



**HAL**  
open science

# Rôle du microbiote dans les pathologies hépatiques : une révolution pour la prise en charge des patients ?

Fanny Ravache

► **To cite this version:**

Fanny Ravache. Rôle du microbiote dans les pathologies hépatiques : une révolution pour la prise en charge des patients ?. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. dumas-01757171

**HAL Id: dumas-01757171**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01757171>**

Submitted on 12 Jun 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*sous le sceau de l'Université Bretagne Loire*

Thèse en vue du  
**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

présentée par  
**Fanny Ravache**

---

**Rôle du microbiote  
intestinal dans les  
pathologies hépatiques :  
une révolution pour la prise  
en charge des patients ?**

**Thèse soutenue à Rennes  
le 28 avril 2016**

devant le jury composé de :

**Elisabeth BOICHOT-LORANT**

Professeur à l'Université de Rennes 1 / Directeur de thèse et *président*

**Vincent LAGENTE**

Professeur à l'Université de Rennes 1 / *Examineur*

**Marie-Pierre CHEMIN**

Docteur en Pharmacie / *Examineur*

## SERMENT DE GALIEN

**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 FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR »

**UNIVERSITÉ de Rennes 1, RENNES**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2015-2016**

**ENSEIGNANTS**

**Professeurs**

BOUSTIE Joël  
 BURGOT Gwenola  
 DONNIO Pierre Yves  
 FAILI Ahmad  
 FARDEL Olivier  
 FELDEN Brice  
 GAMBAROTA Giulio  
 GOUGEON Anne  
 LAGENTE Vincent  
 LE CORRE Pascal  
 LORANT (BOICHOT) Elisabeth  
 MOREL Isabelle  
 SERGENT Odile  
 SPARFEL-BERLIVET Lydie  
 TOMASI Sophie  
 URIAC Philippe  
 VAN DE WEGHE Pierre  
 VERNHET Laurent

**Professeurs associés**

BUREAU Loïc  
 DAVOUST Noëlle

**Professeurs émérites**

CILLARD Josiane  
 GUILLOUZO André

**Assistants hospitalo-universitaire**

GICQUEL Thomas

**ATER**

SMIDA Imen  
 PASCREAU Gaëtan  
 SAVARY Camille  
 ALHARETH Khairallah

**Maîtres de conférences**

ABASQ-PAOFI Marie-Laurence  
 ANINAT Caroline  
 AUGAGNEUR Yoann  
 BEGRICHE Karima  
 BOUSARGHIN Latifa  
 BRANDHONNEUR Nolwenn  
 BRUYERE Arnaud  
 BUNETEL Laurence  
 CHOLLET-KRUGLER Marylène  
 COLLIN Xavier  
 CORBEL Jean-Charles  
 DAVID Michèle  
 DELALANDE Olivier  
 DELMAIL David  
 DION Sarah  
 DOLLO Gilles  
 GILOT David  
 GOUAULT Nicolas  
 HITTI Eric  
 JEAN Mickaël  
 LECUREUR Valérie  
 LE FERREC Eric  
 LE PABIC Hélène  
 LEGOUIN-GARGADENNEC Béatrice  
 LOHEZIC-LE DEVEHAT Françoise  
 MARTIN-CHOULY Corinne  
 MINET Jacques  
 MOURET-PLEIBER Liza  
 NOURY Fanny  
 PINEL-MARIE Marie-Laure  
 PODECHARD Normand  
 POTIN Sophie  
 RENAULT Jacques  
 ROUILLON Astrid

## REMERCIEMENTS

### A mon Directeur et Président de thèse.

#### **Madame le Professeur Elisabeth BOICHOT-LORANT,**

*Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse et de présider ce jury,*

*Pour vos précieux conseils durant la rédaction de cette thèse, votre disponibilité et votre humanité,*

*Veillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude et le témoignage de mon profond respect.*

### A mes Juges.

#### **Monsieur le Professeur Vincent LAGENTE,**

*Je vous remercie d'avoir accepté de siéger parmi les membres du jury,*

*Je vous remercie également pour votre enseignement et le savoir que vous m'avez transmis au cours de mes études,*

*Veillez trouver ici le témoignage de ma plus haute considération.*

#### **Madame le Docteur Marie-Pierre CHEMIN,**

*Pour l'honneur que vous me faites par votre présence en acceptant d'être membre de ce jury,*

*Pour m'avoir si bien accueillie dans votre officine,*

*Pour votre encadrement, votre implication, le partage de vos connaissances et votre soutien à mon égard,*

