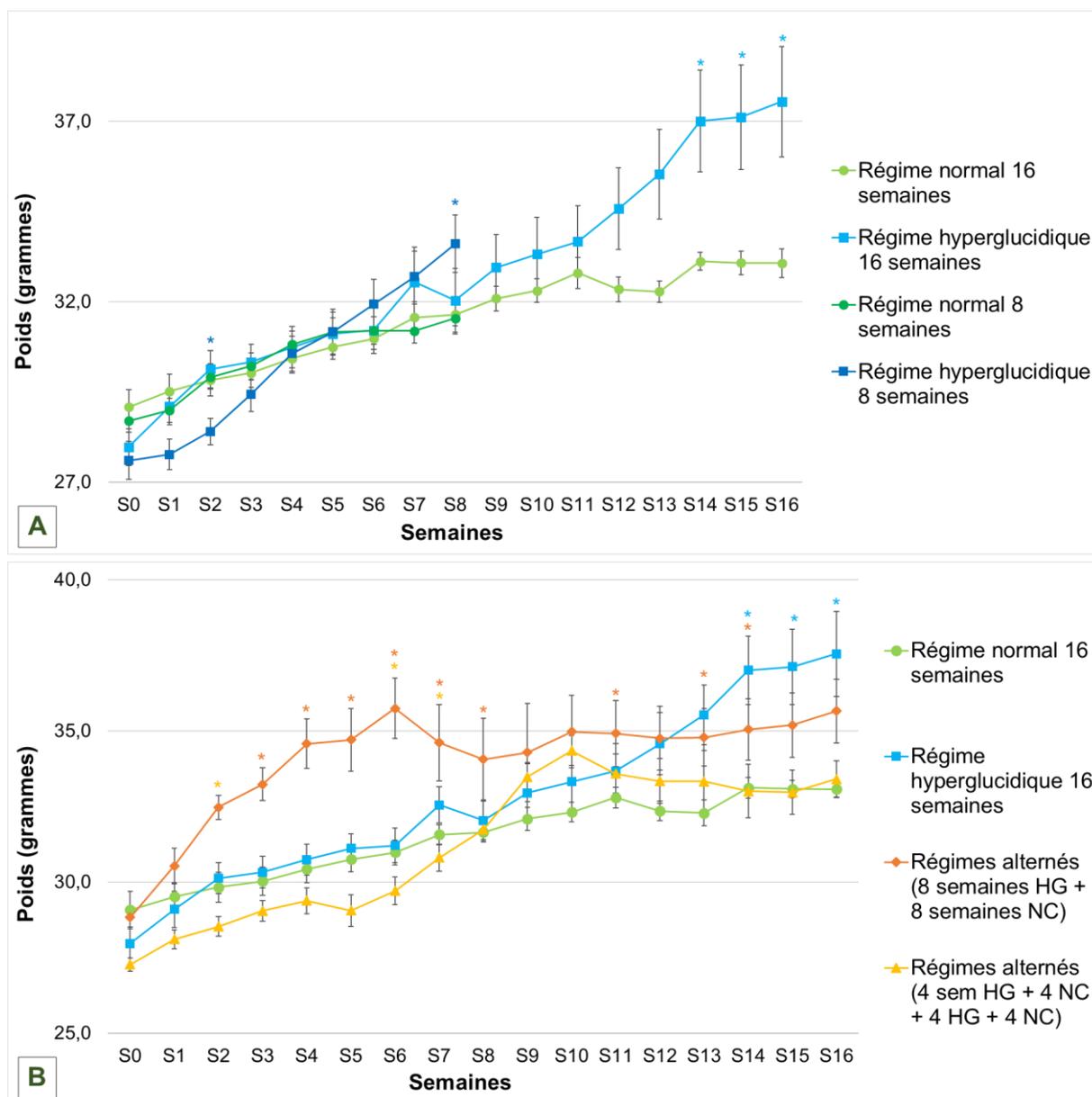


Figure 49 : Suivi de la prise de poids des souris au cours des 16 semaines de régime. Les résultats présentés correspondent au poids moyen +/- erreur standard (N = 10 dans chaque groupe) de régime normocalorique NC 8 (●) et 16 semaines (●), hyperglucidique HG 8 (●) et 16 semaines (●), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 (●), et alterné toutes les 4 semaines RA4 (●). La significativité des différences observées entre le régime étudié et le régime normal a été par un test t de Student (* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001).

4.2.2. Glycémie sanguine

Le sang de chaque souris a été prélevé après 8 ou 16 semaines de régime alimentaire puis il a été immédiatement centrifugé et le plasma congelé. Les paramètres biochimiques sanguins des souris à 10 semaines nous ont été fournis par le laboratoire Janvier-labs pour cette souche C57BL-6J : la valeur normale du glucose est de $3,3 \pm 0,7$ g/L.

Quel que soit le régime alimentaire consommé et la durée de celui-ci **nous n'avons pas observé d'hyperglycémie (Figure 50)**. De manière globale les souris avaient toutes une glycémie inférieure à la moyenne et aucune différence significative n'a été observée. Cependant, il semble que la consommation des régimes hyperglucidiques en continu n'ai pas le même impact sur la glycémie que la consommation alternée de ces régimes : on observe une plus grande dispersion des valeurs dans les groupes RA8 et RA4.

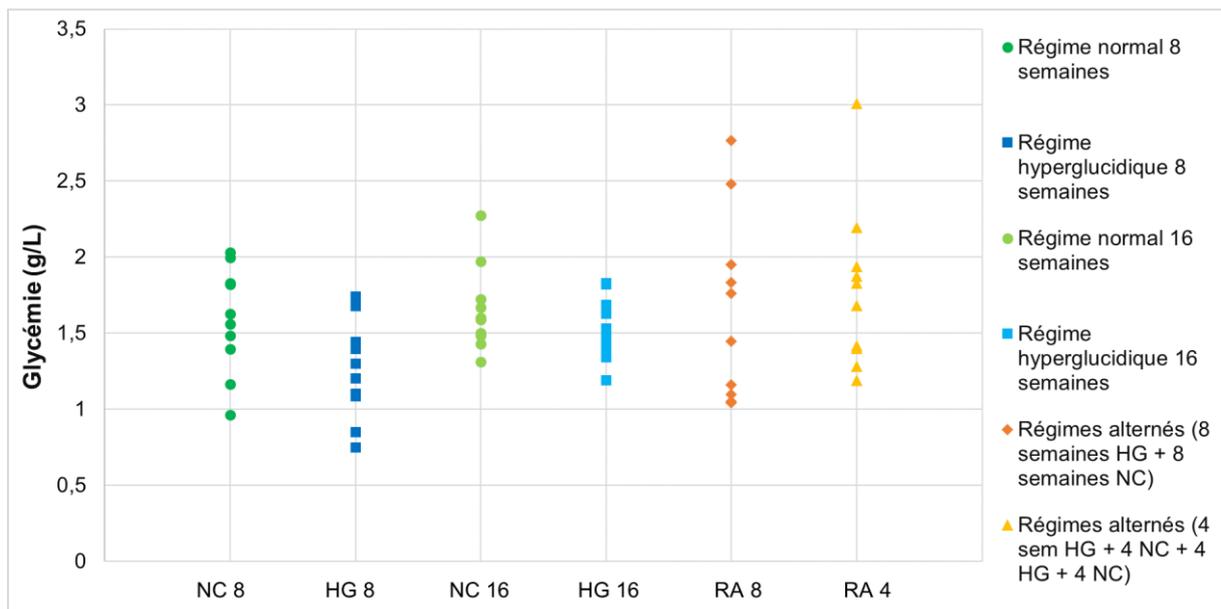


Figure 50 : Étude de la glycémie sanguine des animaux en fin de régime. Les résultats présentés correspondent à la glycémie mesurée dans le plasma ($N = 10$ dans chaque groupe) de régime normocalorique NC 8 (●) et 16 semaines (●), hyperglucidique HG 8 (●) et 16 semaines (●), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 (●), et toutes les 4 semaines RA4 (●). La significativité des différences observées entre le régime étudié et le régime normal a été par un test t de Student ($p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).*

4.2.3. Suivi de la consommation alimentaire et hydrique

Les régimes alimentaires ont été initiés lorsque les souris étaient âgées de 8 à 9 semaines, soit juste après la maturité sexuelle. Pour chacun des régimes alimentaires, la prise alimentaire a été suivie tout au long des 8 et 16 semaines du protocole (**Figure 51**).

Avec le régime normal, la consommation moyenne de nourriture est en accord avec les recommandations nutritionnelles (2 à 4 g / jour ; recommandations Safe Diets). Comme précédemment, le régime hyperglucidique a entraîné une surconsommation aussi bien lorsqu'il a été consommé de façon continue ou discontinue (**Figure 51 A**).

La consommation moyenne d'eau est normalement de 3,75 mL/jour pour une souris de laboratoire. De manière globale la consommation de nos souris était légèrement plus élevée. Cependant la consommation du régime hyperglucidique n'a pas modifié la prise hydrique de façon significative ce qui confirme l'absence de diabète puisque les glycémies étaient normales chez tous les animaux (**Figure 51 B**).

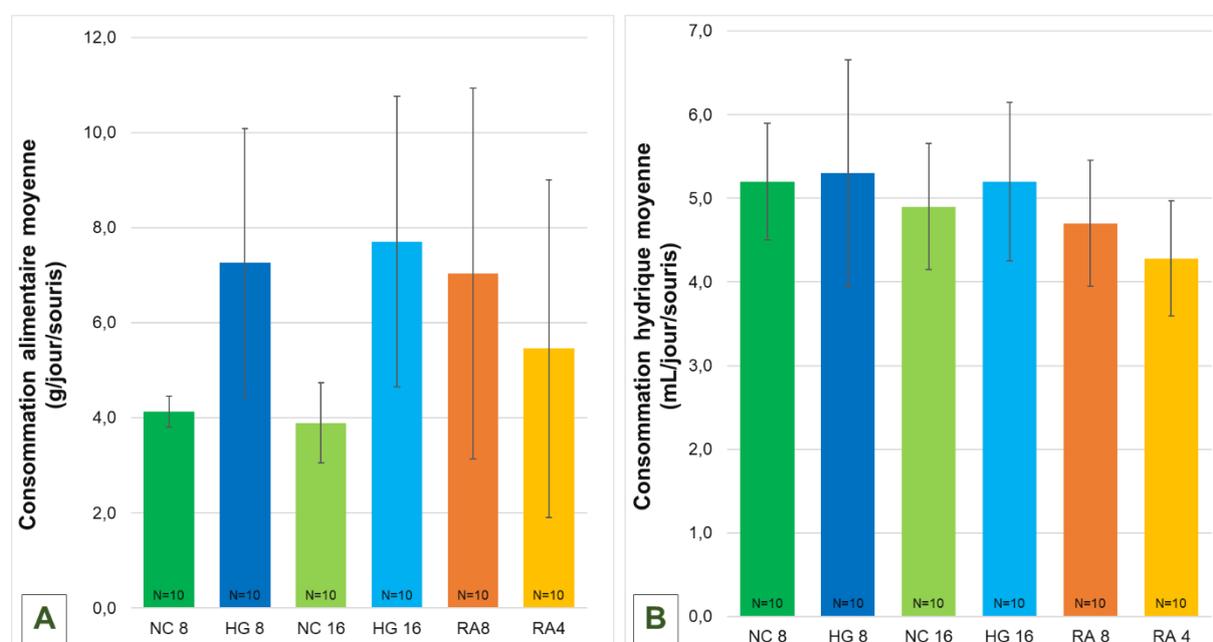


Figure 51 : Suivi de la consommation alimentaire moyenne (A) et de la consommation hydrique moyenne (B). La consommation alimentaire et hydrique des animaux a été suivie chaque semaine au cours du protocole pour chaque régime (cages) normocalorique NC 8 (●) et 16 semaines (●), hyperglucidique HG 8 (●) et 16 semaines (●), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 (●), et toutes les 4 semaines RA4 (●). Les résultats présentés correspondent à la moyenne par jour sur les 8/16 semaines de protocole. La significativité des différences observées entre le régime étudié et le régime normal a été par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.2.4. Score clinique DAI

Quel que soit le régime consommé, les animaux n'ont présenté aucun signe clinique d'inflammation en l'absence de traitement avec le DSS (résultats non montrés). Comme attendu, après consommation de chaque régime, le traitement avec le DSS augmente significativement le score DAI (statistiques non montrés).

Conformément au protocole préliminaire MICICAL 2017, les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique durant 8 semaines et traités au DSS ont présenté des signes d'inflammation **plus précocement** par rapport à ceux ayant consommé le régime normal (**Figure 52 A**). De même, après 16 semaines, on retrouve une augmentation plus précoce et plus rapide du DAI mais non significative chez les animaux soumis au régime hyperglucidique par rapport à ceux ayant reçu le régime normal. Toutefois, cet effet moins marqué ne diffère pas significativement de celui observé lorsque ces régimes sont consommés durant 8 semaines (résultats statistiques non montrés).

Enfin, **l'alternance des régimes sur 16 semaines semble minimiser la sévérité de la colite** : ainsi, l'aggravation de la colite semble plus lente et moins sévère que chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique en continu. Chez les animaux ayant consommé le régime alterné toutes les 8 semaines on observe une colite significativement moins sévère que ceux ayant consommé le régime hyperglucidique en continu (**Figure 52 B**).

⇒ La consommation du régime hyperglucidique durant 8 et 16 semaines aggrave la colite par rapport aux animaux ayant consommé le régime normal. L'alternance des régimes semble moins sévère que chez ceux ayant consommé le régime hyperglucidique, proche de ceux ayant consommé le régime normal pour l'alternance 4 semaines, et même inférieur pour l'alternance 8 semaines.

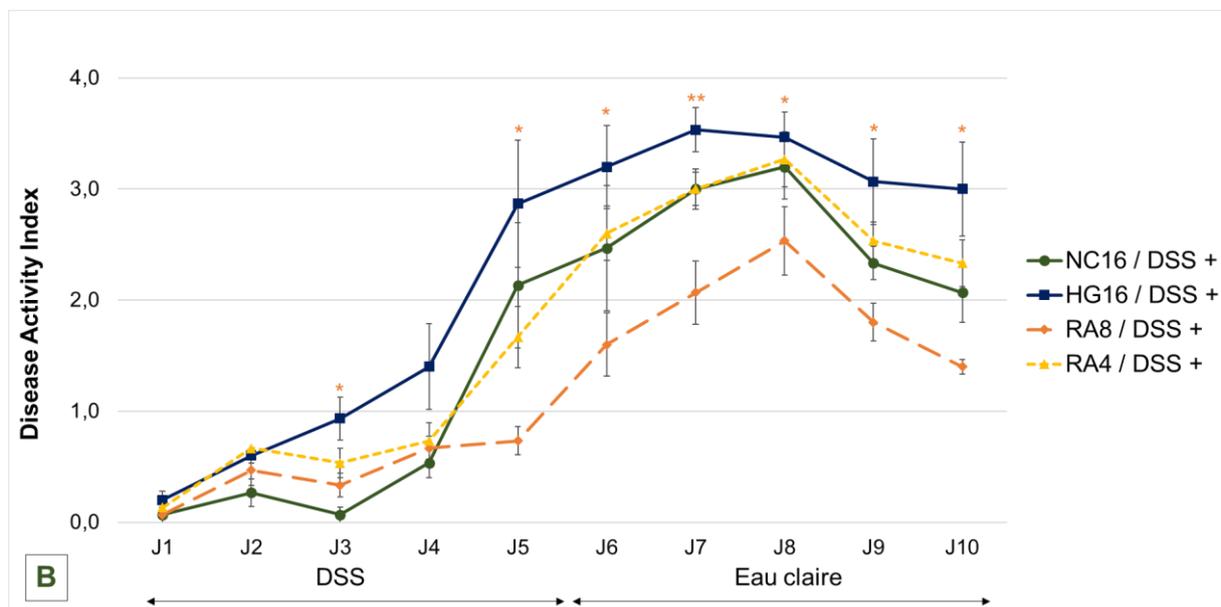
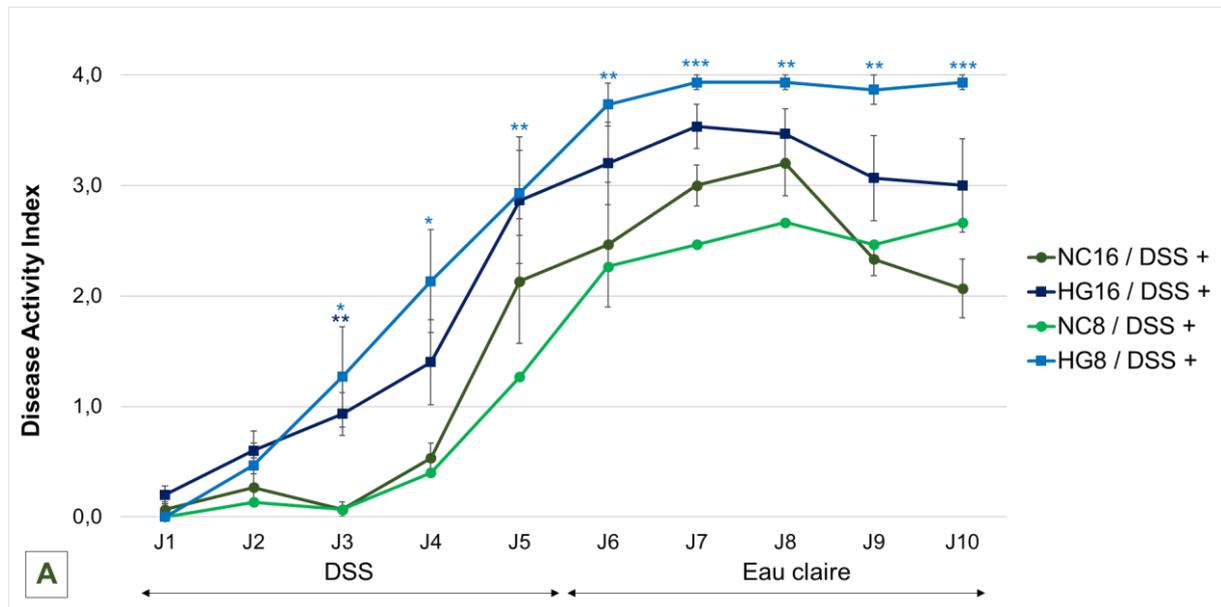


Figure 52 : Étude des signes cliniques de la colite expérimentale. La perte de poids, la consistance des selles et la présence de sang ont été suivis quotidiennement pour chaque souris en fonction des régimes normocalorique NC 8 semaines (—●—), NC 16 semaines (—●—), hyperglucidique HG 8 semaines (—●—), HG 16 semaines (—●—), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 (—●—), et toutes les 4 semaines RA4 (—●—) et soumises au traitement DSS. Les résultats présentés correspondent aux moyennes calculées \pm erreur standard pour chaque groupe de souris ($N = 5$). En (A) Groupes 8 et 16 semaines la significativité des différences observées entre les groupes traités au DSS ayant consommé le régime HG et les groupes traités au DSS ayant consommé le régime NC a été établie par un test t de Student. En (B) Groupe 16 semaines continu et discontinu la significativité des différences observées entre le groupe ayant consommé le régime HG et les groupes ayant consommés les régimes alternés a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.2.5. Score endoscopique

Un examen coloscopique a été réalisé à J10 pour chaque animal avant la mise à mort afin d'évaluer la sévérité de l'inflammation et compléter le score clinique DAI.

Comme lors du protocole préliminaire MICICAL 2017, des lésions au niveau de la muqueuse intestinale des animaux ayant consommé les régimes hyperglucidiques et pourtant non soumis au traitement colitogène ont été observées (*Figure 53 A*). Pour chacun des groupes, le traitement au DSS augmente significativement le score endoscopique (résultats statistiques non montrés).

Si après consommation du régime hyperglucidique durant 8 semaines, les lésions provoquées par le DSS ne sont pas significativement plus sévères qu'après consommation du régime normal lorsque ces régimes durent 8 semaines, la **hausse du score devient significative après 16 semaines de consommation** du régime (*Figure 53 B*).

En revanche, aucune aggravation significative des lésions provoquées par le DSS n'a été observée chez les animaux ayant consommé les régimes alternés toutes les 4 ou toutes les 8 semaines par rapport à ceux ayant consommé le régime normal. En outre, le score UCEIS observé chez ces animaux (RA 8) est significativement **inférieur** à celui observé chez ceux ayant le **régime hyperglucidique** en continu durant 16 semaines d'une part et **voisin de celui observé chez les animaux ayant consommé le régime normal** d'autre part ce qui semble confirmer le score clinique DAI.