*Recevez mes sincères remerciements et soyez assurée de toute mon estime.*

### A mes parents,

*Merci pour votre soutien, votre présence durant toutes ces années qui ont été plus ou moins faciles, pour avoir cru en moi et m'avoir encouragée dans mes choix,*

*Cette réussite universitaire et professionnelle est aussi la votre,*

*Recevez cette thèse en guise de remerciements avec tout mon amour.*

**A mon frère,**

*Avec tout l'amour d'une sœur pour son frère unique.*

*Pour tous ces moments passés ensemble...*

*Merci d'avoir toujours été là pour moi.*

**A mes grand-parents,**

*Pour votre bienveillance, vos attentions et votre présence,*

*Pour vos précieux conseils et votre gentillesse durant ces années d'études,*

*Merci pour vos encouragements à mon égard et votre accompagnement constant,*

*Trouvez dans cette thèse, le témoignage de toute mon affection.*

**A mes ami(e)s d'université,**

Celle rencontrée dès le premier jour : Océane. Je t'ai regardée, tu m'as regardée, et depuis on ne s'est jamais quittées.

Ceux de ma promo: Jess, Elo, Laura, Mélo, Thomas, Nico, Benji, Quentin, Charles, Mark, Guigui, Manon, JM, Anne-so, Jeanne, Brendan...

L'équipe de M2 : Marion, Suzie, Ben, Yasmine, Mathilde, Valentin, Tangi, Sarah, Perrine, Margot...

A vous tous,

*Merci pour votre sympathie, votre humour et votre amitié,*

*Pour toutes ces soirées et tous ces bons moments partagés et à venir,*

*Recevez par cet ouvrage mon amitié la plus sincère.*

**A mes ami(e)s et collègues des Laboratoires Pierre Fabre,**

Jojo, Cécile, Chacha, Arnela, Cricri d'amour, Marion, Johanna, Benji, Kevin, Marine, Evelyne, Marie, Aurélie...

*Ma carrière professionnelle a débuté en votre compagnie,  
Vous avez rendu chaque repas et chaque soirée inoubliables,  
Merci pour tous ces moments agréables partagés en entreprise et en dehors.  
Que la team #CCL dure toujours.*

**A l'équipe de la pharmacie CHEMIN,**

*Un grand merci pour la confiance que vous m'avez accordée en m'intégrant dans votre  
équipe, pour avoir participé à ma formation et pour l'expérience que vous m'avez apportée.  
Merci pour votre patience, vos conseils, votre gentillesse et pour tous les bons moments  
passés ensemble.*

## TABLE DES MATIERES

|                              |    |
|------------------------------|----|
| LISTE DES FIGURES.....       | 12 |
| LISTE DES TABLEAUX .....     | 15 |
| LISTE DES ABREVIATIONS ..... | 16 |
| INTRODUCTION .....           | 19 |

### - PARTIE 1 -

#### GENERALITES SUR LE MICROBIOTE INTESTINAL

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I DEFINITIONS.....</b>   | <b>22</b> |
| I.1 LES BACTERIES.....  | 22        |
| I.2 LE MICROBIOTE.....  | 23        |
| I.3 LE MICROBIOTE INTESTINAL .....  | 24        |
| <b>II COMPOSITION DU MICROBIOTE INTESTINAL .....</b>                          | <b>24</b> |
| II.1 LES MÉTHODES CULTURES-DÉPENDANTES.....                                   | 24        |
| II.2 LES METHODES CULTURES INDEPENDANTES.....                                 | 25        |
| <i>II.2.1 Les méthodes de séquençage.....</i>                                 | <i>27</i> |
| <i>II.2.2 Les méthodes d'empreintes.....</i>                                  | <i>28</i> |
| <i>II.2.3 Les puces à ADN .....</i>   | <i>28</i> |
| <i>II.2.4 L'hybridation in situ couplée à la cytométrie en flux.....</i>      | <i>28</i> |
| <i>II.2.5 La PCR quantitative (qPCR).....</i>                                 | <i>29</i> |
| <i>II.2.6 La métagénomique.....</i>   | <i>29</i> |
| II.3 LA COMPOSITION DU MICROBIOTE INTESTINAL.....                             | 29        |
| II.4 ORIGINE ET DEVELOPPEMENT DU MICROBIOTE INTESTINAL.....                   | 32        |
| <i>II.4.1 L'influence du mode d'accouchement.....</i>                         | <i>32</i> |
| <i>II.4.2 L'influence d'un accouchement prématuré.....</i>                    | <i>33</i> |
| <i>II.4.3 L'influence de l'alimentation .....</i>                             | <i>33</i> |
| <i>II.4.4 L'influence de l'environnement et des conditions d'hygiène.....</i> | <i>35</i> |
| <i>II.4.5 L'influence des traitements médicamenteux .....</i>                 | <i>35</i> |
| <i>II.4.6 L'influence du stress.....</i>                                      | <i>35</i> |
| <b>III FONCTIONS DU MICROBIOTE.....</b>                                       | <b>36</b> |
| III.1 SES FONCTIONS METABOLIQUES .....  | 36        |
| <i>III.1.1 Métabolisme glucidique .....</i>                                   | <i>36</i> |

|         |   |    |
|---------|---|----|
| III.1.2 | <i>Métabolisme protidique</i> .....                     | 37 |
| III.1.3 | <i>Métabolisme lipidique</i> .....                      | 37 |
| III.1.4 | <i>Biosynthèse de vitamines</i> .....                   | 38 |
| III.1.5 | <i>Métabolisme de xénobiotiques</i> .....               | 38 |
| III.2   | SON ROLE DE PROTECTION ET DE BARRIERE.....              | 39 |
| III.3   | SON ROLE DANS LA MATURATION DU SYSTEME IMMUNITAIRE..... | 40 |

## - PARTIE 2 -

### INFLUENCE DU MICROBIOTE INTESTINAL DANS LA MALADIE HEPATIQUE ALCOOLIQUE

|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| <b>I</b>    | <b>L'AXE FOIE - INTESTIN</b> .....   | <b>44</b> |
| <b>II</b>   | <b>EPIDEMIOLOGIE DE LA CONSOMMATION D'ALCOOL</b> .....                     | <b>47</b> |
| <b>III</b>  | <b>EVOLUTION DES MALADIES ALCOOLIQUES DU FOIE</b> .....                    | <b>48</b> |
| <b>IV</b>   | <b>METABOLISME DE L'ALCOOL</b> .....                                       | <b>50</b> |
| <b>V</b>    | <b>EFFETS DE L'ALCOOL SUR LA COMPOSITION DU MICROBIOTE</b> .....           | <b>53</b> |
| <b>VI</b>   | <b>EFFETS DE L'ALCOOL SUR LA BARRIERE INTESTINALE</b> .....                | <b>56</b> |
| <b>VII</b>  | <b>CONSEQUENCES DE LA DYSBIOSE ET DE LA PERMEABILITE INTESTINALE</b> ..... | <b>58</b> |
| <b>VIII</b> | <b>TRAITEMENTS</b> .....   | <b>61</b> |
| VIII.1      | LES TRAITEMENTS CLASSIQUES.....  | 62        |
| VIII.1.1    | <i>Les corticoïdes</i> .....   | 62        |
| VIII.1.2    | <i>La Pentoxifylline</i> .....   | 62        |
| VIII.1.3    | <i>Les anti-oxydants</i> .....   | 63        |
| VIII.1.4    | <i>Les anti-TNF-<math>\alpha</math></i> .....                              | 63        |
| VIII.1.5    | <i>La transplantation</i> .....  | 63        |
| VIII.2      | LES TRAITEMENTS CIBLANT LE MICROBIOTE.....                                 | 63        |
| VIII.2.1    | <i>Les antibiotiques</i> .....   | 63        |
| VIII.2.2    | <i>Les probiotiques</i> .....  | 64        |
| VIII.2.3    | <i>Les prébiotiques</i> .....  | 67        |
| VIII.2.4    | <i>Les symbiotiques</i> .....  | 69        |