⇒ Conformément au protocole préliminaire MICICAL 2017, des lésions endoscopiques sont observées en l'absence de DSS chez les animaux ayant consommé les régimes hyperglucidiques. L'examen endoscopique confirme les observations cliniques : la consommation du régime hyperglucidique aggrave la colite chimio-induite tandis que et l'alternance des régimes semble protéger la muqueuse.

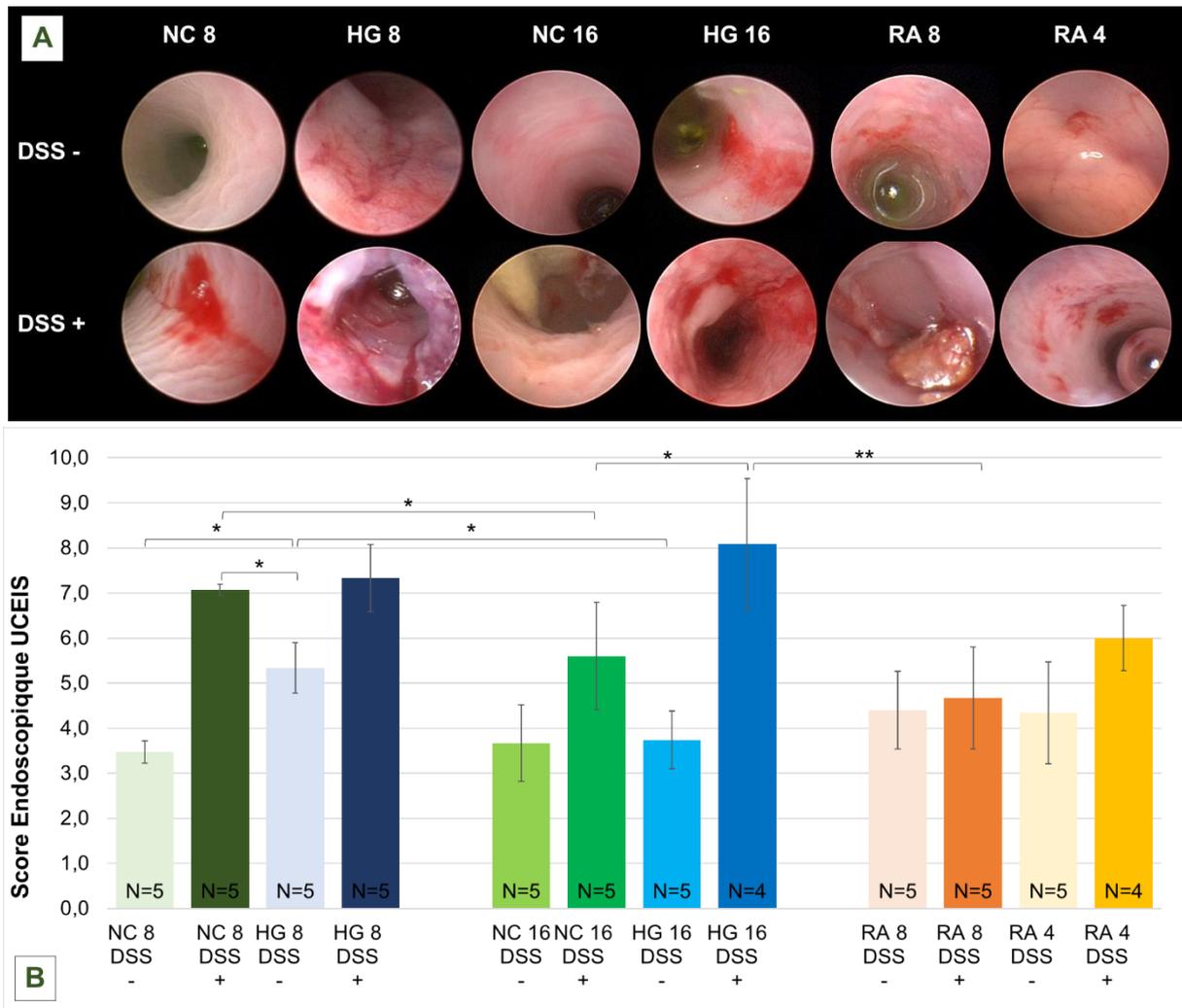


Figure 53 : Visualisation des images endoscopiques (A) et Score endoscopique moyen (B). Le score établi par trois expérimentateurs en double aveugle pour chaque souris en fonction des régimes alimentaires normocalorique NC sans DSS 8 (●) et 16 semaines (●), NC traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), hyperglucidique HG sans DSS 8 (●) et 16 semaines (●), HG traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 non traitées au DSS (●), RA8 traitées au DSS (●), et toutes les 4 semaines RA4 non traitées au DSS (●) et RA4 traitées au DSS (●). Les résultats présentés correspondent aux moyennes calculées \pm erreur standard pour chacun des groupes (N = 5). La significativité des différences observées entre les groupes a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$). La significativité entre les groupes traités au DSS et ceux non traités au sein d'un même régime n'est pas montré car tous les groupes sont significatifs.

4.2.6. Longueur des côlons

Il est décrit qu'en cas d'inflammation intestinale de type colite, la longueur des côlons est raccourcie. Au cours des dissections, tous les côlons ont été mesurés pour comparer leur longueur moyenne dans chacun des groupes d'animaux (*Figure 54 A*).

En l'absence de DSS, les côlons des animaux ayant consommé le régime hyperglucidique pendant 8 et 16 semaines est raccourci respectivement de 15 et 18 % (55,9 et 48,3 mm ; $p < 0,05$) par rapport au régime normal (65,4 et 58,6 mm). Après **traitement par le DSS**, ce raccourcissement persiste (42,4 et 42,7 mm ; $p < 0,05$) (*Figure 54 B*).

D'autre part, les animaux ayant consommé le **régime alterné toutes les 8 semaines** ont un côlon raccourci en l'absence de DSS (-11 % ; $p < 0,05$) mais **pas les animaux ayant consommé le régime alterné toutes les 4 semaines**. En revanche, après traitement par le DSS, les animaux ayant consommé le régime alterné toutes les 8 semaines ont un côlon plus long que ceux ayant consommé le régime hyperglucidique en continu durant 16 semaines (+ 10 % ; $p < 0,05$).

⇒ La consommation du régime hyperglucidique (durant 8 et 16 semaines) provoque un raccourcissement du côlon et d'avantage encore après traitement par le DSS. De plus, les animaux soumis aux régimes alternés sont plus proches de ceux ayant consommé le régime normal, ce qui va dans le sens d'un effet protecteur du retour à un régime normal après consommation de sucre par rapport à la consommation continue du régime hyperglucidique.

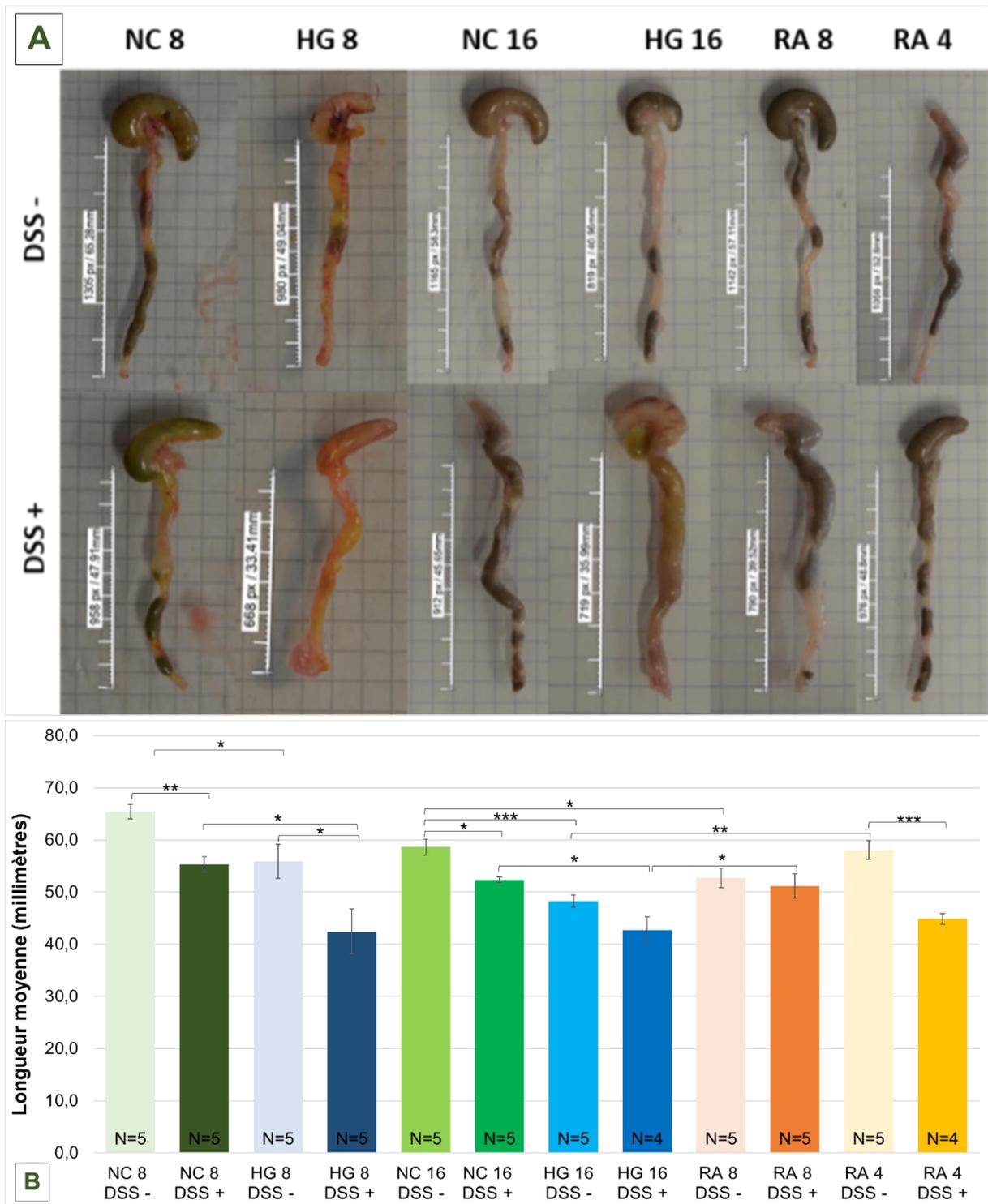


Figure 54 : Visualisation de l'aspect et de la taille des colons (A). Longueur moyenne des côlons en fonction des régimes alimentaires (B). Mesure à l'aveugle pour chaque souris en fonction des régimes alimentaires normocalorique NC non traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), NC traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), hyperglucidique HG non traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), HG traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 non traitées au DSS (●), RA8 traitées au DSS (●), et toutes les 4 semaines RA4 non traitées au DSS (●) et RA4 traitées au DSS (●). Les résultats présentés correspondent aux moyennes calculées \pm erreur standard pour chacun des groupes (N = 5). La significativité des différences observées entre les groupes a été établie par un test t de Student (* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; * p < 0,001).**

4.2.7. Poids de la rate

La rate est un organe appartenant au système immunitaire, elle filtre le sang, recycle les globules rouges et produit les cellules de l'immunités (globules blancs). En cas d'inflammation, on observe dans certains cas une **splénomégalie** (augmentation du volume de la rate) notamment en cas d'infection, de troubles hépatiques ou encore de maladie hématologique. Ainsi, dans le modèle DSS, certaines publications mettent en évidence une augmentation du volume de la rate (Chassaing *et al.*, 2014).

Après avoir prélevé la rate de chaque animal, celle-ci a été pesée puis rapportée au poids total de l'animal. Après traitement par le DSS, les rates ont grossi dans chacun des groupes mais pas toujours de façon significative.

De plus, on observe une augmentation mais non significative ($p = 0,1$) de la rate chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique (**Figure 55**). En effet, **en l'absence de traitement colitogène**, les rates représentent 0,5 % du poids des animaux (contre 0,3 % chez les témoins ayant reçu le régime normal) ce qui signifie qu'une légère **splénomégalie** est présente chez ces souris.

Chez les animaux ayant consommé les régimes alternés durant 4 ou 8 semaines, les rates semblent moins impactées qu'après la consommation du régime hyperglucidique. De plus, chez ceux ayant consommé le régime alterné toutes les 8 semaines, la différence après traitement par le DSS est significative.

⇒ Il y a augmentation du poids de la rate après consommation du régime hyperglucidique, puis également après traitement colitogène.

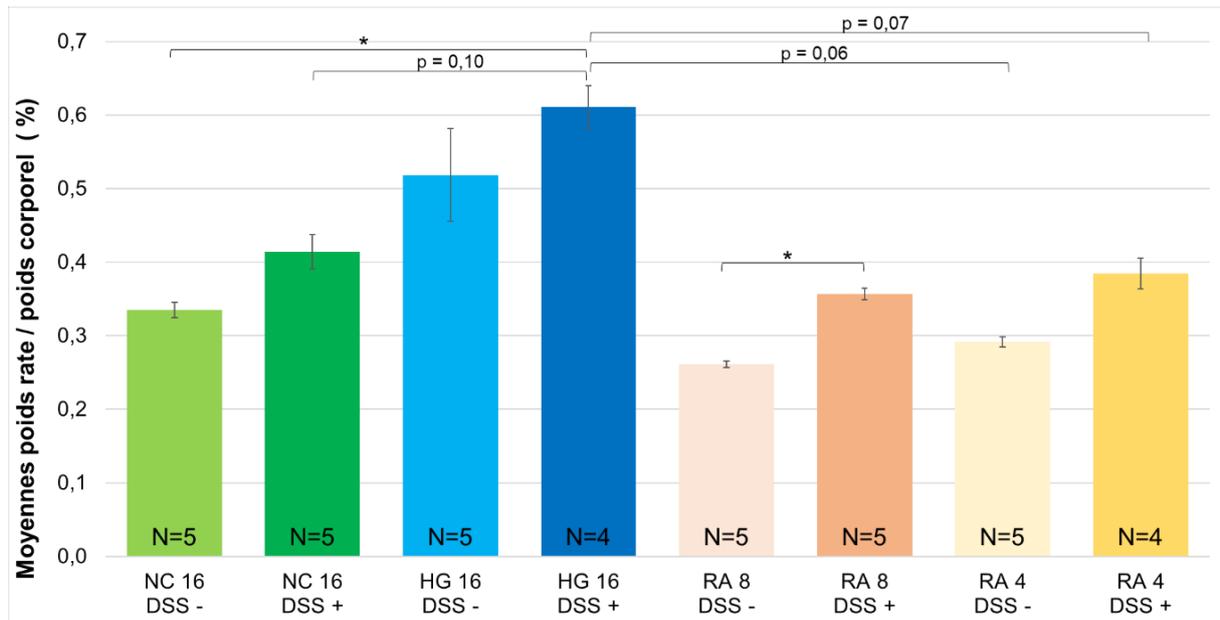


Figure 55 : Étude du poids de la rate des souris. Chaque rate a été prélevée et pesée puis rapportée au poids de chaque animal en fonction des régimes alimentaires normocalorique NC sans DSS 8 (●) et 16 semaines (●), NC traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), hyperglucidique HG sans DSS 8 (●) et 16 semaines (●), HG traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 non traitées au DSS (●), RA8 traitées au DSS (●), et toutes les 4 semaines RA4 non traitées au DSS (●) et RA4 traitées au DSS (●). Les résultats présentés sont les moyennes poids rate / poids total ± erreur standard pour chacun des régimes (N = 5). La significativité des différences observées entre les groupes a été établie par un test t de Student (* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001).

4.2.8. Étude du score histologique

Les échantillons de côlons ont été fixés puis inclus en paraffine avant d'être coupés au microtome (5 µm). Après coloration HES (Hématoxyline Éosine Safran), les coupes ont été analysées par un anatomopathologiste du CHU de Nancy qui a établi un score inflammatoire.

Bien que non significatif, le score histologique est très légèrement plus élevé chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique sans être traités au DSS (**Figure 56**). Les lésions sont plus discrètes et plus rares que celles observées à la coloscopie.

En revanche, on observe que le score histologique est **significativement plus élevé chez les souris ayant consommé le régime hyperglucidique et traités au DSS** que chez les souris ayant consommé le régime témoin (**Figure 56**). L'anatomopathologiste a notamment observée des **dystrophies épithéliales sévères et des dysplasies** (anomalie de différenciation et multiplication cellulaire caractérisée par une modification architecturale de l'épithélium) chez 3 animaux ayant consommé le régime hyperglucidique durant 8 semaines puis traités au DSS.

⇒ Le score histologique confirme ce que les précédents scores cliniques et endoscopiques montraient, à savoir une aggravation de la colite chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique durant 8 semaines.

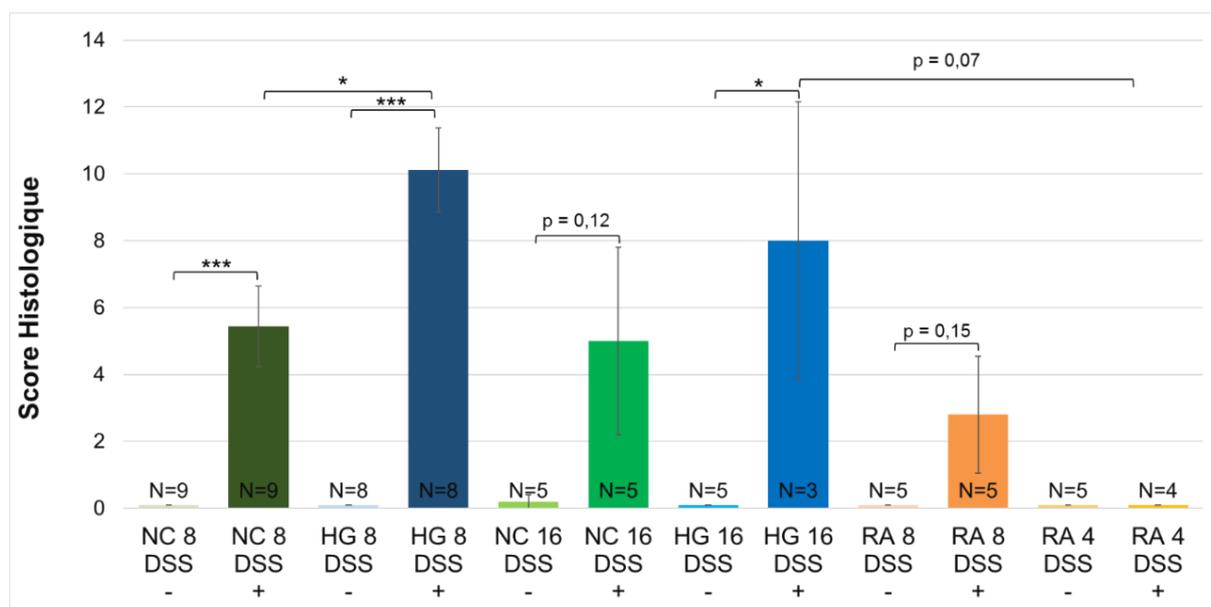


Figure 56 : Étude des scores histologiques dans la muqueuse colique des souris. Les échantillons de côlons ont été inclus en paraffine puis les coupes ont été colorées à l'hématoxyline-éosine-safran. Le score histologique selon l'échelle de Riley et al., par un anatomopathologiste pour chaque animal en fonction des régimes alimentaires normocalorique NC sans DSS 8 (●) et 16 semaines (●), NC traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), hyperglucidique HG sans DSS 8 (●) et 16 semaines (●), HG traitées au DSS 8 (●) et 16 semaines (●), régimes alternés toutes les 8 semaines RA8 non traitées au DSS (●), RA8 traitées au DSS (●), et toutes les 4 semaines RA4 non traitées au DSS (●) et RA4 traitées au DSS (●). Les résultats présentés correspondent au score moyen total ± erreur standard pour chacun des groupes (N = 3 à 9). La significativité des différences observées entre les groupes a été établie par un test t de Student (* p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001).