**- PARTIE 3 -****INFLUENCE DU MICROBIOTE INTESTINAL DANS LA MALADIE HEPATIQUE NON ALCOOLIQUE**

|            |   |            |
|------------|---|------------|
| <b>I</b>   | <b>EPIDEMIOLOGIE DE L'OBESITE ET DE LA NAFLD .....</b>  | <b>71</b>  |
| <b>II</b>  | <b>DEFINITION DE L'HÉPATOPATHIE STÉATOSIQUE NON ALCOOLIQUE .....</b>                          | <b>72</b>  |
| <b>III</b> | <b>METABOLISME HEPATIQUE LIPIDIQUE .....</b>  | <b>75</b>  |
| <b>IV</b>  | <b>DYSBIOSE ET SIBO DANS LA NAFLD .....</b>   | <b>76</b>  |
| <b>V</b>   | <b>L'INFLAMMATION DE BAS GRADE.....</b>   | <b>80</b>  |
| <b>VI</b>  | <b>CONSÉQUENCES FONCTIONNELLES DE LA DYSBIOSE ET DE LA PERMÉABILITÉ<br/>INTESTINALE .....</b> | <b>83</b>  |
| VI.1       | RÉGULATION DE L'HOMÉOSTASIE ÉNERGÉTIQUE .....   | 83         |
| VI.2       | LA PRODUCTION ENDOGENE D'ALCOOL.....  | 85         |
| VI.3       | LA MODIFICATION DU METABOLISME DE LA CHOLINE.....   | 86         |
| VI.4       | MODULATION DE LA BILE .....   | 88         |
| VI.5       | MODULATION DU SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE .....  | 90         |
| <b>VII</b> | <b>TRAITEMENTS .....</b>  | <b>92</b>  |
| VII.1      | LES TRAITEMENTS CLASSIQUES .....  | 92         |
| VII.1.1    | <i>Les mesures hygiéno-diététiques.....</i>   | <i>92</i>  |
| VII.1.2    | <i>Les molécules cytoprotectrices.....</i>  | <i>92</i>  |
| VII.1.3    | <i>Les molécules anti-oxydantes.....</i>  | <i>94</i>  |
| VII.1.4    | <i>Les molécules hypolypémiantes.....</i>   | <i>95</i>  |
| VII.1.5    | <i>Les anti-diabétique.....</i>   | <i>96</i>  |
| VII.1.6    | <i>Les Inhibiteur de lipases.....</i>   | <i>97</i>  |
| VII.1.7    | <i>La chirurgie bariatrique.....</i>  | <i>98</i>  |
| VII.2      | LES TRAITEMENTS CIBLANT LE MICROBIOTE.....  | 99         |
| VII.2.1    | <i>Les antibiotiques.....</i>   | <i>99</i>  |
| VII.2.1    | <i>Les probiotiques.....</i>  | <i>102</i> |
| VII.2.2    | <i>Les prébiotiques.....</i>  | <i>104</i> |
| VII.2.3    | <i>Les symbiotiques.....</i>  | <i>105</i> |
|            | <b>CONCLUSION .....</b>   | <b>107</b> |
|            | <b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>   | <b>111</b> |



## LISTE DES FIGURES

|  |    |
|--|----|
| Figure 1 : Structure et formes des bactéries .....   | 23 |
| Figure 2: Nombre et répartition des espèces bactériennes chez l'Homme .....  | 23 |
| Figure 3: Les constituants du ribosome.....  | 26 |
| Figure 4 : Régions hypervariables de la structure secondaire de l'ARNr 16S d' <i>E. Coli</i> .....   | 27 |
| Figure 5: Anatomie du tractus digestif, principaux phyla bactériens, et leur abondance au sein de chaque niche .....   | 31 |
| Figure 6 : Abondance des principaux contributeurs pour chaque entérotipe.....  | 32 |
| Figure 7 : Les cellules de l'épithélium intestinal .....   | 40 |
| Figure 8 : Système immunitaire intestinal.....   | 41 |
| Figure 9 : Anatomie du Foie .....  | 44 |
| Figure 10 : Schéma d'un lobule hépatique .....   | 45 |
| Figure 11 : Les cellules constituant un foie sain .....  | 46 |
| Figure 12: Consommation mondiale d'alcool par personne >15 ans, en 2010 (en Litre).....  | 47 |
| Figure 13: Evolution de la maladie alcoolique du foie.....   | 48 |
| Figure 14 : Métabolisme oxydatif de l'éthanol.....   | 50 |
| Figure 15 : Conséquence de l'éthanol sur le microbiote et la muqueuse intestinale.....   | 52 |
| Figure 16 : Nombre de colonies viables de bactéries anaérobies totales du tractus gastro-intestinal de souris exposées à l'éthanol pendant 3 semaines, comparé à des souris contrôle (CFUs/segment)..... | 53 |
| Figure 17: Evolution de la perméabilité intestinale après trois semaines d'abstinence chez des patients alcooliques.....   | 57 |
| Figure 18 : Causes et impacts de la translocation bactérienne .....  | 58 |
| Figure 19 : Cascade de signalisation LPS/TLR-4 chez les patients atteints d'ALD.....   | 60 |
| Figure 20: Evolution du taux d'ALT après cinq jours de traitement par probiotiques ou vitamines, chez des patients atteints d'ALD, (U/L).....  | 65 |
| Figure 21: Effets du prétraitement par LGG sur le niveau d'ARNm des protéines des jonctions serrées de l'iléon de souris, après une exposition à l'alcool de 6h.....                                     | 66 |
| Figure 22: Capacité phagocytaire des témoins, des patients traités et des témoins cirrhotiques .....   | 67 |