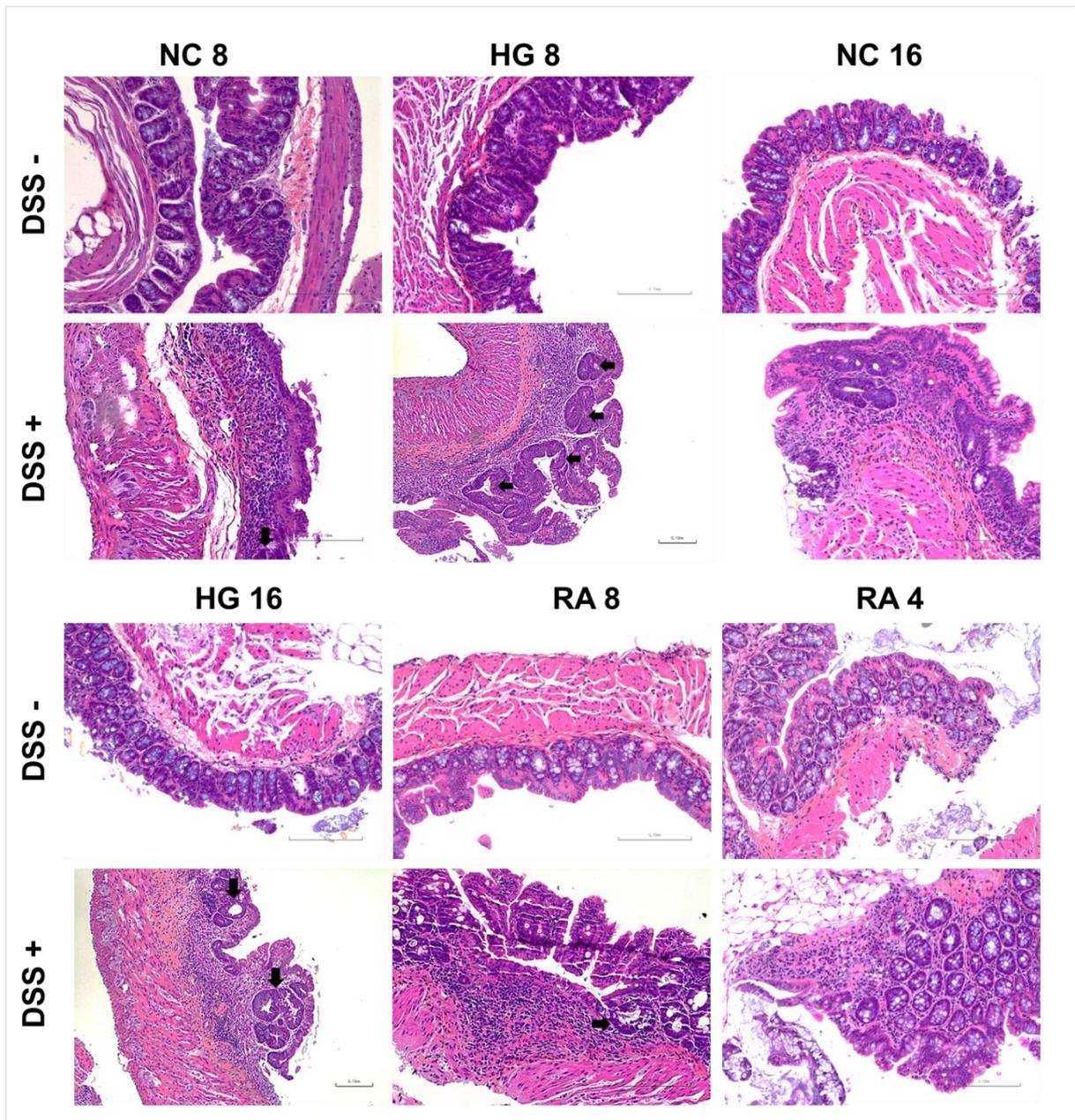


Figure 57 : Visualisation des coupes histologiques de côlon. Coloration à l'hématoxyline-éosine-safran pour chaque animal en fonction des régimes alimentaires Normocalorique NC 8 et 16 semaines, Hyperglucidique HG 8 et 16 semaines, Régimes alternés toutes les 8 et 4 semaines RA8 et 4.

4.2.9. Analyse par Western Blot (groupes 8 semaines)

- **Marqueurs de l'inflammation**

Comme précédemment nous envisageons d'étudier la quantité de marqueur de l'inflammation dans la muqueuse colique. Actuellement seuls deux marqueurs pro-inflammatoires (TNF α et IL-1 β) et anti-inflammatoire (IL-10 et TGF- β) ont été étudiés par western blot.

Concernant les marqueurs pro-inflammatoires, aucune variation significative n'a été observée chez les animaux ayant consommé le régime normal et traités au DSS pour IL-1 β (**Figure 58 B**) et TNF- α (**Figure 58 C**). **L'action du DSS est plus marquée chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique** chez lesquels IL-1 β augmente de 24 % ($p < 0,05$) et TNF- α augmente non significativement de 86 % ($p = 0,07$).

En ce qui concerne les marqueurs anti-inflammatoires, l'étude de la quantité d'IL-10 dans la muqueuse des animaux montre une baisse non significative chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique, mais la grande variabilité des mesures (notamment pour les animaux contrôles) empêche de pouvoir conclure sur ce point (**Figure 58 D**). Concernant TGF- β , la consommation du régime hyperglucidique a provoqué une augmentation de l'expression au cours du traitement DSS qui n'était pas observée avec le régime normal (**Figure 58 E**).

⇒ Le DSS provoque une augmentation des protéines pro-inflammatoires et une diminution d'IL-10 anti-inflammatoires chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique. L'augmentation de TGF- β (anti-inflammatoire) pourrait indiquer une réponse à l'inflammation. La suite des analyses devrait permettre de conclure.

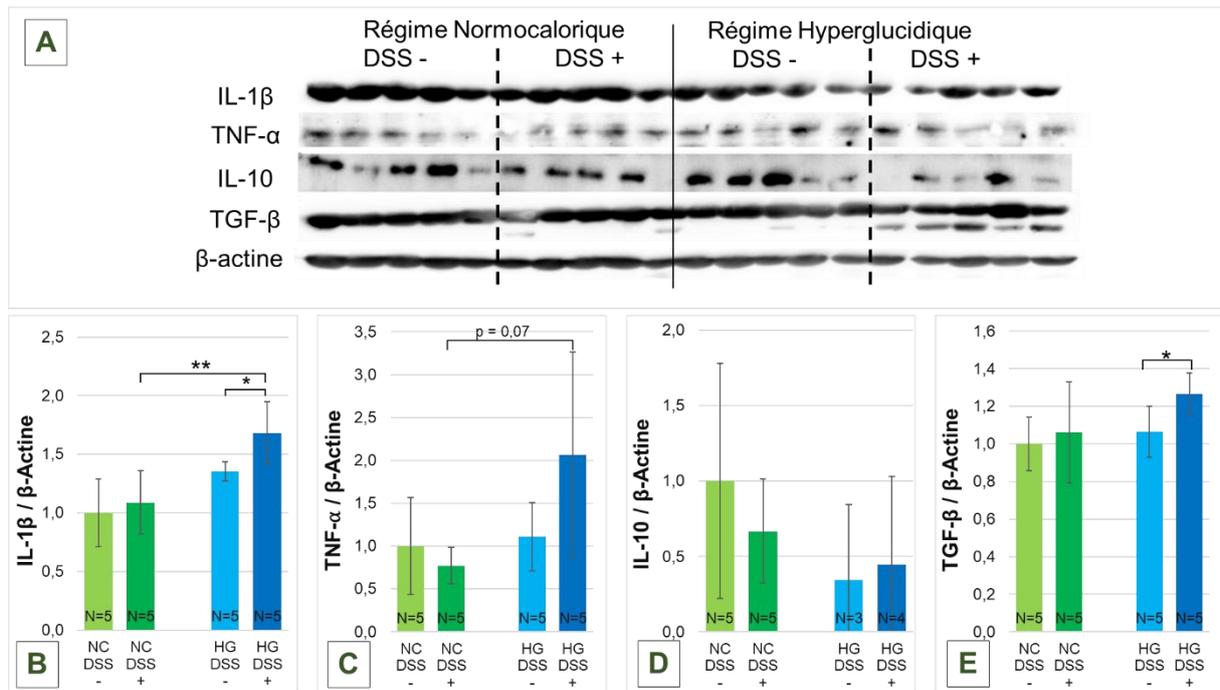


Figure 58 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'inflammation dans la muqueuse colique. La quantité des protéines d'intérêt a été rapportée à celle de la β -actine utilisée comme protéine de référence. Les résultats concernent les mâles traités ou non au DSS ayant été soumis au régime normocalorique (NC) et hyperglucidique (HG). Les résultats présentés correspondent aux moyennes des mesures densitométriques normalisées \pm erreur standard ($N = 5$ pour chacun des groupes). La significativité des différences observées entre les animaux traités avec le DSS et les animaux non traités a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

- **Marqueurs de l'autophagie**

Concernant la quantité des marqueurs de la macro-autophagie (ATG13, ATG5, LC3 II/I) dans la muqueuse colique, **en l'absence de traitement colitogène**, seule la quantité d'ATG13 (**Figure 59 F**) semble être modifiée entre les deux groupes de régime, avec une diminution chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique (- 35 % ; $p < 0,01$).

Aucun effet du DSS n'est observé en cas de consommation du régime normal, et l'hétérogénéité des mesures empêche de conclure sur la vraisemblance de la baisse observée après traitement avec le DSS en cas de consommation du régime hyperglucidique.

Les quantités d'ATG5 et LC3-II/LC3-I augmentent après traitement avec le DSS en cas de consommation du régime hyperglucidique (**Figure 59 D et E**). Cette tendance est conservée en l'absence de traitement colitogène, mais n'est pas significative.

Concernant les protéines de la CMA, l'expression d'HSPA8 (**Figure 59 C**) augmente en cas de régime hyperglucidique par rapport au régime normal, avec DSS ($p < 0,05$) ou sans DSS ($p < 0,01$). Le DSS ne modifie pas la quantité de HSPA8 par lui-même.

Enfin, en l'absence de traitement colitogène, une forte baisse de la quantité d'HSP90 (**Figure 59 B**) est observée en cas de consommation du régime hyperglucidique (- 50 % ; $p < 0,01$). Le traitement par le DSS en cas de régime normal provoque également une forte diminution de la quantité d'HSP90 (- 50 % ; $p < 0,05$). Aucun effet aggravant du DSS n'est observé chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique.

⇒ Actuellement il est **difficile de conclure au sujet de l'impact du régime hyperglucidique sur l'autophagie** puisque certains marqueurs semblent être diminués et d'autres augmentés. La suite des analyses devrait permettre de trancher.

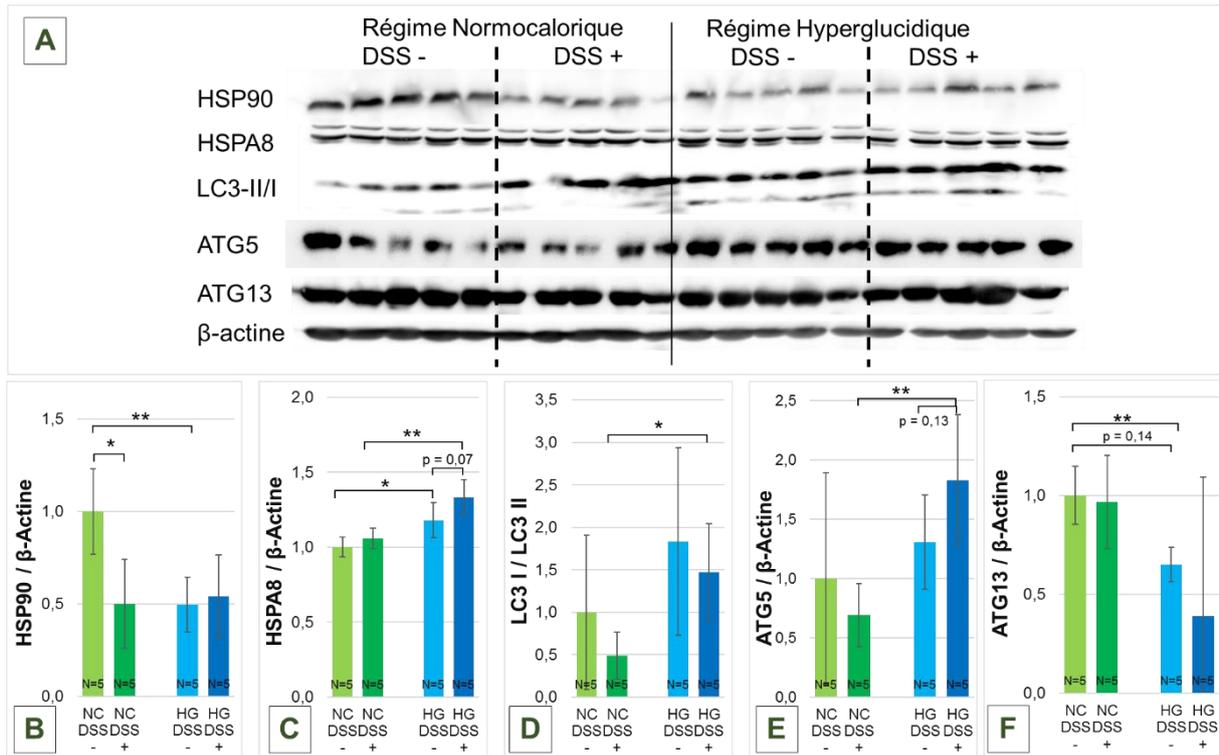


Figure 59 : Étude de l'effet des régimes et du DSS sur l'expression des protéines de l'autophagie dans la muqueuse colique. La quantité des protéines d'intérêt a été rapportée à celle de la β -actine utilisée comme protéine de référence. Les résultats concernent les mâles traités ou non au DSS ayant été soumis au régime normocalorique (NC) et hyperglucidique (HG). Les résultats présentés correspondent aux moyennes des mesures densitométriques normalisées \pm erreur standard ($N = 5$ pour chacun des groupes). La significativité des différences observées entre les animaux traités avec le DSS et les animaux non traités a été établie par un test t de Student (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.2.10. Étude du microbiote fécal

Les résultats sont obtenus sur les selles prélevées dans chaque groupe de régime à J0 et J5 du traitement colitogène. Ces selles ont été prélevées chez l'ensemble des animaux du protocole, ayant reçu ou non le traitement colitogène.

L'ensemble des analyses n'est pas encore terminé. Néanmoins nous retrouvons la **diminution de la biodiversité** observée lors du protocole préliminaire chez les souris ayant consommé le régime hyperglucidique aussi bien sur l' α que la β -diversité (**Figure 60**).

De plus, l'indice de Jaccard étant plus influencé par les espèces rares (moins abondantes) s'est révélé être le plus impacté par les régimes alimentaires (**Figure 60 B**) : il semble ainsi que les souris ayant consommé le **régime hyperglucidique de façon discontinue** (alterné 4 et 8 semaines) **ont un microbiote plus diversifié**, la composition est plus proche de celui des souris ayant consommé le régime témoin. Tandis que les souris ayant consommé le régime hyperglucidique ont un microbiote nettement différent et ce aussi bien pour une durée de 8 ou 16 semaines.

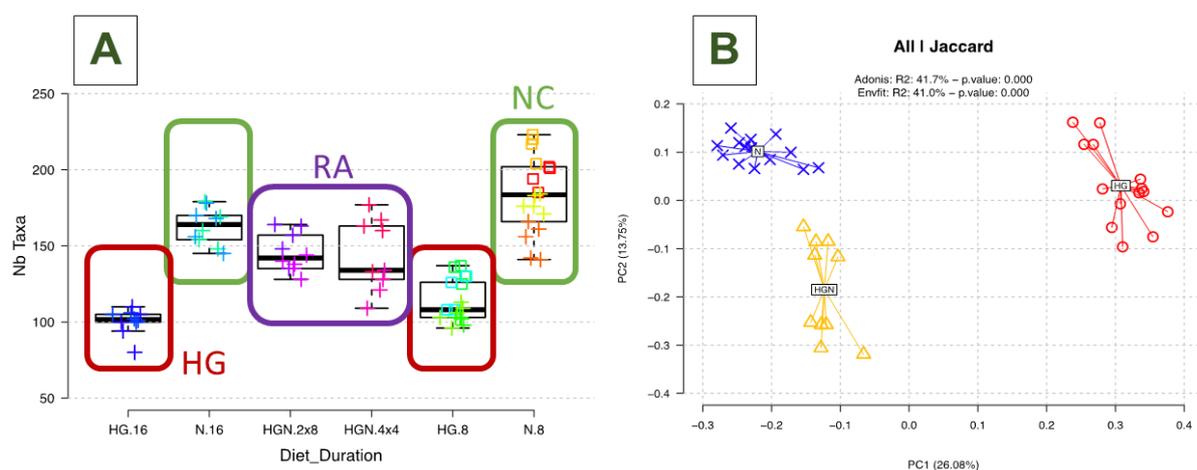


Figure 60 : Analyse de la biodiversité du microbiote fécal. (A) Alpha-diversité : représentation de la diversité taxinomique des microbiotes des souris ayant consommé le régime normocalorique (en vert) durant 8 et 16 semaines, le régime hyperglucidique de façon continue (en rouge) et discontinue (en violet) sans traitement avec le DSS. Les résultats présentés correspondent à la répartition par groupe ($N = 10$). **(B) Beta-diversité** : Représentation des différences de composition des microbiotes des souris ayant consommé le régime normocalorique durant 8 et 16 semaines (en bleu), le régime hyperglucidique de façon continue durant 8 et 16 semaines (en rouge) et de façon discontinue (en jaune).

L'analyse des **indicateurs d'espèces** dans le microbiote fécal des animaux avant traitement colitogène a montré de nettes différences notamment au niveau des **OTU18, 42 et 54 pour lesquels des Firmicutes, Clostridia et Proteobacterias** semblent être plus abondants chez les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique durant 8 et 16 semaines. À l'inverse d'autres sont plus abondants dans les groupes normocaloriques (8 et 16 semaines) comme les **OTU12 et 20** comportant essentiellement des **Proteobacteria et Bacteroidetes** (**Figure 61**).

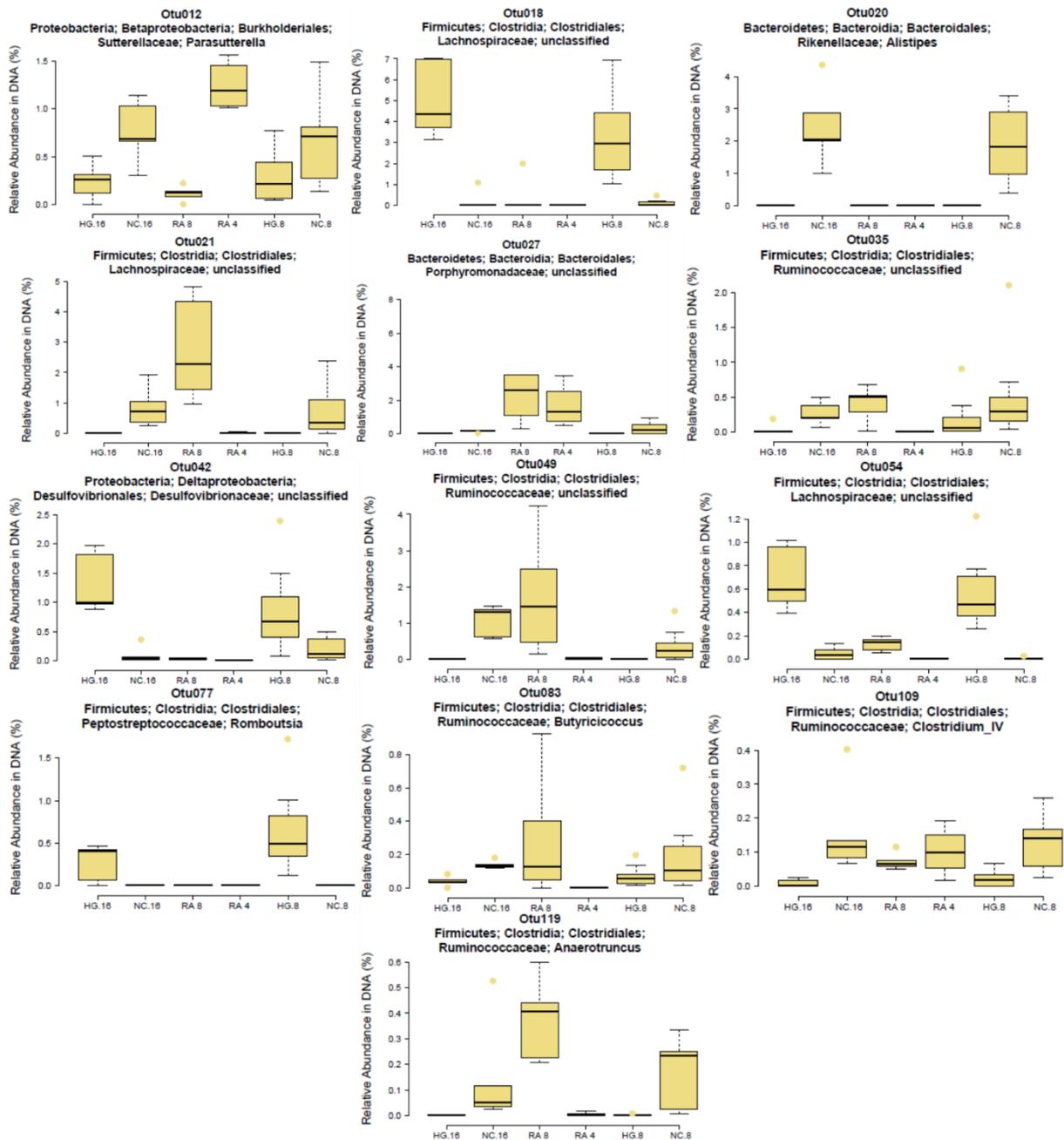


Figure 61 : Analyse des indicateurs d'espèces dans le microbiote fécal des souris. La notion d'espèce précise étant difficile avec les bactéries, on parle plutôt d'OTU (« Operational Taxonomic Unit ») pour définir un ensemble de bactéries similaires à plus de 97 %. Les résultats présentés correspondent à l'abondance relative d'un OTU dans chaque groupe de souris (N = 10) en fonction des régimes alimentaires normocalorique (NC) 8 et 16 semaines, hyperglucidique (HG) 8 et 16 semaines, Régimes alternés toutes les 8 et 4 semaines RA8 et 4.