|  |     |
|--|-----|
| Figure 23: Amélioration de la stéatohépatite alcoolique par induction de l'expression des Reg3g et réduction de la prolifération bactérienne intestinale .....               | 68  |
| Figure 24: Variation du nombre de Lactobacillus fécal pré- et post- traitement par symbiotique ou placebo (CFU/g).....   | 69  |
| Figure 25 : Prévalence de l'obésité (chez l'homme) >18 ans, d'IMC >30, en 2014.....  | 71  |
| Figure 26: Evolution de l'obésité en France .....  | 72  |
| Figure 27: Evolution de la NAFLD .....   | 73  |
| Figure 28 : Métabolisme hépatique des acides gras libres.....  | 76  |
| Figure 29 : L'interaction entre les facteurs alimentaire, le microbiote et la barrière intestinal dans la NAFLD.....   | 80  |
| Figure 30 : Concentration plasmatique des LPS chez l'Homme en fonction des habitudes alimentaires.....   | 81  |
| Figure 31 : La perméabilité intestinale entre (A) contrôles sains et NAFLD et entre (B) sévérité de la stéatose .....  | 82  |
| Figure 32 : Prévalence de la SIBO en fonction de la sévérité de la stéatose .....  | 82  |
| Figure 33 : Régulation par le microbiote intestinal du stockage énergétique.....   | 84  |
| Figure 34 : taux d'éthanol expiré en fonction du type et de l'âge des souris.....  | 85  |
| Figure 35 : Métabolisme de la Choline .....  | 87  |
| Figure 36 : Développement de la NAFLD médiée par le microbiote à travers l'axe acide biliaire/FXR intestinal/céramide.....   | 89  |
| Figure 37 : Implication de la communication système eCB/LPS à travers le microbiote.....   | 91  |
| Figure 38 : Evolution de la fibrose et de l'inflammation hépatique chez des sujets NASH, après 6 mois de traitement par vitamines C et E .....                               | 95  |
| Figure 39 : Les techniques de la chirurgie bariatrique.....  | 98  |
| Figure 40 : Evolution du taux de LPS plasmatique (A), d'E. coli (B) et de l'expression des TNF- $\alpha$ au niveau du jéjunum chez les souris traitées par Norfloxacin ..... | 100 |
| Figure 41 : Taux d'éthanol dans l'air expiré de souris obèses traitées par néomycine pendant 5 jours .....   | 101 |
| Figure 42 : Impact des antibiotiques sur l'axe acides biliaires/FXR intestinal/céramide et le taux de TG .....   | 102 |
| Figure 43 : A) Taux sérique du facteur FIAF. B) Charge des lipoprotéines en TG. C) Pourcentage de graisse corporelle .....   | 103 |

|   |     |
|---|-----|
| Figure 43 : Evolution du poids, de la masse grasse et de la graisse abdominale, chez les sujets traités par FOS vs témoins..... | 104 |
| Figure 45 : Evolution de l'IMC chez les patients traités par symbiotiques et des ceux traités par placebo .....                 | 105 |
| Figure 46 : Effet du symbiotique sur les taux de TLR4 et CD14 hépatique, de E. coli intestinal                                  | 106 |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| Tableau 1: Evolution du microbiote associé à la prise chronique d'alcool lors d'études précliniques et cliniques..... | 55 |
| Tableau 2: Calcul du score de Child Pugh.....   | 61 |
| Tableau 3 : Interprétation de l'IMC chez l'adulte .....   | 71 |
| Tableau 4 : NAFLD Activity Score.....   | 74 |
| Tableau 5 : Evolution du microbiote chez l'adulte obèse (IMC >30) .....   | 77 |
| Tableau 6 : Evolution du microbiote chez les patients atteints d'ALD .....  | 79 |