5. Discussion

L'objectif de ce travail est de vérifier l'existence de liens entre apport alimentaire d'une part et inflammation intestinale d'autre part. L'alimentation est suspectée d'être corrélée avec la sévérité de l'inflammation et/ou d'accélérer son apparition, et le microbiote intestinal pourrait expliquer l'effet de l'apport alimentaire. Pour vérifier cette hypothèse, l'utilisation d'un modèle animal murin a été choisie. Le travail a été réalisé sur les souris C57BL/6 qui sont fréquemment utilisées pour les études liées à l'alimentation et aux troubles métaboliques.

En effet, puisqu'il n'y a actuellement aucun facteur alimentaire précis qui n'a de rôle clairement établi pour l'instant, il n'existe pas de recommandations nutritionnelles pour ces patients. La Haute Autorité de Santé écrit même dans son *Guide médecin sur la maladie de Crohn* que « l'alimentation n'influe pas sur le cours de la maladie ». C'est assez déconcertant mais comme le rappelle le CREGG, les seules recommandations diététiques données aux patients sont : « En dehors des poussées où certains aliments seront vraisemblablement plus difficiles à digérer, vous pouvez manger ce que vous supportez » (Club de Réflexion des Cabinets et Groupes et d'Hépto-Gastroentérologie, 2019).

De même, les recommandations de la société européenne de nutrition Clinique et métabolisme (ESPEN) qui n'établit que des recommandations gradées, tout comme la Société Francophone de Nutrition Clinique et Métabolisme (SFNCM) rappellent qu'il n'existe pas de « régime MICI ». Elles ne recommandent à ce jour que de veiller à prendre en charge la dénutrition et les carences en micronutriments (Schneider, 2018).

Pourtant, de nombreux patients observent une amélioration de leurs symptômes avec des régimes dits « sans résidus » (pauvres en fibres et en lactose) par exemple. L'AFA (association de patients), tout comme les recommandations praticiens, rappellent qu'il n'existe pas d'aliments recommandés en particulier ou non mais propose une aide à la prise en charge diététique des patients afin d'assurer un apport nutritif adéquat, des repas diversifiés mais malheureusement pas à visée curative ou préventive (Hébuterne, 2019). C'est pourquoi nous avons souhaité étudier l'influence de régimes riches en sucres et en graisses sur l'inflammation intestinale et la composition du microbiote intestinal.

5.1. Protocole préliminaire MICICAL 2017

5.1.1. Conséquences des régimes hypercaloriques

Concernant les effets de la consommation du régime hyperglucidique, il a été constaté qu'il est particulièrement apprécié des souris qui ont consommé ce type d'aliment en quantité largement supérieure à la consommation alimentaire de référence. Cette surconsommation alimentaire a été suivie chez les mâles, d'une prise de poids plus rapide qu'avec le régime de référence ayant permis de constater visuellement le surpoids dès 5 semaines de régime. La mesure des paramètres biologiques sanguins a montré chez ces animaux une hyperlipémie (lipides totaux, cholestérol et triglycérides). Cette hausse de la lipémie peut s'expliquer par une hausse de la quantité d'acétyl-coA produit par la glycolyse, l'activation de la lipogenèse produisant des triglycérides et de la voie du mévalonate et des dérivés isopréniques, précurseurs du cholestérol (Mahmood *et al.*, 2016).

En revanche, aucune modification de la glycémie n'a été mise en évidence chez ces animaux. Les études *in vivo* publiées dans la littérature décrivent en général des hyperglycémies après 16 semaines de régimes (Williams *et al.*, 2014 ; Wilson *et al.*, 2018). De plus, le prélèvement de sang n'a pas été réalisé sur un tube contenant un anti glycolytique (fluorure de sodium ou monoiodoacétate de sodium) mais seulement sur tube hépariné. Or le délai entre le prélèvement et l'analyse aurait nécessité ces conservateurs (Foucher *et al.*, 2004). Nous expliquons cependant la possible constance de la glycémie dans nos modèles animaux par une durée de régime hyperglucidique trop courte pour provoquer une incapacité de l'organisme à réguler la glycémie. Il serait intéressant de quantifier l'insuline circulante ou de réaliser un test de résistance au glucose pour définir comment la sécrétion de cette hormone est impactée par nos régimes (Jørgensen, Tornqvist et Hvid, 2017).

La consommation du régime hyperlipidique est apparue inférieure à celle du régime de référence chez les mâles. L'apport excessif de lipides pourrait avoir un effet anorexigène et expliquer cette baisse de la prise alimentaire (Romano *et al.*, 2014). Quoiqu'il en soit, chez les mâles, ce régime a eu les mêmes effets que le régime hyperglucidique au niveau de la prise de poids, des modifications morphologiques et des marqueurs biologiques sanguins.

5.1.2. Conséquences sur la colite chimioinduite

Alors qu'en l'absence d'agent colitogène, la consommation des régimes hypercaloriques n'a pas entraîné de modification du score clinique d'inflammation (DAI), l'examen endoscopique a mis en évidence l'existence de lésions de la muqueuse intestinale quel que soit le régime hypercalorique. En revanche, la quantification des marqueurs pro-inflammatoires dans la muqueuse colique n'a pas permis de mettre en évidence d'augmentation significative. Ces cytokines inflammatoires étant destinées à la circulation générale, elles ne sont présentes qu'en petite quantité dans les tissus, le western blot n'est pas la méthode la plus appropriée. Des études par immunodosage multiplex sur plasma et sur tissus sont prévues prochainement (Erkens *et al.*, 2018).

Conformément à nos travaux antérieurs, l'administration de DSS aux souris ayant consommé le régime standard a conduit à une hausse du score inflammatoire à partir du 6^{ème} jour, cet effet a été confirmé à J10 par l'examen coloscopique et la hausse du score histologique (Chassaing *et al.*, 2014 ; Kökten *et al.*, 2018).

La consommation du régime hyperglucidique a permis l'observation de signes cliniques de la colite chimioinduite plus précoce qu'avec le régime de référence, ce qui avait été décrit mais avec des régimes riches en graisses dont la teneur en saccharose est de l'ordre de 10 à 15% (Ma *et al.*, 2007).

5.1.3. Activation de l'autophagie

L'autophagie étant un mécanisme important dans le processus pathologique des MICI, la modulation de l'activité de ce processus cellulaire a été étudiée au niveau de l'accumulation des acteurs clés des deux principales voies d'autophagie.

L'impact des régimes hyperglucidique et hyperlipidique sur l'effet du DSS a été observé au niveau de plusieurs protéines de l'autophagie (HSP90, ATG5 et ATG13), suggérant que la macro-autophagie puisse être un élément important à prendre en considération dans l'explication de la colite. La baisse de l'activité autophagique pourrait limiter l'élimination des épitopes microbiens et entretenir l'activation du mécanisme immunitaire. Une étude suggère déjà le rôle protecteur de ATG16L1 dans les cellules dendritiques chez la souris dans un modèle de colite au DSS (Zhang *et al.*, 2017).

5.1.4. Diminution de la diversité du microbiote intestinal

La dysbiose intestinale est l'un des facteurs clés de la pathogénie des MICI. Cette dernière a été très étudiée ces dernières années puisqu'elle est elle-même modulée par de nombreux facteurs environnementaux (Miyoshi et Chang, 2017 ; Miyoshi, Qiao et Chang, 2018 ; Nell, Suerbaum et Josenhans, 2010 ; Rajca *et al.*, 2014 ; Sokol *et al.*, 2006).

Nous avons souhaité étudier l'influence du sucre et du gras séparément sur le microbiote intestinal. En effet, la plupart des études liant alimentation et microbiote chez la souris étudient des régimes « *Western Diet* » riches en gras et en sucre mais sans connaître le rôle précis de chacun de ces nutriments (Statovci *et al.*, 2017).

La baisse de diversité observée avec les différents régimes est conforme à la littérature bien que la plupart des régimes utilisés chez la souris aient une teneur moindre en sucre (15 à 25%) mais ont démontré une diminution significative des métabolites microbiens comme le butyrate et le propionate (Liu, Wang, *et al.*, 2017).

Les selles des femelles n'ont pas encore été étudiées mais nous attendons également des différences car des données récentes suggèrent des différences genre-indépendantes du microbiote contribuant à des différences entre les sexes dans le système immunitaire (Fransen *et al.*, 2017).

5.2. Protocole MICICAL 2018

Le protocole préliminaire ayant montré un effet aggravant et précoce du régime hyperglucidique, nous avons décidé de nous intéresser plus spécifiquement à celui-ci, afin de comprendre l'impact spécifique du sucre dans les régimes occidentaux. En effet, les études s'intéressant au rôle du sucre spécifiquement dans un contexte de MICI sont peu nombreuses, assez anciennes (Järnerot, Järnmark et Nilsson, 1983 ; Porro et Panza, 1985 ; Silkoff *et al.*, 1980) et avec des résultats contradictoires (Khalili *et al.*, 2019 ; Riordan, Ruxton et Hunter, 1998).

5.2.1. Conséquences des régimes

Comme lors du protocole préliminaire, les animaux ayant consommé le régime hyperglucidique ont vu leur poids augmenter, mais sans présenter d'hyperglycémie ni de signes cliniques associées (polydipsie), même avec un régime plus long (16 semaines), ce qui est en accord avec la littérature (Sasso *et al.*, 2019).

Il aurait été intéressant de faire un test de tolérance au glucose, bien que les résultats déjà publiés sur les souris C57Bl/6 soient après 20 semaines de régime riche en gras et en sucre (Saqui-Salces *et al.*, 2017).

Les analyses sanguines de la lipémie, des triglycérides et du cholestérol n'ont pas encore été réalisées sur ce protocole, ces dosages pourraient montrer une dyslipidémie chez les souris soumises aux régimes hyperglucidiques sur le long terme.

À nouveau, la consommation du régime hyperglucidique a provoqué l'apparition de lésions endoscopiques en l'absence de traitement colitogène, et le raccourcissement du côlon ainsi que l'augmentation (bien que non significative) de la quantité d'IL-1 β et la diminution d'IL-10 viennent corroborer qu'un régime enrichi en sucre est une condition favorable à l'installation de l'inflammation intestinale. Ceci n'a pas été décrit en l'état, mais certaines expériences avec des régimes riches en graisses ont montré une susceptibilité accrue aux lésions précancéreuses dans le côlon (Padidar *et al.*, 2012).

Le retour à un régime normal après consommation du régime hyperglucidique a également montré des lésions endoscopiques spontanées mais le raccourcissement plus modéré des côlons chez les souris ayant consommé le régime de façon discontinue laisse penser que ce mode de consommation puisse être moins délétère et qu'il est donc possible de rétablir cet état « pré-inflammatoire » en corrigeant l'alimentation. Cependant, en l'absence de résultats relatifs aux marqueurs inflammatoires il est pour l'instant difficile de conclure.

5.2.2. Conséquences sur la colite

Conformément à l'étude préliminaire, la consommation du régime hyperglucidique aggrave et accélère nettement la colite chimioinduite. Les résultats sont moins significatifs tant au niveau du score clinique, qu'endoscopique lorsque le régime est consommé de façon plus longue (16 semaines). Cependant l'augmentation des marqueurs inflammatoires (IL-1 β et TNF- α), les dystrophies épithéliales observées, la splénomégalie ainsi que la nette diminution de la longueur des côlons confirment l'effet délétère du sucre sur la colite chimioinduite.

Ces résultats avaient été observés dans le cadre de régimes riches en gras et en sucre (Gruber *et al.*, 2013b ; Gruber, 2014 ; Mazur-Bialy *et al.*, 2017 ; Paik *et al.*, 2013a), ou uniquement enrichi en gras (Miles *et al.*, 2017). En particulier, les dystrophies épithéliales laissent penser à des lésions précancéreuses, récemment décrites dans le cadre de régime enrichis en fructose (Goncalves *et al.*, 2019). Une autre étude récente lie l'hyperglycémie à des altérations de la barrière intestinale et à une hypersensibilité à l'infection chez la souris (Thaiss *et al.*, 2018).

Le retour à un régime normocalorique après 4 et 8 semaines de consommation du régime hyperglucidique semble corriger l'inflammation puisque la colite s'est avérée moins sévère, d'un point de vue clinique, endoscopique et histologique, ceci étant confirmé par l'absence de splénomégalie et une longueur de côlon proche de celles des témoins. Là encore, il est nécessaire d'attendre la poursuite des travaux pour comprendre par quels mécanismes l'inflammation a pu être corrigée.

5.2.3. Activation de l'autophagie

Les résultats ont été discordants concernant la modulation des protéines de l'autophagie dans le cadre de la consommation du régime hyperglucidique. En effet, l'étude préliminaire semblait indiquer une activation de certains marqueurs mais que nous n'avons pas pu confirmer pour tous. En effet, l'augmentation d'expression d'HSPA8, ATG5 et LC3 marquerait une hausse de l'activité autophagique ce qui pourrait conduire à une sur-représentation antigénique et expliquer l'inflammation exacerbée (Pott et Maloy, 2018). Cependant la diminution de la quantité d'ATG13 et d'HSP90 semble aller à l'encontre de cette hypothèse. Il faudra poursuivre les analyses afin de comprendre cet effet contradictoire en dehors d'une voie annexe de régulation de l'autophagie.

5.2.4. Rôle du microbiote intestinal

La modulation du microbiote intestinal par l'alimentation est particulièrement étudiée et d'autant plus dans le cadre de pathologies comme les MICI, pour lesquelles la dysbiose intestinale joue un rôle majeur dans la pathogénie de la maladie.

L'analyse du microbiote fécal a confirmé que le régime hyperglucidique provoquait une nette diminution de la biodiversité microbienne, ce qui est en accord avec la littérature dans le cadre de régimes riches en glucose et en fructose chez la souris (Do *et al.*, 2018). Après induction de la colite, la diversité microbienne s'effondre dans tous les groupes ce qui est également conforme à la littérature (Desai *et al.*, 2016 ; Llewellyn *et al.*, 2018).

De façon remarquable, l'indice de Jaccard, plus fortement influencé par les espèces rares du microbiote intestinal, montre une nette différence entre les animaux soumis au régime hyperglucidique (8 et 16 semaines) et les témoins. Ceci laisse penser que seules quelques bactéries, appartenant probablement aux phyla *Bacteroides* et *Firmicutes* sont perturbées par la consommation du régime riche en sucre. Une analyse plus détaillée est en cours afin d'identifier plus spécifiquement ces espèces. Il est en effet décrit que quelques espèces commensales sont capables d'influencer la barrière épithéliale et la susceptibilité à la colite chez des souris génétiquement prédisposées (Lamas *et al.*, 2017 ; Natividad *et al.*, 2012) et pour certaines induite par une alimentation de type « western diet » (Martinez-Medina *et al.*, 2014).

Concernant les animaux ayant alterné les régimes, ils ont un microbiote proche de celui des témoins, ce qui laisse penser qu'il n'y a pas de cicatrice microbienne. Le retour à un régime normal permet de restaurer la dysbiose intestinale de façon relativement rapide mais des analyses plus spécifiques, notamment en analysant la flore à chaque changement de régime, doivent encore être réalisées.

6. Conclusion et perspectives

Notre étude préliminaire (MICICAL 2017) montre au niveau macroscopique que la consommation de régimes hypercaloriques est une condition favorable à l'installation et à l'aggravation de la colite chimio-induite (**Figure 62**). Les scores clinique (DAI) et endoscopique (UCEIS) permettant d'évaluer la gravité de la colite chimioinduite sont significativement augmentés dans les groupes soumis à des régimes hypercaloriques (hyperglucidique et hyperlipidique). De façon remarquable, des lésions intestinales sont visibles en l'absence de traitement colitogène chez les animaux ayant consommé les régimes hypercaloriques.

Les marqueurs biochimiques sanguins n'ont pas montré d'hyperglycémie mais une légère dyslipidémie est présente chez les animaux ayant consommé les régimes riches en gras et en sucre. La quantification de certains marqueurs dans la muqueuse colique semble montrer une augmentation des protéines pro-inflammatoires et une diminution des protéines anti-inflammatoire après consommation du régime hyperglucidique et traitement colitogène. Le mécanisme autophagique semble également perturbé mais de façon discordante.

Enfin, l'analyse du microbiote intestinal a montré une très nette diminution de la diversité microbienne dans le microbiote fécal des animaux avant traitement colitogène et après consommation des régimes hypercaloriques. La biodiversité s'effondre totalement dans tous les groupes après la colite chimioinduite.

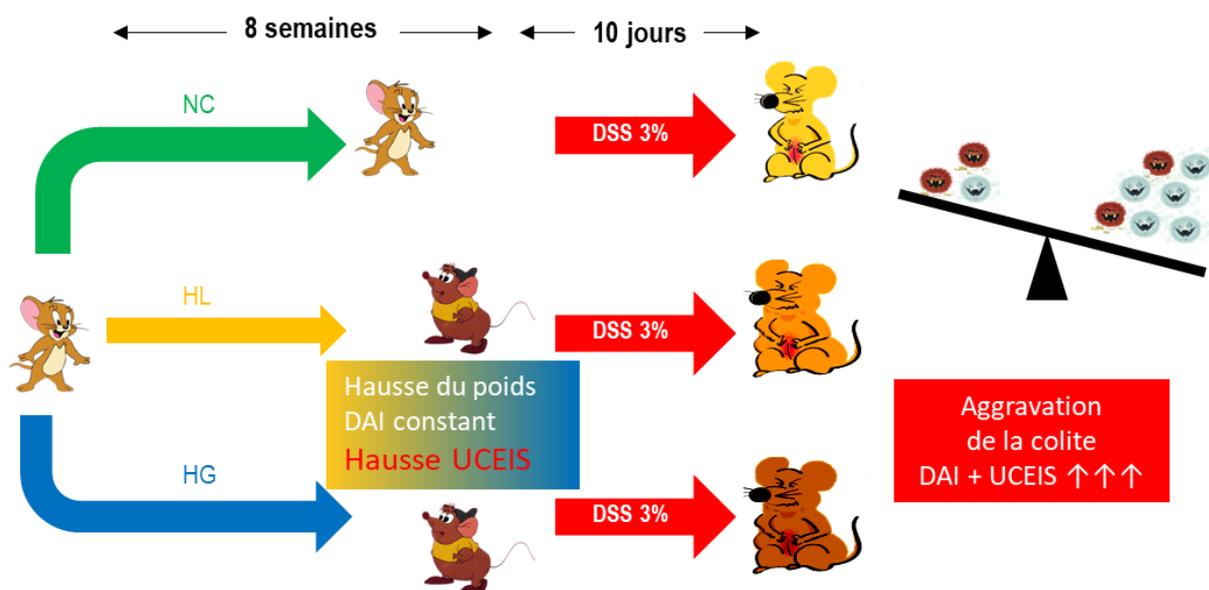


Figure 62 : Résumé des résultats du protocole préliminaire MICICAL 2017. Les régimes alimentaires NC : normocalorique, HG : hyperglucidique, HL : hyperlipidique ont été administrés durant 8 semaines. Les scores DAI (« Disease Activity Index ») et UCEIS (« Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity ») ont été utilisés pour évaluer la sévérité de la colite induite par l'administration de DSS : Sulfate de Dextran Sodique dilué à 3% dans l'eau de boisson durant 5 jours.