## LISTE DES ABREVIATIONS

|              |   |
|--------------|---|
| <b>AASLD</b> | American association for the study of liver disease                 |
| <b>ADH</b>   | alcool déshydrogénase   |
| <b>ADN</b>   | Acide désoxyribonucléosidique                                       |
| <b>AGCC</b>  | Acide gras à courte chaîne  |
| <b>ALD</b>   | alcoholic liver disease   |
| <b>ALDH</b>  | aldéhyde déshydrogénase   |
| <b>ALT</b>   | Alanine amino-transférase   |
| <b>AMM</b>   | Autorisation de mise sur le marché                                  |
| <b>ARNm</b>  | Acide ribonucléique messenger                                       |
| <b>ARNr</b>  | Acide ribonucléique ribosomique                                     |
| <b>ATP</b>   | Adénosine triphosphate  |
| <b>CFES</b>  | Comité français d'éducation pour la santé                           |
| <b>DC</b>    | Dendritic cell  |
| <b>DGGE</b>  | Denaturing gradient gel electrophoresis                             |
| <b>eCB</b>   | Endocannabinoïde  |
| <b>FAO</b>   | Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture |
| <b>FIAF</b>  | Fasting-induced adipocyte factor                                    |
| <b>FISH</b>  | Fluorescent In-Situ Hybridization                                   |
| <b>FMO</b>   | Flavine-monooxygénase   |
| <b>FOS</b>   | fructo-oligosaccharide  |
| <b>FXR</b>   | Farnesoid X receptor  |
| <b>GOS</b>   | galacto-oligosaccharide   |
| <b>HSC</b>   | Hepatic stellar cell  |
| <b>IL</b>    | Interleukine  |
| <b>IMC</b>   | Indice de masse corporelle  |
| <b>INR</b>   | Internation normalized ratio  |
| <b>KC</b>    | Kupffer Cell  |
| <b>LB</b>    | Lymphocyte B  |
| <b>LBP</b>   | Lipopolysaccharide binding protein                                  |
| <b>LPL</b>   | Lipoprotéine lipase   |

|               |   |
|---------------|---|
| <b>LPS</b>    | Lipopolysaccharide                                  |
| <b>LT</b>     | Lymphocyte T  |
| <b>MELD</b>   | Model for end-stage liver disease                   |
| <b>MEOS</b>   | Microsomal ethanol oxydation system                 |
| <b>MLN</b>    | Mesenteric lymph nodes                              |
| <b>MMP</b>    | Métallo-protéinase matricielle                      |
| <b>NADPH</b>  | Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase |
| <b>NAFLD</b>  | Nonalcoholic fatty liver disease                    |
| <b>NAFL</b>   | Nonalcoholic fatty liver                            |
| <b>NAS</b>    | NAFLD activity score                                |
| <b>NASH</b>   | Nonalcoholic steatohepatitis                        |
| <b>NK</b>     | Natural killer                                      |
| <b>NKT</b>    | Natural killer T                                    |
| <b>OMS</b>    | Organisation mondiale de la santé                   |
| <b>OTU</b>    | Operational taxonomic unit                          |
| <b>PAMPs</b>  | Pathogen-associated molecular pattern               |
| <b>PRR</b>    | Pattern recognition receptor                        |
| <b>qPCR</b>   | Quantitative polymerase chain reaction              |
| <b>PtdCho</b> | Phosphatidylcholine                                 |
| <b>RE</b>     | Réticulum endoplasmique                             |
| <b>ROS</b>    | Reactive oxygen species                             |
| <b>SAF</b>    | Steatosis activity fibrosis                         |
| <b>SIBO</b>   | Small intestinal bacterial overgrowth               |
| <b>TG</b>     | Triglycéride  |
| <b>TLR</b>    | Toll-like receptor                                  |
| <b>TMA</b>    | Triméthylamine                                      |
| <b>TMAO</b>   | Triméthylamine-N-oxide                              |
| <b>TNF</b>    | Tumor necrosis factor                               |
| <b>TRLFP</b>  | Terminal restriction fragment length polymorphism   |
| <b>UDCA</b>   | Ursodésoxycholic acid                               |
| <b>UFC</b>    | Unité formant une colonie                           |
| <b>VLDL</b>   | Very-low-density protein                            |



## INTRODUCTION

Les bactéries, organismes unicellulaires, sont les premiers êtres vivants apparus sur terre il y a environ 3,8 milliards d'années.

On identifie chez l'homme de nombreux sites colonisés de façon continue par des microorganismes (peau, bouche, système digestif...). La nature et la densité des microorganismes qui peuplent chacun de ces sites sont variables, et l'on regroupe sous le terme de microbiote l'ensemble des populations qui colonisent un site. Au niveau du tractus gastro-intestinal, la communauté bactérienne est estimée à  $10^{14}$  bactéries et est composée de centaines d'espèces différentes. Cette communauté, considérée comme un véritable « organe », à la population bactérienne la plus dense est appelée microbiote intestinal. A l'âge adulte chez des sujets sains, ce microbiote est équilibré, c'est l'eubiose. Cette stabilité est toutefois relative puisque le microbiote est soumis à de multiples facteurs pouvant le modifier et le déréguler. Parmi ces facteurs, notre style de vie et notre mode alimentaire jouent un rôle primordial et peut modifier directement ou indirectement l'environnement gastro-intestinal. Ce dérèglement, défini par le terme de dysbiose, n'est autre qu'un déséquilibre entre les bactéries commensales et les bactéries pathogènes du microbiote.