Après ces premiers résultats, nous avons choisi de nous intéresser plus spécifiquement au régime riche en sucre car dans la littérature, les études dites « Western Diet » utilisent généralement des régimes enrichis en graisses ET en sucre ou uniquement en graisses, sans faire de distinction entre ces deux types de nutriments. Nous avons souhaité étudier l'impact du sucre seul et sur le long terme.

L'étude de réplication (MICICAL 2018) confirme clairement que le régime hyperglucidique provoque des lésions intestinales qui se trouvent aggravées par la colite chimio-induite. En revanche, lorsque le régime est consommé de façon discontinue, il semble que son effet aggravant soit amoindri par le retour à un régime normal (**Figure 63**).

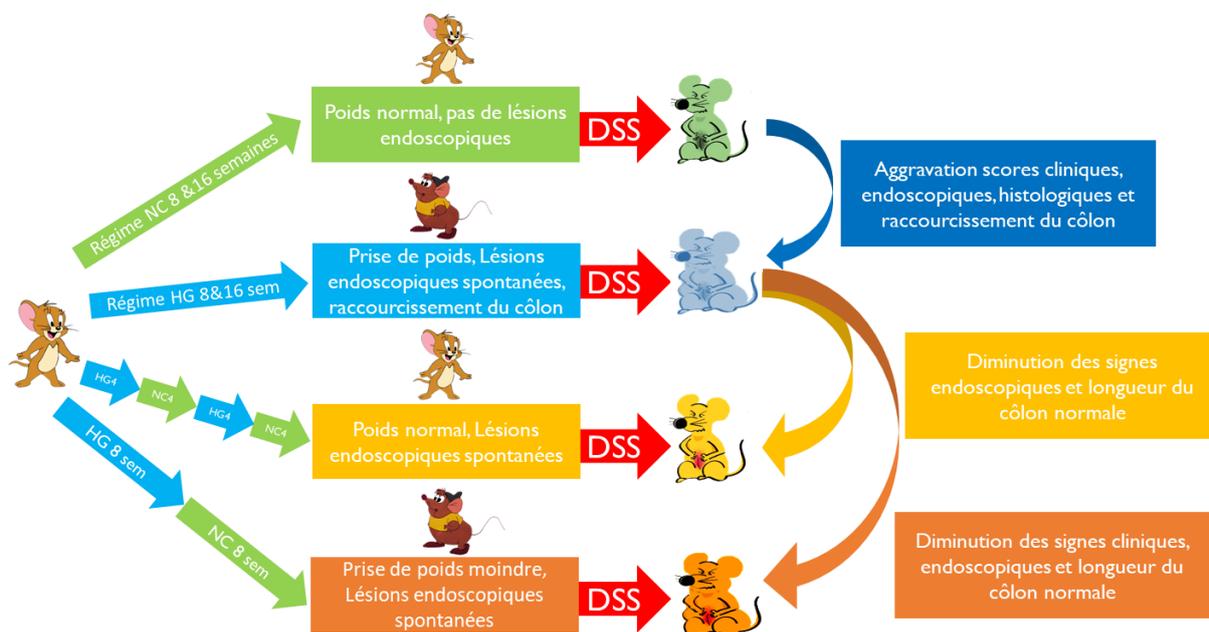


Figure 63 : Résumé des résultats du protocole MICICAL 2018. Les régimes alimentaires NC : normocalorique, HG : hyperglucidique ont été administrés durant 8 ou 16 semaines de façon continu ou alterné. Les scores DAI (« Disease Activity Index ») et UCEIS (« Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity ») ont été utilisés pour évaluer la sévérité de la colite induite par l'administration de DSS : Sulfate de Dextran Sodique dilué à 3% dans l'eau de boisson durant 5 jours.

La consommation à plus long terme (16 semaines) du régime hyperglucidique n'a pas montré d'hyperglycémie ni de prise de poids plus importante qu'après 8 semaines de régime. Les scores cliniques, endoscopiques et histologiques ont montrés une nette aggravation de la colite chimio induite après consommation du régime enrichi en sucre. En particulier, nous avons retrouvé les lésions endoscopiques spontanées (sans DSS), un raccourcissement du côlon et une augmentation du poids de la rate liée à la consommation du régime hyperglucidique.

De plus, l'anatomopathologiste a pu observer des dystrophies épithéliales sévères chez les animaux soumis au régime sucré après colite chimio-induite ce qui n'a pas été observé chez ceux ayant un régime normal.

Les marqueurs inflammatoires mesurés dans la muqueuse colique sont augmentés mais de manière peu significative. Le mécanisme de l'autophagie semble impacté mais nos résultats actuels ne sont pas assez concluants pour établir un mécanisme satisfaisant.

En revanche, le microbiote intestinal semble jouer un rôle important puisqu'il est fortement impacté par les régimes puis par le traitement colitogène. Il est probable qu'il soit la clef des observations que nous avons faites au niveau clinique, endoscopique, anatomique et histologique.

6.1. Perspectives à court terme : conformité des résultats

6.1.1. Poursuites des analyses des protocoles *in vivo* terminés

Les échantillons du protocole long (16 semaines + alternance des régimes) n'ont pas encore été analysés, et les analyses effectuées doivent être répliquées. Aussi, nous confirmerons ces résultats avec le Wes Protein Simple® nouvellement acquis par le laboratoire, qui permet une mesure plus fiable et plus précise de la quantité de protéine, et qui présente l'avantage de consommer très peu d'échantillon, ce qui est notre facteur limitant en Western blot.

Nous prévoyons également de rechercher d'autres marqueurs, comme ceux de la réponse au stress du réticulum endoplasmique, autre piste mécanistique de notre étude. De même, le plasma récolté régulièrement n'a pas encore été totalement analysé. Nous effectuerons des dosages biochimiques (lipémie, cholestérol, enzymes hépatiques...) et de marqueurs inflammatoires afin d'établir une cinétique puisque le sang des souris a été prélevé régulièrement chez tous les animaux.

Nous réaliserons également un dosage Luminex® immunoassay des cytokines sur plasma et sur tissus. En effet, la technique Bioplex de microdosage multiplex permet une analyse simultanée jusqu'à 30 cytokines sur de faibles volumes d'échantillons. Nous envisageons également un marquage immunofluorescent de protéines des jonctions cellulaires sur les coupes de côlon afin d'apprécier qualitativement l'architecture histologique.

6.1.2. Étude d'autres voies impactées par transcriptomique

Les mécanismes cellulaires impactés par les régimes seront recherchés par une analyse sans à priori du transcriptome (microarray) et vérifiés par RT-qPCR ou au niveau protéique (Western blot, ELISA). L'expression différentielle de protéines en fonction des régimes permettra d'identifier les modifications de mécanismes cellulaires. Les ARNm extraits de la muqueuse intestinale seront quantifiés par microarray dans un premier temps pour 4 échantillons correspondant aux animaux ayant montré les effets les plus nets sur la colite. Les gènes dérégulés seront "clustérisés" par fonctions biologiques. L'analyse bio-informatique des résultats sera effectuée au sein de notre laboratoire. La validation de ces résultats par RT-qPCR ou Western blot sera faite sur tous les échantillons disponibles.

6.1.3. Protocole *in vivo* effet dose MICICAL 2019

Les premiers résultats montrent nettement un effet aggravant du sucre sur la colite chez la souris. Pour compléter notre étude, nous allons renforcer nos résultats par une étude dose-réponse en utilisant des concentrations en saccharose intermédiaire entre le régime témoin et l'hyperglucidique, afin de vérifier la corrélation entre la concentration de sucre et la sévérité des effets décrits précédemment. Nous souhaiterions maintenant déterminer la dose de sucre ajouté pour laquelle l'aggravation de la colite n'apparaît plus.

Les résultats préliminaires sur le microbiote fécal ayant montré une surreprésentation du groupe *Desulfovibrio* (productrices de sulfure), nous avons choisi de traiter la moitié des souris au 5-ASA, un dérivé d'acide salicylique utilisé dans le traitement de la RCH chez les patients, chez qui des taux plus faibles de sulfure fécal ont été mesurés.

De plus, sur ce protocole nous étudierons la perméabilité intestinale en procédant à un gavage des souris au FITC-Dextran, 3 heures avant de prélever le sang des souris. Enfin, nous étudierons les populations lymphocytaires dans le côlon des souris par cytométrie en flux (**Figure 64**).

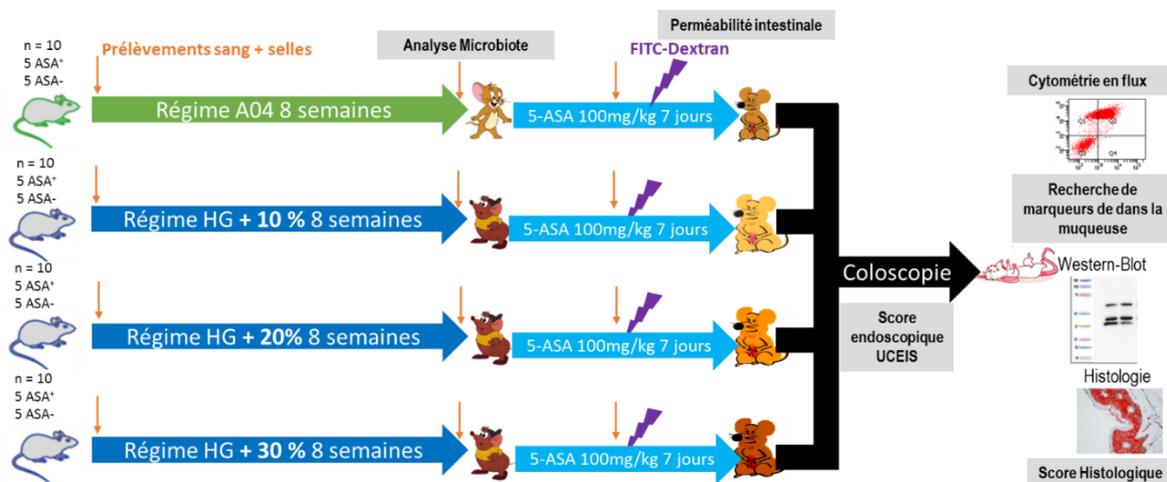


Figure 64 : Protocole MICICAL 2019. Étude de l'effet dose du sucre sur l'inflammation intestinale et la modulation du microbiote.

6.2. Rôle de NOD2

6.2.1. Protocole *in vivo*

Le gène *NOD2* (*CARD15*) est connu pour être un facteur de risque génétique de la maladie de Crohn, c'est d'ailleurs le premier gène identifié. Il est exprimé dans les macrophages, les cellules dendritiques, épithéliales et les cellules de Paneth et code pour un récepteur intracytoplasmique reconnaissant les PAMP (*Pathogen Associated Molecular Pattern*) spécifiques du monde microbien (**Figure 65**).

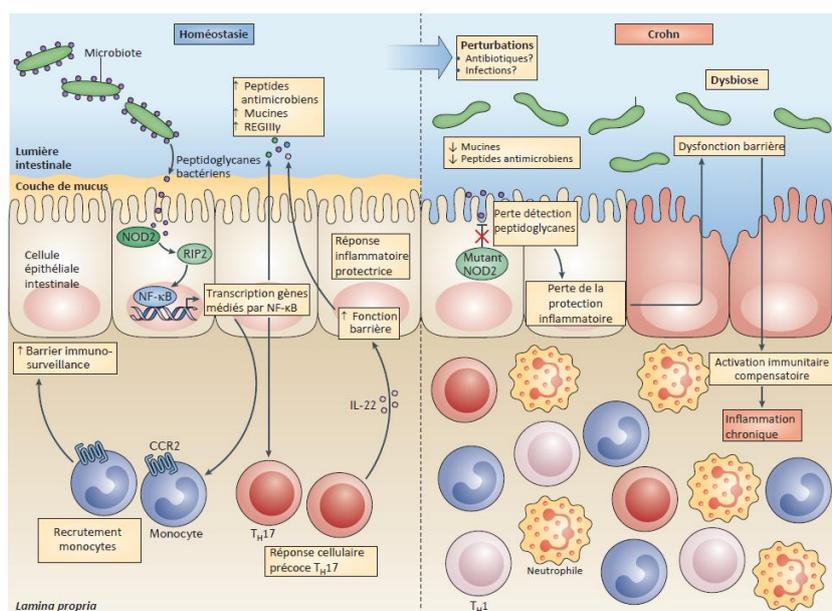


Figure 65 : Rôle de NOD2 dans l'homéostasie et la physiopathologie des MICI (Philpott et al., 2014).

Récemment, il a été mis en évidence qu'une O-glycosylation par un carbohydrate de ce récepteur provoquait une instabilité de cette protéine (Hou *et al.*, 2015). Nous souhaitons donc étudier l'effet du régime hyperglucidique chez des souris *NOD2*^{-/-}. Cette expérience sera réalisée au sein du laboratoire « NODS-like receptors in infection and immunity » de l'Institut Pasteur de Lille, dans le cadre de notre collaboration avec le Dr Matthias Chamailard.

6.3. Protocole *in vitro*

D'autre part, afin d'affiner le mécanisme par lequel les cellules intestinales sont impactés par le sucre, nous utiliserons un modèle *in vitro* de cellules CACO-2 que nous soumettrons à différentes doses de sucres (1g/L dose normale, puis une gamme allant de 2 à 10 g/L). Après quoi, nous étudierons d'une part la perméabilité de cette couche cellulaire, et d'autre part le rôle de NOD2 en utilisant un agoniste de ce récepteur : Muramyldipeptide (MDP) (ce peptidoglycane commun à toutes les bactéries, est reconnu de manière spécifique par le récepteur NOD2).

Les cellules CACO-2 constituent une lignée cellulaire tumorale humaine isolée d'un adénocarcinome colique. Selon les conditions de cultures, elles peuvent former un épithélium mimant une barrière intestinale fonctionnelle. Nous les cultiverons sur une membrane microporeuse placée dans des chambres de culture individuelles.

Après 21 jours, les cellules forment une monocouche différenciée isolant les compartiments de la chambre de culture. Ceci permet d'avoir un accès direct et aisé aux cotés apical (lumière intestinale) et basal (milieu intérieur) de l'épithélium intestinal, permettant ainsi l'évaluation des échanges de matières entre les 2 compartiments (**Figure 66**). Ce système est utilisé en pharmacologie afin d'étudier l'absorption de certains médicaments en évaluant la perméabilité de la membrane cultivée (Cheng, Li et Uss, 2008).

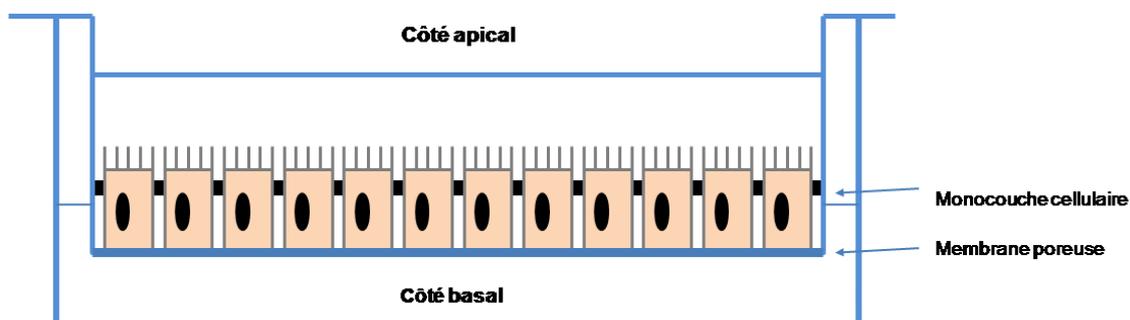


Figure 66 : Étude de l'absorption sur cellules Caco-2 cultivées en monocouche sur Transwell®.

6.4. Rôle du microbiote intestinal

Afin de confirmer le lien de causalité du microbiote intestinal, nous réaliserons des expériences de transfert de flore sur des souris axéniques. Notre hypothèse étant que les régimes hypercaloriques favoriseraient la mise en place d'une flore délétère qui aggraverait donc la colite et à l'inverse que la flore des animaux soumis à un jeûne (autre protocole en cours au laboratoire) permettrait de réduire ou prévenir celle-ci (**Figure 67**).

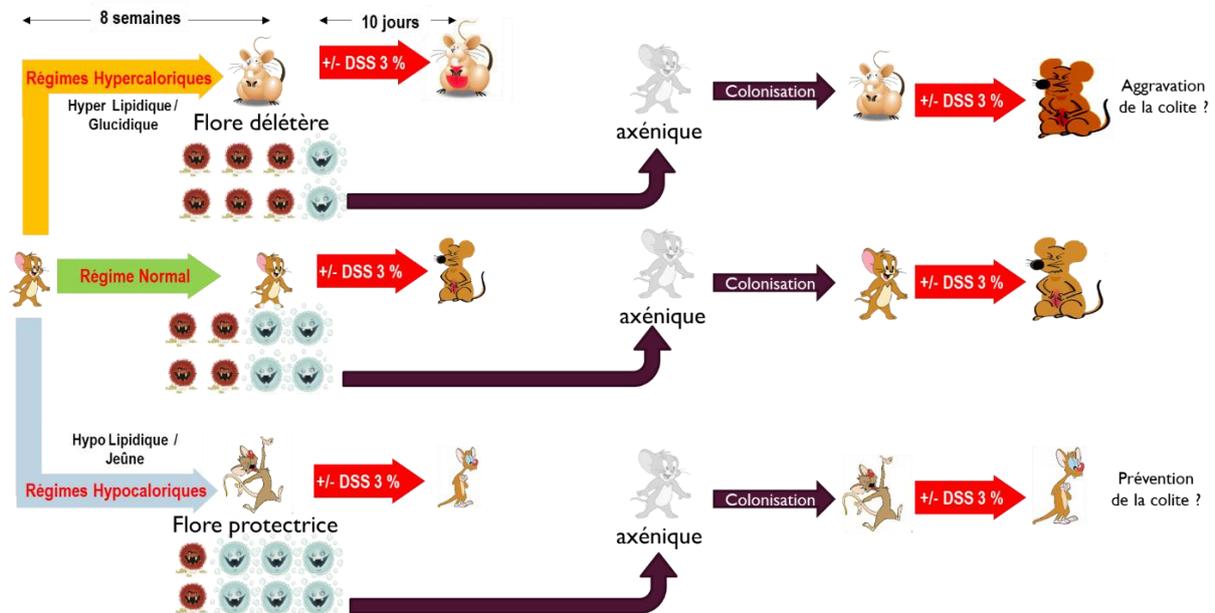


Figure 67 : Schéma du protocole de transfert de flore. Ces expériences seront réalisées au sein du laboratoire de l'Institut Pasteur de Lille.

Nous espérons que ce travail permette d'aboutir à de véritables recommandations nutritionnelles dans le cadre de la prise en charge des patients souffrant de MICI et pourquoi pas réussir à développer un traitement par transplantation fécale comme c'est d'ores et déjà le cas dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* (Cammarota, Gallo et Bibbò, 2019).