En raison de son importance qualitative et quantitative, le microbiote intestinal représente un nouveau terrain d'étude pour comprendre son rôle dans diverses pathologies hépatiques telles que les hépatopathies alcooliques et non alcooliques. Dans ces deux pathologies, l'atteinte hépatique débute par une stéatose (accumulation de triglycérides dans les hépatocytes) pouvant évoluer vers un état inflammatoire (hépatite). La maladie peut ensuite évoluer vers une fibrose, une cirrhose et dans les stades les plus avancés vers un hépatocarcinome. Après l'ère de la bactériologie classique, les techniques d'exploration du microbiote ont été révolutionnées. Les données ainsi générées sont considérables et ont permis de décrire plus précisément cette communauté bactérienne intestinale, ses variations et conduisent à formuler de nouvelles hypothèses quant au rôle que pourrait jouer ce microbiote dans les pathologies hépatiques.

Cette thèse bibliographique portera dans une première partie sur les généralités du

microbiote intestinal, l'évolution de sa composition au cours de la vie chez l'Homme, mais aussi sur les fonctions biologiques que le microbiote apporte à son hôte.

Puis, dans une deuxième partie, il sera fait un point sur les récentes découvertes où la dysbiose est mise en cause dans la survenue des pathologies hépatiques alcooliques et non alcooliques.

Seront également traitées les perspectives sur l'exploration thérapeutique avec les prébiotiques, probiotiques et antibiotiques.

**- PARTIE 1 -**

**GENERALITES SUR LE MICROBIOTE INTESTINAL**

# I Définitions

## I.1 Les bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires, des procaryotes, de petite taille et qui présentent une structure cellulaire simple.

Certaines d'entre elles sont enveloppées d'une couche externe, appelée capsule, protégeant la paroi cellulaire. Dans le cas de bactéries pathogènes, cette capsule conditionne leur virulence car elle les rend moins sensible à la phagocytose par chimiotactisme négatif.

La paroi cellulaire, riche en peptidoglycanes, est une enveloppe rigide assurant l'intégrité des bactéries et responsable de leur morphologie. On classe les bactéries en deux groupes suivant la teneur en peptidoglycanes de leur paroi : les bactéries à Gram positif (Gram(+)) ont une paroi épaisse et riche en peptidoglycanes, les bactéries à Gram négatif (Gram(-)) ont une paroi plus pauvre en peptidoglycanes. Elles contiennent un cytoplasme au sein duquel sont présents les ribosomes, qui assurent la synthèse protéique par traduction des ARN messagers (ARNm), le matériel nucléaire ou nucléïde (absence de noyau chez les procaryotes) et des plasmides, codant pour des protéines enzymatiques.

**On distingue les bactéries en fonction de leur morphologie et de leur mode respiratoire. Elles peuvent avoir des formes rondes (cocci ou coques), des formes allongées (bacilles), des formes intermédiaires (coccobacilles) et des formes plus ou moins spiralées (**

Figure 1). Leur mode respiratoire et leur besoin en oxygène ont également permis de définir plusieurs sortes de bactéries : les aérobies (l'oxygène y est nécessaire pour leur survie), les aérobies-anaérobies facultatives (la présence ou non d'oxygène leur est indifférente), les microaérophiles (l'oxygène y est nécessaire en faible teneur) et les anaérobies (l'oxygène leur est toxique). À titre d'exemple, *Escherichia coli.*, bactérie peuplant à 80% la flore intestinale de l'Homme, est une bacille Gram- et est aérobie-anaérobie facultative.

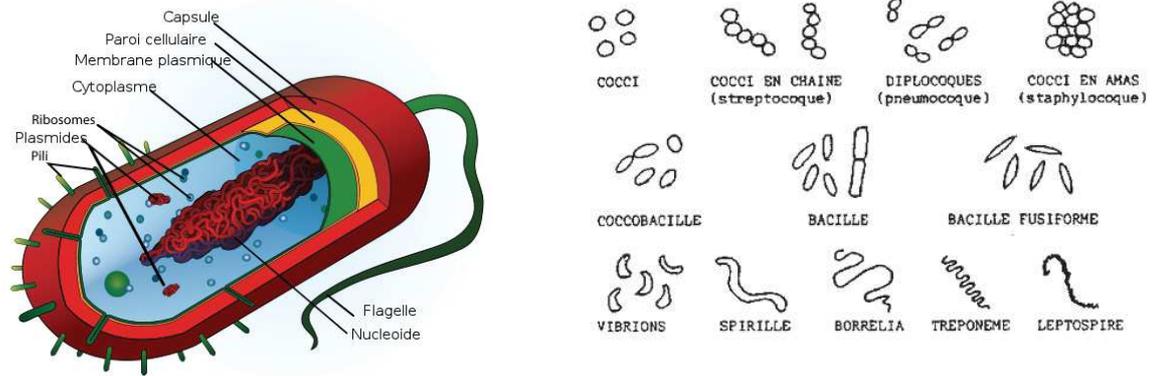


Figure 1 : Structure et formes des bactéries

## I.2 Le microbiote

L'Homme vit tout au long de sa vie une relation symbiotique avec des microorganismes. Cette population microbienne est très variée et rassemble des formes bactériennes, fongiques, virales ou encore des levures. À l'âge adulte, l'Homme n'héberge pas moins de cent mille milliards de bactéries sur sa peau, dans sa bouche, au niveau de son tube digestif, et dans la totalité de ses cavités. Le corps humain abrite ainsi plusieurs microbiotes tels que le microbiote intestinal, le microbiote vaginal ou encore le microbiote cutané.

D'après la revue publiée par Susan M. Huse en 2012 (1), l'étude de divers sites du corps sur 200 sujets a révélé une répartition bactérienne comme suit (Figure 2):

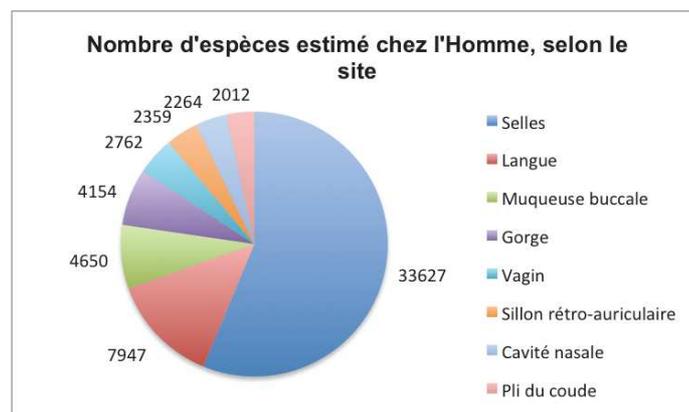


Figure 2: Nombre et répartition des espèces bactériennes chez l'Homme (1)

### **I.3 Le Microbiote intestinal**

Le microbiote intestinal désigne l'ensemble de la population de microorganismes vivant au sein du tractus gastro-intestinal en accord avec son hôte. Il est constitué d'un microbiote commensal (essentiellement des bactéries) et d'un microbiote transitoire (bactéries, champignons, virus). Les bactéries sont de loin les microorganismes les plus nombreux au sein du microbiote intestinal et dans la plupart des publications le terme de microbiote intestinal ne prend pas en compte les formes fongiques et virales.

Ainsi, le terme de microbiote intestinal sera, dans cette thèse, limité à la population bactérienne.

Chez l'adulte, le microbiote intestinal tapisse les 400m<sup>2</sup> de la surface intestinale et constitue le plus grand réservoir du microbiote de l'organisme humain (2). Il est considéré comme un véritable organe, effectuant la liaison entre des facteurs environnementaux (externes) et la biologie de l'hôte. Il est constitué d'au moins 10<sup>14</sup> bactéries (cent fois plus que les cellules composant le corps humain) et contient cent fois plus de gènes que le génome humain. En 2010, la première métaséquence du microbiome intestinal humain a ainsi été publiée (3), correspondant à l'analyse d'échantillons de selles de 124 sujets européens et à la caractérisation de plus de 3,3 millions de gènes. Le poids de ce microbiote intestinal varie de 2 à 5 kg et est composé de 300 à 1000 espèces différentes formant une biomasse hautement interactive (4,5). Dans cette vaste communauté, les bactéries anaérobies sont en supériorité par rapport aux bactéries aérobies avec une estimation de cent à mille bactéries anaérobies pour une bactérie aérobie (6). Au niveau intestinal, l'ensemble du génome du microbiote est appelé microbiome.

## **II Composition du microbiote intestinal**

### **II.1 Les méthodes cultures-dépendantes**

Initialement, la composition du microbiote était analysée en employant des techniques de culture utilisant une grande variété de milieux de culture afin de sélectionner différentes populations de microorganismes selon leurs exigences nutritives.

Dans une étude publiée en 1974 sur les microbiotes intestinaux de vingt sujets sains,

Moore et Holdeman ont pu isoler et identifier cent treize espèces bactériennes à partir des selles, par comptage au microscope (7). Ils ont ainsi pu estimer le pourcentage de représentants de chaque espèce. D'après leurs résultats, les dix espèces les plus représentées pouvaient être classées en trois phyla principaux : *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* et *Firmicutes*.