Bibliographie

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K.M., Ganu, R., Petrosino, J., and Versalovic, J. (2014). The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Science Translational Medicine* 6, 237ra65-237ra65.
- Abarca-Gómez, L., Abdeen, Z.A., Hamid, Z.A., Abu-Rmeileh, N.M., Acosta-Cazares, B., Acuin, C., Adams, R.J., Aekplakorn, W., Afsana, K., Aguilar-Salinas, C.A., et al. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet* 390, 2627–2642.
- Afshin, A., Sur, P.J., Fay, K.A., Cornaby, L., Ferrara, G., Salama, J.S., Mullany, E.C., Abate, K.H., Abbafati, C., Abebe, Z., et al. (2019). Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet* 393, 1958–1972.
- Ananthakrishnan, A.N. (2015). Epidemiology and risk factors for IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 12, 205–217.
- Andersen, I.G., Holm, J.-C., and Homøe, P. (2019). Impact of weight-loss management on children and adolescents with obesity and obstructive sleep apnea. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 123, 57–62.
- ANSES (2009). Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2) (Agence Française de sécurité sanitaire des aliments).
- Arner, E., Westermark, P.O., Spalding, K.L., Britton, T., Rydén, M., Frisén, J., Bernard, S., and Arner, P. (2010). Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes* 59, 105–109.
- Arrieta, M.-C., Stiemsma, L.T., Amenyogbe, N., Brown, E.M., and Finlay, B. (2014). The Intestinal Microbiome in Early Life: Health and Disease. *Frontiers in Immunology* 5.
- Atarashi, K., Tanoue, T., Oshima, K., Suda, W., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., et al. (2013). Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* 500, 232–236.
- Backhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F., and Gordon, J.I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101, 15718–15723.
- Barrington, W.T., Wulfridge, P., Wells, A.E., Rojas, C.M., Howe, S.Y.F., Perry, A., Hua, K., Pellizzon, M.A., Hansen, K.D., Voy, B.H., et al. (2018). Improving Metabolic Health Through Precision Dietetics in Mice. *Genetics* 208, 399–417.
- Basdevant, A., and Guy-Grand, B. (2004). *Médecine de l'obésité* (Paris: Flammarion Médecine-Sciences).
- Bashiardes, S., Shapiro, H., Rozin, S., Shibolet, O., and Elinav, E. (2016). Non-alcoholic fatty liver and the gut microbiota. *Mol Metab* 5, 782–794.
- Bates, J.H.T., Poynter, M.E., Frodella, C.M., Peters, U., Dixon, A.E., and Suratt, B.T. (2017). Pathophysiology to Phenotype in the Asthma of Obesity. *Ann Am Thorac Soc* 14, S395–S398.

- Baudry, J., Lelong, H., Adriouch, S., Julia, C., Allès, B., Hercberg, S., Touvier, M., Lairon, D., Galan, P., and Kesse-Guyot, E. (2018). Association between organic food consumption and metabolic syndrome: cross-sectional results from the NutriNet-Santé study. *Eur J Nutr* 57, 2477–2488.
- Bernalier-Donadille, A. (2010). Activités métaboliques du microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 34, 17–23.
- Blain, A., Cattan, S., Beaugier, L., Carbonnel, F., Gendre, J.P., and Cosnes, J. (2002). Crohn's disease clinical course and severity in obese patients. *Clinical Nutrition* 21, 51–57.
- Bohbot, J.M., and Cardot, J.M. (2012). Vaginal impact of the oral administration of total freeze-dried culture of LCR 35 in healthy women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2012, 503648.
- Boirie, Y., Farigon, N., Miolanne, M., Montel, F., Lahaye, C., Guillet, C., and Walrand, S. (2016). L'obésité sarcopénique : causes et conséquences. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 51, 132–138.
- Bray, M.S., Loos, R.J.F., McCaffery, J.M., Ling, C., Franks, P.W., Weinstock, G.M., Snyder, M.P., Vassy, J.L., Agurs-Collins, T., and Conference Working Group (2016). NIH working group report-using genomic information to guide weight management: From universal to precision treatment. *Obesity (Silver Spring)* 24, 14–22.
- Breban, M., Tap, J., Leboime, A., Said-Nahal, R., Langella, P., Chiocchia, G., Furet, J.-P., and Sokol, H. (2017). Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 76, 1614–1622.
- Brichet, L., and Roblin, X. (2017). Scores d'activité dans la maladie de Crohn. *JLE* 24, 72–77.
- Buscail, C., Sabate, J.-M., Bouchoucha, M., Kesse-Guyot, E., Hercberg, S., Benamouzig, R., and Julia, C. (2017a). Western Dietary Pattern Is Associated with Irritable Bowel Syndrome in the French NutriNet Cohort. *Nutrients* 9.
- Buscail, C., Sabate, J.-M., Bouchoucha, M., Torres, M.J., Allès, B., Hercberg, S., Benamouzig, R., and Julia, C. (2017b). Association between self-reported vegetarian diet and the irritable bowel syndrome in the French NutriNet cohort. *PLoS ONE* 12, e0183039.
- Caesar, R., Tremaroli, V., Kovatcheva-Datchary, P., Cani, P.D., and Bäckhed, F. (2015). Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. *Cell Metab.* 22, 658–668.
- Caillo, L., and Bourgaux, J.F. (2019). Chirurgie digestive chez des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin sous biothérapies. *Anesthésie & Réanimation* 5, 248–250.
- Cammarota, G., Gallo, A., and Bibbò, S. (2019). Fecal microbiota transplant for *C. difficile* infection: Just say yes. *Anaerobe* 102109.
- Cani, P.D. (2005). Involvement of endogenous glucagon-like peptide-1(7-36) amide on glycaemia-lowering effect of oligofructose in streptozotocin-treated rats. *Journal of Endocrinology* 185, 457–465.
- Cani, P., and Delzenne, N. (2009). The Role of the Gut Microbiota in Energy Metabolism and Metabolic Disease. *Current Pharmaceutical Design* 15, 1546–1558.

- Cani, P.D., Neyrinck, A.M., Maton, N., and Delzenne, N.M. (2005). Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like Peptide-1. *Obes. Res.* *13*, 1000–1007.
- Carlson, B.M. (2019). Chapter 12 - The Digestive System. In *The Human Body*, B.M. Carlson, ed. (Academic Press), pp. 321–355.
- Cassard, A.-M., and Thomas, M. (2019). Les microbiotes humains : des alliés pour notre santé. *Encyclopédie de l’environnement*.
- Cerf-Bensussan, N., and Gaboriau-Routhiau, V. (2010). The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nature Reviews Immunology* *10*, 735–744.
- Chassaing, B., Aitken, J.D., Malleshappa, M., and Vijay-Kumar, M. (2014). Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice: DSS-Induced Colitis in Mice. In *Current Protocols in Immunology*, J.E. Coligan, B.E. Bierer, D.H. Margulies, E.M. Shevach, and W. Strober, eds. (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.), pp. 15.25.1-15.25.14.
- Chelakkot, C., Ghim, J., and Ryu, S.H. (2018). Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Experimental & Molecular Medicine* *50*.
- Cheng, K.-C., Li, C., and Uss, A.S. (2008). Prediction of oral drug absorption in humans – from cultured cell lines and experimental animals. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* *4*, 581–590.
- Club de Réflexion des Cabinets et Groupes, and d’Hépto-Gastroentérologie (2019). Fiches de recommandations – Alimentation et MICI.
- Collège des universitaires en hépto-gastro-entérologie, Beaugerie, L., and Sokol, H. (2014). *Les fondamentaux de la pathologie digestive: enseignement intégré, appareil digestif* (Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson).
- Cooper, H.S., Murthy, S.N., Shah, R.S., and Sedergran, D.J. (1993). Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab. Invest.* *69*, 238–249.
- Cordain, L., Miller, J.B., Eaton, S.B., Mann, N., Holt, S.H., and Speth, J.D. (2000). Plant-animal subsistence ratios and macronutrient energy estimations in worldwide hunter-gatherer diets. *Am. J. Clin. Nutr.* *71*, 682–692.
- Cordain, L., Eaton, S.B., Sebastian, A., Mann, N., Lindeberg, S., Watkins, B.A., O’Keefe, J.H., and Brand-Miller, J. (2005). Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *The American Journal of Clinical Nutrition* *81*, 341–354.
- Cosnes, J., Gower-Rousseau, C., Seksik, P., and Cortot, A. (2011). Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* *140*, 1785-1794.e4.
- Cotillard, A., Kennedy, S.P., Kong, L.C., Prifti, E., Pons, N., Le Chatelier, E., Almeida, M., Quinquis, B., Levenez, F., Galleron, N., et al. (2013a). Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* *500*, 585–588.
- Cotillard, A., Kennedy, S.P., Kong, L.C., Prifti, E., Pons, N., Le Chatelier, E., Almeida, M., Quinquis, B., Levenez, F., Galleron, N., et al. (2013b). Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* *500*, 585–588.

- Croisé-Laurent, V. (2012). Inflammatory bowel disease imaging. *La Lettre de l'Hépatogastroentérologu XV*, 158–164.
- Cuervo, A.M. (2011). Chaperone-mediated autophagy: Dice's "wild" idea about lysosomal selectivity. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 12, 535–541.
- Dalibon, P. (2015). Accompagnement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Actualités Pharmaceutiques* 54, 35–36.
- Dao, M.C., Everard, A., Aron-Wisnewsky, J., Sokolovska, N., Prifti, E., Verger, E.O., Kayser, B.D., Levenez, F., Chilloux, J., Hoyles, L., et al. (2016). *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut* 65, 426–436.
- Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, A.-L., Barnich, N., Bringer, M.-A., Swidsinski, A., Beaugerie, L., and Colombel, J.-F. (2004). High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 127, 412–421.
- Delisle, H. (2017). 32. L'obésité est un problème de riches dans les pays en développement. In *Des Idées Reçues En Santé Mondiale*, (Montréal: Presses de l'Université de Montréal), pp. 165–168.
- Delzenne, N.M., and Cani, P.D. (2008). Implication de la flore intestinale dans le métabolisme énergétique. *médecine/sciences* 24, 505–510.
- Delzenne, N.M., Cani, P.D., and Neyrinck, A.M. (2007). Modulation of glucagon-like peptide 1 and energy metabolism by inulin and oligofructose: experimental data. *J. Nutr.* 137, 2547S-2551S.
- Desai, M.S., Seekatz, A.M., Koropatkin, N.M., Kamada, N., Hickey, C.A., Wolter, M., Pudlo, N.A., Kitamoto, S., Terrapon, N., Muller, A., et al. (2016). A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell* 167, 1339-1353.e21.
- Diallo, A., Deschasaux, M., Latino-Martel, P., Hercberg, S., Galan, P., Fassier, P., Allès, B., Guéraud, F., Pierre, F.H., and Touvier, M. (2018). Red and processed meat intake and cancer risk: Results from the prospective NutriNet-Santé cohort study. *Int. J. Cancer* 142, 230–237.
- DiGiulio, D.B. (2012). Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med* 17, 2–11.
- Do, M.H., Lee, E., Oh, M.-J., Kim, Y., and Park, H.-Y. (2018). High-Glucose or -Fructose Diet Cause Changes of the Gut Microbiota and Metabolic Disorders in Mice without Body Weight Change. *Nutrients* 10.
- Donohoe, D.R., Garge, N., Zhang, X., Sun, W., O'Connell, T.M., Bunger, M.K., and Bultman, S.J. (2011). The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metab.* 13, 517–526.
- Doré, J., Multon, M.-C., Béhier, J.-M., Affagard, H., Andremont, A., Barthélémy, P., Batista, R., Bonneville, M., Bonny, C., Boyaval, G., et al. (2017). Microbiote intestinale : qu'en attendre au plan physiologique et thérapeutique ? *Thérapie* 72, 1–19.

- El Kaoutari, A., Armougom, F., Raoult, D., and Henrissat, B. (2014). Le microbiote intestinal et la digestion des polysaccharides. *médecine/sciences* 30, 259–265.
- Elisha, B., Lavoie, M., Laville, M., Bastard, J., and Rabasa-Lhoret, R. (2013). Physiopathologie des obésités. EMC 14.
- Elson, C.O., Cong, Y., McCracken, V.J., Dimmitt, R.A., Lorenz, R.G., and Weaver, C.T. (2005). Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunological Reviews* 206, 260–276.
- Erkens, T., Goeminne, N., Kegels, A., Byloos, M., and Vinken, P. (2018). Analytical performance of a commercial multiplex Luminex-based cytokine panel in the rat. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 91, 43–49.
- Etievant, P., Bellisle, F., Dallongeville, J., and Etilé, F. (2010). Comportements alimentaires. 66.
- Everard, A., and Cani, P.D. (2014). Gut microbiota and GLP-1. *Rev Endocr Metab Disord* 15, 189–196.
- Everard, A., Lazarevic, V., Derrien, M., Girard, M., Muccioli, G.G., Muccioli, G.M., Neyrinck, A.M., Possemiers, S., Van Holle, A., François, P., et al. (2011). Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 60, 2775–2786.
- Farah, Z., Lucas-Martini, L., and Basdevant, A. (2012). Épidémiologie et physiopathologie de l'obésité. Mises à jour en gynécologie médicale. - Trente-sixièmes Journées nationales du CNGOF 17–22.
- Fardet, A., Rock, E., Bassama, J., Bohuon, P., Prabhasankar, P., Monteiro, C., Moubarac, J.-C., and Achir, N. (2015). Current Food Classifications in Epidemiological Studies Do Not Enable Solid Nutritional Recommendations for Preventing Diet-Related Chronic Diseases: The Impact of Food Processing. *Advances in Nutrition* 6, 629–638.
- Farré, C., and Pariente, B. (2017). Traiter les MICI. *Rev Prat.* 31, 7.
- Flores, R., Shi, J., Fuhrman, B., Xu, X., Veenstra, T.D., Gail, M.H., Gajer, P., Ravel, J., and Goedert, J.J. (2012). Fecal microbial determinants of fecal and systemic estrogens and estrogen metabolites: a cross-sectional study. *Journal of Translational Medicine* 10, 253.
- Foster, A., and Jacobson, K. (2013). Changing Incidence of Inflammatory Bowel Disease: Environmental Influences and Lessons Learnt from the South Asian Population. *Frontiers in Pediatrics* 1.
- Foucher, B., Pina, G., Desjeux, G., Cheminel, V., and Prevosto, J.-M. (2004). Stabilité de la glycémie avant centrifugation avec ou sans antiglycolytique. *Annales de Biologie Clinique* 62, 601–604.
- Frank, D.N., St. Amand, A.L., Feldman, R.A., Boedeker, E.C., Harpaz, N., and Pace, N.R. (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 13780–13785.

- Fransen, F., van Beek, A.A., Borghuis, T., Meijer, B., Hugenholtz, F., van der Gaast-de Jongh, C., Savelkoul, H.F., de Jonge, M.I., Faas, M.M., Boekschoten, M.V., et al. (2017). The Impact of Gut Microbiota on Gender-Specific Differences in Immunity. *Frontiers in Immunology* 8.
- Gaboriau-Routhiau, V., and Cerf-Bensussan, N. (2016). Microbiote intestinale et développement du système immunitaire. *médecine/sciences* 32, 961–967.
- Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., Ward, R.E., Martin, R.J., Lefevre, M., Cefalu, W.T., and Ye, J. (2009). Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* 58, 1509–1517.
- Gargiulo, S., Gramanzini, M., Megna, R., Greco, A., Albanese, S., Manfredi, C., and Brunetti, A. (2014). Evaluation of Growth Patterns and Body Composition in C57Bl/6J Mice Using Dual Energy X-Ray Absorptiometry. *BioMed Research International* 2014, 1–11.
- Garrett, W.S., Lord, G.M., Punit, S., Lugo-Villarino, G., Mazmanian, S.K., Ito, S., Glickman, J.N., and Glimcher, L.H. (2007). Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. *Cell* 131, 33–45.
- Gatta-Cherifi, B. (2016). Obésités : quoi de neuf en 2016 ? *Annales d'Endocrinologie* 77, S29–S35.
- Gauguet, S., D'Ortona, S., Ahnger-Pier, K., Duan, B., Surana, N.K., Lu, R., Cywes-Bentley, C., Gadjeva, M., Shan, Q., Priebe, G.P., et al. (2015). Intestinal Microbiota of Mice Influences Resistance to *Staphylococcus aureus* Pneumonia. *Infect. Immun.* 83, 4003–4014.
- Geneva : World Health Organization (2015). Guideline : Sugars intake for adults and children (Geneva: World Health Organization).
- Goncalves, M.D., Lu, C., Tutnauer, J., Hartman, T.E., Hwang, S.-K., Murphy, C.J., Pauli, C., Morris, R., Taylor, S., Bosch, K., et al. (2019). High-fructose corn syrup enhances intestinal tumor growth in mice. *Science* 363, 1345–1349.
- Gordon, H.A., Bruckner-Kardoss, E., Staley, T.E., Wagner, M., and Wostmann, B.S. (1966). CHARACTERISTICS OF THE GERMFREE RAT. *CTO* 64, 367–389.
- Gruber, L.M. (2014). Impact of high-fat diet on inflammatory and metabolic phenotypes in animal models of ileitis and colitis. *Universitätsbibliothek der TU München*.
- Gruber, L., Kisling, S., Lichti, P., Martin, F.-P., May, S., Klingenspor, M., Lichtenegger, M., Rychlik, M., and Haller, D. (2013a). High Fat Diet Accelerates Pathogenesis of Murine Crohn's Disease-Like Ileitis Independently of Obesity. *PLoS One* 8.
- Gruber, L., Kisling, S., Lichti, P., Martin, F.-P., May, S., Klingenspor, M., Lichtenegger, M., Rychlik, M., and Haller, D. (2013b). High Fat Diet Accelerates Pathogenesis of Murine Crohn's Disease-Like Ileitis Independently of Obesity. *PLoS ONE* 8, e71661.
- Guh, D.P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C.L., and Anis, A.H. (2009). The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 9, 88.
- Gunter, C., and Dhand, R. (2002). Human biology by proxy. *Nature* 420, 509–509.
- Hamada, H., Hiroi, T., Nishiyama, Y., Takahashi, H., Masunaga, Y., Hachimura, S., Kaminogawa, S., Takahashi-Iwanaga, H., Iwanaga, T., Kiyono, H., et al. (2002). Identification

of Multiple Isolated Lymphoid Follicles on the Antimesenteric Wall of the Mouse Small Intestine. *The Journal of Immunology* 168, 57–64.

Haro, C., Garcia-Carpintero, S., Alcala-Diaz, J.F., Gomez-Delgado, F., Delgado-Lista, J., Perez-Martinez, P., Rangel Zuñiga, O.A., Quintana-Navarro, G.M., Landa, B.B., Clemente, J.C., et al. (2016a). The gut microbial community in metabolic syndrome patients is modified by diet. *J. Nutr. Biochem.* 27, 27–31.

Haro, C., Montes-Borrego, M., Rangel-Zuñiga, O.A., Alcalá-Díaz, J.F., Gómez-Delgado, F., Pérez-Martínez, P., Delgado-Lista, J., Quintana-Navarro, G.M., Tinahones, F.J., Landa, B.B., et al. (2016b). Two Healthy Diets Modulate Gut Microbial Community Improving Insulin Sensitivity in a Human Obese Population. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 101, 233–242.

Harper, J.W., and Zisman, T.L. (2016). Interaction of obesity and inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology* 22, 7868.

Harpsøe, M.C., Basit, S., Andersson, M., Nielsen, N.M., Frisch, M., Wohlfahrt, J., Nohr, E.A., Linneberg, A., and Jess, T. (2014). Body mass index and risk of autoimmune diseases: a study within the Danish National Birth Cohort. *International Journal of Epidemiology* 43, 843–855.

HAS (2008). Haute Autorité de Santé - Guide ALD n°24 - Rectocolite hémorragique (Collège de la Haute Autorité de Santé).

HAS (2011). Recomandation de bonnes pratiques - Surpoids et obésité de l'adulte : prise en charge médicale de premier recours (Collège de la Haute Autorité de Santé).

HAS (2019). Haute Autorité de Santé - Guide ALD n° 24 - Maladie de Crohn (Collège de la Haute Autorité de Santé).

Hass, D., Brensinger, C., Lewis, J., and Lichtenstein, G. (2006). The Impact of Increased Body Mass Index on the Clinical Course of Crohn's Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 4, 482–488.

Hawkins, K., Pernarelli, J., Ozminkowski, R.J., Bai, M., Gaston, S.J., Hommer, C., Migliori, R.J., and Yeh, C.S. (2011). The prevalence of urinary incontinence and its burden on the quality of life among older adults with medicare supplement insurance. *Qual Life Res* 20, 723–732.

Hayashi, H., Sakamoto, M., and Benno, Y. (2002). Fecal microbial diversity in a strict vegetarian as determined by molecular analysis and cultivation. *Microbiol. Immunol.* 46, 819–831.

Hébuterne, X. (2019). Nutrition anti-inflammatoire et MICI : que dire à nos patients ? *Nutrition Clinique et Métabolisme* 33, 126–130.

Henriksen, M., Jahnsen, J., Lygren, I., Sauar, J., Schulz, T., Stray, N., Vatn, M.H., Moum, B., and The Ibsen Study Group (2006). Change of diagnosis during the first five years after onset of inflammatory bowel disease: Results of a prospective follow-up study (the IBSSEN Study). *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 41, 1037–1043.

Heymsfield, S.B., and Wadden, T.A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med* 376, 254–266.

Homayouni, A., Bastani, P., Ziyadi, S., Mohammad-Alizadeh-Charandabi, S., Ghalibaf, M., Mortazavian, A.M., and Mehrabany, E.V. (2014). Effects of probiotics on the recurrence of bacterial vaginosis: a review. *J Low Genit Tract Dis* 18, 79–86.

- Hou, C.-W., Mohanan, V., Zachara, N.E., and Grimes, C.L. (2015). Identification and biological consequences of the *O*-GlcNAc modification of the human innate immune receptor, Nod2. *Glycobiology* *cwv076*.
- Hou, J.K., Abraham, B., and El-Serag, H. (2011). Dietary Intake and Risk of Developing Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review of the Literature. *The American Journal of Gastroenterology* *106*, 563–573.
- Hruby, A., and Hu, F.B. (2015). The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* *33*, 673–689.
- Hsieh, S.D., Yoshinaga, H., Muto, T., Sakurai, Y., and Kosaka, K. (2000). Health risks among Japanese men with moderate body mass index. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* *24*, 358–362.
- Ichinohe, T., Pang, I.K., Kumamoto, Y., Peaper, D.R., Ho, J.H., Murray, T.S., and Iwasaki, A. (2011). Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *108*, 5354–5359.
- Inan, M.S., Rasoulpour, R.J., Yin, L., Hubbard, A.K., Rosenberg, D.W., and Giardina, C. (2000). The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF-kappaB activity in a human colonic epithelial cell line. *Gastroenterology* *118*, 724–734.
- Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (France) (2008). Nutrition et obésité : Nouvelles mesures pour 2008 & Évaluation des messages accompagnant les publicités de l'industrie agro-alimentaire. 19.
- JanvierLabs C57BL/6JRj - JANVIER LABS.
- Järnerot, G., Järnmark, I., and Nilsson, K. (1983). Consumption of Refined Sugar by Patients with Crohn's Disease, Ulcerative Colitis, or Irritable Bowel Syndrome. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* *18*, 999–1002.
- Jiang, C., Li, G., Huang, P., Liu, Z., and Zhao, B. (2017). The Gut Microbiota and Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis.* *58*, 1–15.
- Johansson, M.E.V. (2012). Fast Renewal of the Distal Colonic Mucus Layers by the Surface Goblet Cells as Measured by In Vivo Labeling of Mucin Glycoproteins. *PLoS ONE* *7*, e41009.
- Johansson, M.E.V., and Hansson, G.C. (2016). Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nature Reviews Immunology* *16*, 639–649.
- Johansson, M.E.V., Larsson, J.M.H., and Hansson, G.C. (2011). The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *108*, 4659–4665.
- Jørgensen, M.S., Tornqvist, K.S., and Hvid, H. (2017). Calculation of Glucose Dose for Intraperitoneal Glucose Tolerance Tests in Lean and Obese Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* *56*, 95–97.
- Jostins, L., Ripke, S., Weersma, R.K., Duerr, R.H., McGovern, D.P., Hui, K.Y., Lee, J.C., Philip Schumm, L., Sharma, Y., Anderson, C.A., et al. (2012). Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* *491*, 119–124.

- Julia, C., Martinez, L., Allès, B., Touvier, M., Hercberg, S., Méjean, C., and Kesse-Guyot, E. (2018). Contribution of ultra-processed foods in the diet of adults from the French NutriNet-Santé study. *Public Health Nutrition* 21, 27–37.
- Kamada, N., Kim, Y.-G., Sham, H.P., Vallance, B.A., Puente, J.L., Martens, E.C., and Nunez, G. (2012). Regulated Virulence Controls the Ability of a Pathogen to Compete with the Gut Microbiota. *Science* 336, 1325–1329.
- Kaplan, G.G. (2015). The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 12, 720–727.
- Keku, T.O., Dulal, S., Deveaux, A., Jovov, B., and Han, X. (2015). The gastrointestinal microbiota and colorectal cancer. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 308, G351-363.
- Khalili, H., Chan, S.S.M., Lochhead, P., Ananthakrishnan, A.N., Hart, A.R., and Chan, A.T. (2018). The role of diet in the aetiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 15, 525–535.
- Khalili, H., Hakansson, N., Chan, S.S., Ludvigsson, J.F., Olen, O., Chan, A.T., Hart, A.R., and Wolk, A. (2019). No Association Between Consumption of Sweetened Beverages and Risk of Later-Onset Crohn’s Disease or Ulcerative Colitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 17, 123–129.
- Khor, B., Gardet, A., and Xavier, R.J. (2011). Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 474, 307–317.
- Kiple, K.F., and Ornelas, K.C. (2000). *The Cambridge world history of food* (Cambridge, UK ; New York: Cambridge University Press).
- Koboziev, I., Reinoso Webb, C., Furr, K.L., and Grisham, M.B. (2014). Role of the enteric microbiota in intestinal homeostasis and inflammation. *Free Radical Biology and Medicine* 68, 122–133.
- Kökten, T., Hansmann, F., Melhem, H., and Peyrin-Biroulet, L. (2016). Physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l’intestin (MICI). HEGEL - HEpato-GastroEntérologie Libérale.
- Kökten, T., Gibot, S., Lepage, P., D’Alessio, S., Hablot, J., Ndiaye, N.-C., Busby-Venner, H., Monot, C., Garnier, B., Moulin, D., et al. (2018). TREM-1 Inhibition Restores Impaired Autophagy Activity and Reduces Colitis in Mice. *Journal of Crohn’s and Colitis* 12, 230–244.
- Konkel, L. (2013). *The Environment Within: Exploring the Role of the Gut Microbiome in Health and Disease*. *Environmental Health Perspectives* 121.
- Koren, O., Goodrich, J.K., Cullender, T.C., Spor, A., Laitinen, K., Kling Bäckhed, H., Gonzalez, A., Werner, J.J., Angenent, L.T., Knight, R., et al. (2012). Host Remodeling of the Gut Microbiome and Metabolic Changes during Pregnancy. *Cell* 150, 470–480.
- Lamas, B., Michel, M.-L., Waldschmitt, N., Pham, H.-P., Zacharioudaki, V., Dupraz, L., Delacre, M., Natividad, J.M., Costa, G.D., Planchais, J., et al. (2017). Card9 mediates susceptibility to intestinal pathogens through microbiota modulation and control of bacterial virulence. *Gut* gutjnl-2017-314195.
- Landman, C., and Quévrain, E. (2016). Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de Médecine Interne* 37, 418–423.

- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., Almeida, M., Arumugam, M., Batto, J.-M., Kennedy, S., et al. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500, 541–546.
- Lelong, H., Blacher, J., Baudry, J., Adriouch, S., Galan, P., Fezeu, L., Hercberg, S., and Kesse-Guyot, E. (2017). Individual and Combined Effects of Dietary Factors on Risk of Incident Hypertension: Prospective Analysis From the NutriNet-Santé Cohort. *Hypertension* 70, 712–720.
- Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S., and Gordon, J.I. (2006). Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444, 1022–1023.
- Li, B., Zhang, C., and Zhan, Y.-T. (2018). Nonalcoholic Fatty Liver Disease Cirrhosis: A Review of Its Epidemiology, Risk Factors, Clinical Presentation, Diagnosis, Management, and Prognosis. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2018, 1–8.
- Linden, S.K., Sutton, P., Karlsson, N.G., Korolik, V., and McGuckin, M.A. (2008). Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunology* 1, 183–197.
- Liu, F., Wang, X., Shi, H., Wang, Y., Xue, C., and Tang, Q.-J. (2017a). Polymannuronic acid ameliorated obesity and inflammation associated with a high-fat and high-sucrose diet by modulating the gut microbiome in a murine model. *British Journal of Nutrition* 117, 1332–1342.
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., and Sun, S.-C. (2017b). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2.
- Liu, X., Zeng, B., Zhang, J., Li, W., Mou, F., Wang, H., Zou, Q., Zhong, B., Wu, L., Wei, H., et al. (2016). Role of the Gut Microbiome in Modulating Arthritis Progression in Mice. *Scientific Reports* 6.
- Liubakka, A., and Vaughn, B.P. (2016). Clostridium difficile Infection and Fecal Microbiota Transplant. *AACN Adv Crit Care* 27, 324–337.
- Llewellyn, S.R., Britton, G.J., Contijoch, E.J., Vennaro, O.H., Mortha, A., Colombel, J.-F., Grinspan, A., Clemente, J.C., Merad, M., and Faith, J.J. (2018). Interactions Between Diet and the Intestinal Microbiota Alter Intestinal Permeability and Colitis Severity in Mice. *Gastroenterology* 154, 1037-1046.e2.
- Losurdo, G., Principi, M., Iannone, A., Ierardi, E., and Di Leo, A. (2016). The Interaction Between Celiac Disease and Intestinal Microbiota. *J. Clin. Gastroenterol.* 50 Suppl 2, *Proceedings from the 8th Probiotics, Prebiotics & New Foods for Microbiota and Human Health meeting held in Rome, Italy on September 13-15, 2015*, S145–S147.
- Louis, É., and Marteau, P. (2019). 50 questions sur les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (Doin).
- Lustig, R.H., Schmidt, L.A., and Brindis, C.D. (2012). Public health: The toxic truth about sugar. *Nature* 482, 27–29.
- Lv, F., Chen, S., Wang, L., Jiang, R., Tian, H., Li, J., Yao, Y., and Zhuo, C. (2017). The role of microbiota in the pathogenesis of schizophrenia and major depressive disorder and the possibility of targeting microbiota as a treatment option. *Oncotarget* 8, 100899–100907.

- Ma, X., Torbenson, M., Hamad, A.R.A., Soloski, M.J., and Li, Z. (2007). High-fat diet modulates non-CD1d-restricted natural killer T cells and regulatory T cells in mouse colon and exacerbates experimental colitis: High-fat diet and colonic inflammation. *Clinical & Experimental Immunology* 151, 130–138.
- Magalhaes, J.G., Tattoli, I., and Girardin, S.E. (2007). The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Seminars in Immunology* 19, 106–115.
- Mahmood, S., Birkaya, B., Rideout, T.C., and Patel, M.S. (2016). Lack of mitochondria-generated acetyl-CoA by pyruvate dehydrogenase complex downregulates gene expression in the hepatic de novo lipogenic pathway. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 311, E117–E127.
- Mangiola, F., Ianiro, G., Franceschi, F., Fagioli, S., Gasbarrini, G., and Gasbarrini, A. (2016). Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J. Gastroenterol.* 22, 361–368.
- Manichanh, C. (2006). Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 55, 205–211.
- Marchesi, J.R., Holmes, E., Khan, F., Kochhar, S., Scanlan, P., Shanahan, F., Wilson, I.D., and Wang, Y. (2007). Rapid and noninvasive metabonomic characterization of inflammatory bowel disease. *J. Proteome Res.* 6, 546–551.
- Marteau, P., and Doré, J. (2017). *Le microbiote intestinal: un organe à part entière* (Montrouge: John Libbey eurotext).
- Marteau, P., Beaugerie, L., Schénowitz, G., and Tucac, G. (2003). *Prise en charge des MICI* (Montrouge: J. Libbey Eurotext).
- Martínez Steele, E., Baraldi, L.G., Louzada, M.L. da C., Moubarac, J.-C., Mozaffarian, D., and Monteiro, C.A. (2016). Ultra-processed foods and added sugars in the US diet: evidence from a nationally representative cross-sectional study. *BMJ Open* 6, e009892.
- Martinez-Medina, M., Denizot, J., Dreux, N., Robin, F., Billard, E., Bonnet, R., Darfeuille-Michaud, A., and Barnich, N. (2014). Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. *Gut* 63, 116–124.
- Matta, J., Zins, M., Feral-Pierssens, A.L., Ozguler, A., Goldberg, M., and Czernichow, S. (2016). Prévalence du surpoids et de l'obésité et des facteurs de risque cardio-métaboliques dans la cohorte constances. *Bull Epidémiol Hebd* 640.
- Mazur-Bialy, A.I., Bilski, J., Wojcik, D., Brzozowski, B., Surmiak, M., Hubalewska-Mazgaj, M., Chmura, A., Magierowski, M., Magierowska, K., Mach, T., et al. (2017). Beneficial Effect of Voluntary Exercise on Experimental Colitis in Mice Fed a High-Fat Diet: The Role of Irisin, Adiponectin and Proinflammatory Biomarkers. *Nutrients* 9.
- McDermott, A.J., and Huffnagle, G.B. (2014). The microbiome and regulation of mucosal immunity. *Immunology* 142, 24–31.
- McGuckin, M.A., Eri, R., Simms, L.A., Florin, T.H.J., and Radford-Smith, G. (2009). Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases: *Inflammatory Bowel Diseases* 15, 100–113.
- Mendall, M., Harpsøe, M.C., Kumar, D., Andersson, M., and Jess, T. (2018). Relation of body mass index to risk of developing inflammatory bowel disease amongst women in the Danish National Birth Cohort. *PLOS ONE* 13, e0190600.

- Mendall, M.A., Viran Gunasekera, A., Joseph John, B., and Kumar, D. (2011). Is Obesity a Risk Factor for Crohn's Disease? *Digestive Diseases and Sciences* 56, 837–844.
- Merlotti, C., Morabito, A., Ceriani, V., and Pontiroli, A.E. (2014). Prevention of type 2 diabetes in obese at-risk subjects: a systematic review and meta-analysis. *Acta Diabetol* 51, 853–863.
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turroni, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado Palacio, S., Arboleya Montes, S., Mancabelli, L., et al. (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 81.
- Miles, J.P., Zou, J., Kumar, M.-V., Pellizzon, M., Ulman, E., Ricci, M., Gewirtz, A.T., and Chassaing, B. (2017). Supplementation of Low- and High-fat Diets with Fermentable Fiber Exacerbates Severity of DSS-induced Acute Colitis: *Inflammatory Bowel Diseases* 23, 1133–1143.
- Mills, J.L., Troendle, J., Conley, M.R., Carter, T., and Druschel, C.M. (2010). Maternal obesity and congenital heart defects: a population-based study. *Am. J. Clin. Nutr.* 91, 1543–1549.
- Miyoshi, J., and Chang, E.B. (2017). The gut microbiota and inflammatory bowel diseases. *Translational Research* 179, 38–48.
- Miyoshi, J., Qiao, Y., and Chang, E.B. (2018). The role of the intestinal microbiota in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Seminars in Colon and Rectal Surgery* 29, 21–27.
- Molodecky, N.A., Soon, I.S., Rabi, D.M., Ghali, W.A., Ferris, M., Chernoff, G., Benchimol, E.I., Panaccione, R., Ghosh, S., Barkema, H.W., et al. (2012). Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review. *Gastroenterology* 142, 46-54.e42.
- Morson, B.C., Shepherd, N.A., and Dawson, I. (2013). *Morson and Dawson's gastrointestinal pathology* (Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell).
- Mowat, A.McI. (2003). Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews Immunology* 3, 331–341.
- Mueller, S., Saunier, K., Hanisch, C., Norin, E., Alm, L., Midtvedt, T., Cresci, A., Silvi, S., Orpianesi, C., Verdenelli, M.C., et al. (2006). Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1027–1033.
- Murthy, S.N.S., Cooper, H.S., Shim, H., Shah, R.S., Ibrahim, S.A., and Sedergran, D.J. (1993). Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin. *Digestive Diseases and Sciences* 38, 1722–1734.
- Myles, I.A. (2014). Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutrition Journal* 13.
- Nadaletto, B.F., Herbella, F.A.M., and Patti, M.G. (2016). Gastroesophageal reflux disease in the obese: Pathophysiology and treatment. *Surgery* 159, 475–486.
- Nagpal, R., Mainali, R., Ahmadi, S., Wang, S., Singh, R., Kavanagh, K., Kitzman, D.W., Kushugulova, A., Marotta, F., and Yadav, H. (2018). Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights. *Nutrition and Healthy Aging* 4, 267–285.

- Nam, Y.-D., Jung, M.-J., Roh, S.W., Kim, M.-S., and Bae, J.-W. (2011). Comparative analysis of Korean human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS ONE* 6, e22109.
- Nancey, S., Hacini, F., Durand, P.-Y., Milhau, N., Kaiserlian, D., and Flourié, B. (2017). Apport des modèles animaux d'inflammation intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *15*, 9.
- National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK) (2004). *Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems* (London (UK): RCOG Press).
- National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (Washington (DC): National Academies Press (US)).
- Natividad, J.M.M., Petit, V., Huang, X., de Palma, G., Jury, J., Sanz, Y., Philpott, D., Garcia Rodenas, C.L., McCoy, K.D., and Verdu, E.F. (2012). Commensal and probiotic bacteria influence intestinal barrier function and susceptibility to colitis in *Nod1*^{-/-}; *Nod2*^{-/-} mice. *Inflamm. Bowel Dis.* 18, 1434–1446.
- Nell, S., Suerbaum, S., and Josenhans, C. (2010). The impact of the microbiota on the pathogenesis of IBD: lessons from mouse infection models. *Nature Reviews Microbiology* 8, 564–577.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., Mullany, E.C., Biryukov, S., Abbafati, C., Abera, S.F., et al. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet* 384, 766–781.
- Nys, K., Agostinis, P., and Vermeire, S. (2013). Autophagy: a new target or an old strategy for the treatment of Crohn's disease? *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 10, 395–401.
- Okamoto, R., and Watanabe, M. (2004). Molecular and clinical basis for the regeneration of human gastrointestinal epithelia. *J Gastroenterol* 39, 1–6.
- OMS (2003). *Obésité: prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale ; rapport d'une consultation de l'OMS ; [Consultation OMS sur l'Obésité, Genève, 3 - 5 juin 1997]*.
- Padidar, S., Farquharson, A.J., Williams, L.M., Kearney, R., Arthur, J.R., and Drew, J.E. (2012). High-Fat Diet Alters Gene Expression in the Liver and Colon: Links to Increased Development of Aberrant Crypt Foci. *Dig Dis Sci* 57, 1866–1874.
- Paik, J., Fierce, Y., Treuting, P.M., Brabb, T., and Maggio-Price, L. (2013a). High-Fat Diet-Induced Obesity Exacerbates Inflammatory Bowel Disease in Genetically Susceptible *Mdr1a*^{-/-} Male Mice. *J. Nutr.* 143, 1240–1247.
- Paik, J., Fierce, Y., Treuting, P.M., Brabb, T., and Maggio-Price, L. (2013b). High-Fat Diet-Induced Obesity Exacerbates Inflammatory Bowel Disease in Genetically Susceptible *Mdr1a*^{-/-} Male Mice. *Journal of Nutrition* 143, 1240–1247.
- Palmela, C., Chevarin, C., Xu, Z., Torres, J., Sevrin, G., Hirten, R., Barnich, N., Ng, S.C., and Colombel, J.-F. (2018). Adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. *Gut* 67, 574–587.

- Parker, A., Lawson, M.A.E., Vaux, L., and Pin, C. (2018). Host-microbe interaction in the gastrointestinal tract. *Environmental Microbiology* 20, 2337–2353.
- Patel, K.K., and Stappenbeck, T.S. (2013). Autophagy and Intestinal Homeostasis. *Annual Review of Physiology* 75, 241–262.
- Peterson, R.A. (2012). Regulatory T-Cells: Diverse Phenotypes Integral to Immune Homeostasis and Suppression. *Toxicologic Pathology* 40, 186–204.
- Peterson, D.A., Frank, D.N., Pace, N.R., and Gordon, J.I. (2008). Metagenomic Approaches for Defining the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Cell Host & Microbe* 3, 417–427.
- Peyrin-Biroulet, L., Bouhnik, Y., Roblin, X., Bonnaud, G., Hagège, H., and Hébuterne, X. (2017). French national consensus clinical guidelines for the management of Crohn’s disease. *Digestive and Liver Disease* 49, 368–377.
- Philpott, D.J., Sorbara, M.T., Robertson, S.J., Croitoru, K., and Girardin, S.E. (2014). NOD proteins: regulators of inflammation in health and disease. *Nature Reviews Immunology* 14, 9–23.
- Pierre, J.F., Hinterleitner, R., Bouziat, R., Hubert, N.A., Leone, V., Miyoshi, J., Jabri, B., and Chang, E.B. (2018). Dietary antioxidant micronutrients alter mucosal inflammatory risk in a murine model of genetic and microbial susceptibility. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 54, 95–104.
- Pietrucci, D., Cerroni, R., Unida, V., Farcomeni, A., Pierantozzi, M., Mercuri, N.B., Biocca, S., Stefani, A., and Desideri, A. (2019). Dysbiosis of gut microbiota in a selected population of Parkinson’s patients. *Parkinsonism Relat. Disord.*
- Pigeyre, M., Yazdi, F.T., Kaur, Y., and Meyre, D. (2016). Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin. Sci.* 130, 943–986.
- Piper, H.G. (2018). Intestinal microbiota in short bowel syndrome. *Semin. Pediatr. Surg.* 27, 223–228.
- Porro, G.B., and Panza, E. (1985). Smoking, sugar, and inflammatory bowel disease. *Br Med J (Clin Res Ed)* 291, 971–972.
- Pott, J., and Maloy, K.J. (2018). Epithelial autophagy controls chronic colitis by reducing TNF-induced apoptosis. *Autophagy* 14, 1460–1461.
- Qin, J., Li, R., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D.R., et al. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65.
- Racine, A., Bijon, A., Jantchou, P., Boutron-Ruault, M.-C., and Carbonnel, F. (2014). JFHOD | SNFGE.org - Société savante médicale française d’hépto-gastroentérologie et d’oncologie digestive. p.
- Racine, A., Carbonnel, F., Chan, S.S.M., Hart, A.R., Bueno-de-Mesquita, H.B., Oldenburg, B., van Schaik, F.D.M., Tjønneland, A., Olsen, A., Dahm, C.C., et al. (2016). Dietary Patterns and Risk of Inflammatory Bowel Disease in Europe: Results from the EPIC Study. *Inflammatory Bowel Diseases* 22, 345–354.

- Rajca, S., Grondin, V., Louis, E., Vernier-Massouille, G., Grimaud, J.-C., Bouhnik, Y., Laharie, D., Dupas, J.-L., Pillant, H., Picon, L., et al. (2014). Alterations in the Intestinal Microbiome (Dysbiosis) as a Predictor of Relapse After Infliximab Withdrawal in Crohn's Disease: Inflammatory Bowel Diseases 1.
- Rajilić-Stojanović, M. (2013). Function of the microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 27, 5–16.
- Randolph, G.J., Ivanov, S., Zinselmeyer, B.H., and Scallan, J.P. (2017). The Lymphatic System: Integral Roles in Immunity. *Annual Review of Immunology* 35, 31–52.
- Reeves, A.E., Koenigsknecht, M.J., Bergin, I.L., and Young, V.B. (2012). Suppression of *Clostridium difficile* in the Gastrointestinal Tracts of Germfree Mice Inoculated with a Murine Isolate from the Family Lachnospiraceae. *Infect. Immun.* 80, 3786–3794.
- Ridaura, V.K., Faith, J.J., Rey, F.E., Cheng, J., Duncan, A.E., Kau, A.L., Griffin, N.W., Lombard, V., Henrissat, B., Bain, J.R., et al. (2013). Gut Microbiota from Twins Discordant for Obesity Modulate Metabolism in Mice. *Science* 341, 1241214–1241214.
- Ridlon, J.M., Kang, D.-J., and Hylemon, P.B. (2006). Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J. Lipid Res.* 47, 241–259.
- Riley, S.A., Mani, V., Goodman, M.J., Dutt, S., and Herd, M.E. (1991). Microscopic activity in ulcerative colitis: what does it mean? *Gut* 32, 174–178.
- Riordan, A., Ruxton, C., and Hunter, J. (1998). A review of associations between Crohn's disease and consumption of sugars. *European Journal of Clinical Nutrition* 52, 229–238.
- Rippe, J., and Angelopoulos, T. (2016a). Relationship between Added Sugars Consumption and Chronic Disease Risk Factors: Current Understanding. *Nutrients* 8, 697.
- Rippe, J.M., and Angelopoulos, T.J. (2016b). Added sugars and risk factors for obesity, diabetes and heart disease. *Int J Obes (Lond)* 40 Suppl 1, S22-27.
- Rocha, D.M., Caldas, A.P., Oliveira, L.L., Bressan, J., and Hermsdorff, H.H. (2016). Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis* 244, 211–215.
- Roda, G. (2010). Intestinal epithelial cells in inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology* 16, 4264.
- Rogler, G. (2013). The History and Philosophy of Inflammatory Bowel Disease. *Digestive Diseases* 31, 270–277.
- Romano, A., Karimian Azari, E., Tempesta, B., Mansouri, A., Micioni Di Bonaventura, M.V., Ramachandran, D., Lutz, T.A., Bedse, G., Langhans, W., and Gaetani, S. (2014). High dietary fat intake influences the activation of specific hindbrain and hypothalamic nuclei by the satiety factor oleoylethanolamide. *Physiology & Behavior* 136, 55–62.
- Ronto, R., Wu, J.H., and Singh, G.M. (2018). The global nutrition transition: trends, disease burdens and policy interventions. *Public Health Nutrition* 21, 2267–2270.
- Russell, S.L., Gold, M.J., Hartmann, M., Willing, B.P., Thorson, L., Wlodarska, M., Gill, N., Blanchet, M.-R., Mohn, W.W., McNagny, K.M., et al. (2012). Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Rep* 13, 440–447.

- Rutayisire, E., Huang, K., Liu, Y., and Tao, F. (2016). The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol* *16*, 86.
- Sakamoto, N., Kono, S., Wakai, K., Fukuda, Y., Satomi, M., Shimoyama, T., Inaba, Y., Miyake, Y., Sasaki, S., Okamoto, K., et al. (2005). Dietary Risk Factors for Inflammatory Bowel Disease: A Multicenter Case-Control Study in Japan. *Inflammatory Bowel Diseases* *11*, 154–163.
- Saqui-Salces, M., Tsao, A.C., Gilliland, M.G., and Merchant, J.L. (2017). Weight gain in mice on a high caloric diet and chronically treated with omeprazole depends on sex and genetic background. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* *312*, G15–G23.
- Sartor, R.B. (2008). Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* *134*, 577–594.
- Sasso, S., Sampaio e Souza, P.C., Santana, L.F., Cardoso, C.A.L., Alves, F.M., Portugal, L.C., de Faria, B.B., da Silva, A.F., Motta-Castro, A.R.C., Soares, L.S., et al. (2019). Use of an Extract of *Annona muricata* Linn to Prevent High-Fat Diet Induced Metabolic Disorders in C57BL/6 Mice. *Nutrients* *11*, 1509.
- Satsangi, J. (2006). The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* *55*, 749–753.
- Schneider, S.M. (2018). Nutrition et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : recommandations ESPEN. *Post'U* *6*.
- Schnupf, P., Gaboriau-Routhiau, V., and Cerf-Bensussan, N. (2013). Host interactions with Segmented Filamentous Bacteria: an unusual trade-off that drives the post-natal maturation of the gut immune system. *Semin. Immunol.* *25*, 342–351.
- Schönherr-Hellec, S., Butel, M.J., and Aires, J. (2017). Dysbiose et microbiote intestinal du nouveau-né prématuré : l'entérocolite ulcéro-nécrosante. *Médecine Thérapeutique / Pédiatrie* *20*, 188–195.
- Scott, K.P., Gratz, S.W., Sheridan, P.O., Flint, H.J., and Duncan, S.H. (2013). The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol. Res.* *69*, 52–60.
- Sen, T., Cawthon, C.R., Ihde, B.T., Hajnal, A., DiLorenzo, P.M., de La Serre, C.B., and Czaja, K. (2017). Diet-driven microbiota dysbiosis is associated with vagal remodeling and obesity. *Physiology & Behavior* *173*, 305–317.
- SIGN, S.I.G.N. (2010). Management of obesity: a national clinical guideline (Edinburgh: Scottish Intercollegiate Guidelines Network).
- Silkoff, K., Hallak, A., Yegena, L., Rozen, P., Mayberry, J.F., Rhodes, J., and Newcombe, R.G. (1980). Consumption of refined carbohydrate by patients with Crohn's disease in Tel-Aviv-Yafo. *Postgraduate Medical Journal* *56*, 842–846.
- Singh, S., Dulai, P.S., Zarrinpar, A., Ramamoorthy, S., and Sandborn, W.J. (2017). Obesity in IBD: epidemiology, pathogenesis, disease course and treatment outcomes. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* *14*, 110–121.

- Sokol, H., Seksik, P., Rigottier-Gois, L., Lay, C., Lepage, P., Podglajen, I., Marteau, P., and Doré, J. (2006). Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases* *12*, 106–111.
- Sokol, H., Lay, C., Seksik, P., and Tannock, G.W. (2008). Analysis of bacterial bowel communities of IBD patients: What has it revealed?: *Inflammatory Bowel Diseases* *14*, 858–867.
- Sokol, H., Seksik, P., Furet, J.P., Firmesse, O., Nion-Larmurier, I., Beaugerie, L., Cosnes, J., Corthier, G., Marteau, P., and Doré, J. (2009). Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm. Bowel Dis.* *15*, 1183–1189.
- Sokol, H., Leducq, V., Aschard, H., Pham, H.-P., Jegou, S., Landman, C., Cohen, D., Liguori, G., Bourrier, A., Nion-Larmurier, I., et al. (2017). Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut* *66*, 1039–1048.
- Sommer, F., Rühlemann, M.C., Bang, C., Höppner, M., Rehman, A., Kaleta, C., Schmitt-Kopplin, P., Dempfle, A., Weidinger, S., Ellinghaus, E., et al. (2017). Microbiomarkers in inflammatory bowel diseases: caveats come with caviar. *Gut* *66*, 1734–1738.
- Stange, E.F., Travis, S.P.L., Vermeire, S., Reinisch, W., Geboes, K., Barakauskiene, A., Feakins, R., Fléjou, J.F., Herfarth, H., Hommes, D.W., et al. (2008). European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: Definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's and Colitis* *2*, 1–23.
- Statovci, D., Aguilera, M., MacSharry, J., and Melgar, S. (2017). The Impact of Western Diet and Nutrients on the Microbiota and Immune Response at Mucosal Interfaces. *Frontiers in Immunology* *8*.
- Stefka, A.T., Feehley, T., Tripathi, P., Qiu, J., McCoy, K., Mazmanian, S.K., Tjota, M.Y., Seo, G.-Y., Cao, S., Theriault, B.R., et al. (2014). Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *111*, 13145–13150.
- Sutaria, S., Devakumar, D., Yasuda, S.S., Das, S., and Saxena, S. (2019). Is obesity associated with depression in children? Systematic review and meta-analysis. *Arch. Dis. Child.* *104*, 64–74.
- Tan, L., Zhao, S., Zhu, W., Wu, L., Li, J., Shen, M., Lei, L., Chen, X., and Peng, C. (2018). The *Akkermansia muciniphila* is a gut microbiota signature in psoriasis. *Exp. Dermatol.* *27*, 144–149.
- Tang, W.H.W., Kitai, T., and Hazen, S.L. (2017). Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res* *120*, 1183–1196.
- Tap, J., Mondot, S., Levenez, F., Pelletier, E., Caron, C., Furet, J.-P., Ugarte, E., Muñoz-Tamayo, R., Paslier, D.L.E., Nalin, R., et al. (2009). Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environmental Microbiology* *11*, 2574–2584.
- Tchernof, A., and Després, J.-P. (2013). Pathophysiology of Human Visceral Obesity: An Update. *Physiological Reviews* *93*, 359–404.
- Tennant, P.W.G., Rankin, J., and Bell, R. (2011). Maternal body mass index and the risk of fetal and infant death: a cohort study from the North of England. *Hum Reprod* *26*, 1501–1511.

- Thaiss, C.A., Levy, M., Grosheva, I., Zheng, D., Soffer, E., Blacher, E., Braverman, S., Tengeler, A.C., Barak, O., Elazar, M., et al. (2018). Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection. *Science* 359, 1376–1383.
- Tojo, R., Suárez, A., Clemente, M.G., de los Reyes-Gavilán, C.G., Margolles, A., Gueimonde, M., and Ruas-Madiedo, P. (2014). Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis. *World J Gastroenterol* 20, 15163–15176.
- Torres, J., Mehandru, S., Colombel, J.-F., and Peyrin-Biroulet, L. (2017). Crohn's disease. *The Lancet* 389, 1741–1755.
- Travis, S.P.L., Schnell, D., Krzeski, P., Abreu, M.T., Altman, D.G., Colombel, J.-F., Feagan, B.G., Hanauer, S.B., Lémann, M., Lichtenstein, G.R., et al. (2012). Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). *Gut* 61, 535–542.
- Treuting, P.M., Arends, M.J., and Dintzis, S.M. (2018). Upper Gastrointestinal Tract. In *Comparative Anatomy and Histology*, (Elsevier), pp. 191–211.
- Turnbaugh, P.J., Bäckhed, F., Fulton, L., and Gordon, J.I. (2008). Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. *Cell Host & Microbe* 3, 213–223.
- Turner, J.R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology* 9, 799–809.
- Tyakht, A.V., Kostyukova, E.S., Popenko, A.S., Belenikin, M.S., Pavlenko, A.V., Larin, A.K., Karpova, I.Y., Selezneva, O.V., Semashko, T.A., Ospanova, E.A., et al. (2013). Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. *Nat Commun* 4, 2469.
- Ungaro, R., Mehandru, S., Allen, P.B., Peyrin-Biroulet, L., and Colombel, J.-F. (2017). Ulcerative colitis. *The Lancet* 389, 1756–1770.
- Vaiserman, A.M., Koliada, A.K., and Marotta, F. (2017). Gut microbiota: A player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing Research Reviews* 35, 36–45.
- Van Assche, G., Dignass, A., Panes, J., Beaugerie, L., Karagiannis, J., Allez, M., Ochsenkühn, T., Orchard, T., Rogler, G., Louis, E., et al. (2010). The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's and Colitis* 4, 7–27.
- Van Dijk, S.J., Tellam, R.L., Morrison, J.L., Muhlhausler, B.S., and Molloy, P.L. (2015). Recent developments on the role of epigenetics in obesity and metabolic disease. *Clin Epigenetics* 7.
- Vanhoutvin, S.A.L.W., Troost, F.J., Hamer, H.M., Lindsey, P.J., Koek, G.H., Jonkers, D.M.A.E., Kodde, A., Venema, K., and Brummer, R.J.M. (2009). Butyrate-induced transcriptional changes in human colonic mucosa. *PLoS ONE* 4, e6759.
- Verdot, C., Torres, M., Salanave, B., and Deschamps, V. (2017). Children and adults body mass index in France in 2015. Results of the Esteban study and trends since 2006. *Bull Epidémiol Hebd* 234–241.

- Vidal recos (2015). Vidal recos, recommandations en pratique : 185 stratégies thérapeutiques (Vidal).
- Waetjen, L.E., Liao, S., Johnson, W.O., Sampsel, C.M., Sternfield, B., Harlow, S.D., and Gold, E.B. (2007). Factors associated with prevalent and incident urinary incontinence in a cohort of midlife women: a longitudinal analysis of data: study of women's health across the nation. *Am. J. Epidemiol.* 165, 309–318.
- Wang, F., and Muller, S. (2015). Manipulating Autophagic Processes in Autoimmune Diseases: A Special Focus on Modulating Chaperone-Mediated Autophagy, an Emerging Therapeutic Target. *Frontiers in Immunology* 6.
- Wang, Y., Chen, X., Song, Y., Caballero, B., and Cheskin, L.J. (2008). Association between obesity and kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int.* 73, 19–33.
- Wędrychowicz, A., Zając, A., and Tomasik, P. (2016). Advances in nutritional therapy in inflammatory bowel diseases: Review. *World Journal of Gastroenterology* 22, 1045–1066.
- Williams, L.M., Campbell, F.M., Drew, J.E., Koch, C., Hoggard, N., Rees, W.D., Kamolrat, T., Thi Ngo, H., Steffensen, I.-L., Gray, S.R., et al. (2014). The Development of Diet-Induced Obesity and Glucose Intolerance in C57Bl/6 Mice on a High-Fat Diet Consists of Distinct Phases. *PLoS One* 9.
- Wilson, R.A., Deasy, W., Stathis, C.G., Hayes, A., and Cooke, M.B. (2018). Intermittent Fasting with or without Exercise Prevents Weight Gain and Improves Lipids in Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients* 10.
- Winpenney, E.M., Penney, T.L., Corder, K., White, M., and van Sluijs, E.M.F. (2017). Changes in consumption of added sugars from age 13 to 30 years: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies: Change in sugar intake from age 13 to 30. *Obesity Reviews* 18, 1336–1349.
- Wiseman, M. (2008). The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 67, 253–256.
- Woodmansey, E.J. (2007). Intestinal bacteria and ageing. *Journal of Applied Microbiology* 102, 1178–1186.
- World Gastroenterology Organisation Global (2015). Maladies inflammatoires chroniques intestinales : une approche globale (World Gastroenterology Organisation Global Guidelines).
- Wu, G.D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S.A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W.A., Knight, R., et al. (2011). Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* 334, 105–108.
- Yang, Z., Goronzy, J.J., and Weyand, C.M. (2015). Autophagy in autoimmune disease. *Journal of Molecular Medicine* 93, 707–717.
- Yatsunenkov, T., Rey, F.E., Manary, M.J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M.G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R.N., Anokhin, A.P., et al. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 486, 222–227.

Zhang, H., DiBaise, J.K., Zuccolo, A., Kudrna, D., Braidotti, M., Yu, Y., Parameswaran, P., Crowell, M.D., Wing, R., Rittmann, B.E., et al. (2009). Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A* *106*, 2365–2370.

Zhang, H., Zheng, L., Chen, J., Fukata, M., Ichikawa, R., Shih, D.Q., and Zhang, X. (2017). The protection role of Atg1611 in CD11c+ dendritic cells in murine colitis. *Immunobiology* *222*, 831–841.

Zhuang, X., Xiong, L., Li, L., Li, M., and Chen, M. (2017). Alterations of gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *32*, 28–38.

Zimmer, J., Lange, B., Frick, J.-S., Sauer, H., Zimmermann, K., Schwartz, A., Rusch, K., Klosterhalfen, S., and Enck, P. (2012). A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *Eur J Clin Nutr* *66*, 53–60.

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 16 septembre 2019

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

Présenté par : Djésia ARNONE

Sujet : Influence de régimes hypercaloriques sur l'inflammation intestinale : rôle du microbiote intestinal et mécanismes physiopathologiques dans un contexte de Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI)

Jury :

Président : Mme Brigitte LEININGER-MULLER, Professeur
 Directeur : Mme Natacha DREUMONT, Maître de conférences
 Juges : Mr Laurent PEYRIN-BIROULET, Professeur
 Mr Jean-Yves JOUZEAU, Professeur
 Mme Pauline BILLARD, Pharmacien

Vu,

Nancy, le 22 10 / 2019

Le Président du Jury

Directeur de Thèse

Mme LEININGER-MULLER

Mme DREUMONT

Vu et approuvé,

Nancy, le 19.08.2019

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Vu,

Nancy, le 27 AOUT 2019

Le Président de l'Université de Lorraine,



Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement :

10800

TITRE

**Influence de régimes hypercaloriques sur l'inflammation intestinale :
rôle du microbiote intestinal et mécanismes physiopathologiques dans
un contexte de Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
(MICI)**

Thèse soutenue le 16 septembre 2019

Par Djésia ARNONE

RÉSUMÉ :

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) se caractérisent par une inflammation sévère de la muqueuse liée à une altération du microbiote intestinal et une hyperactivité du système immunitaire. La prévalence de ces pathologies ne cesse d'augmenter dans les pays fortement industrialisés, dans lesquels l'alimentation occidentale appelée aussi « Western Diet » est mise en cause dans de nombreuses pathologies telles que l'obésité, le diabète ou encore le cancer colorectal. Ce régime est caractérisé par sa forte teneur en sucres raffinés et en graisses saturées. Plusieurs travaux indiquent une association délétère entre surpoids/alimentation et MICI, et inversement, une restriction calorique semblerait avoir un effet bénéfique sur différentes pathologies inflammatoires. S'inscrivant dans le cadre de recherche de nouvelles prises en charges préventives des MICI, cette étude expérimentale a permis de montrer que les régimes enrichis en sucre ou en graisse aggravent significativement et de façon précoce la sévérité d'une colite chez la souris en appauvrissant la diversité du microbiote intestinal et en perturbant le mécanisme de l'autophagie des cellules intestinales. La poursuite de ces travaux permettra de comprendre de façon plus précise les mécanismes moléculaires impliqués dans la dysbiose intestinale retrouvée conjointement aux lésions inflammatoires observées et ainsi établir de véritables recommandations nutritionnelles permettant de prévenir ou réduire l'apparition des poussées inflammatoires.

MOTS CLÉS : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) – Inflammation – Microbiote intestinal – Alimentation – Colite – Western Diet

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Dr Natacha DREUMONT Maitre de Conférence	Nutrition Génétique et Exposition aux risques environnementaux (N-GERE) Inserm U1256 Équipe 2 Pr Laurent PEYRIN- BIROULET	Expérimentale <input checked="" type="checkbox"/> Bibliographique <input type="checkbox"/> Thème 4

Thèmes

1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle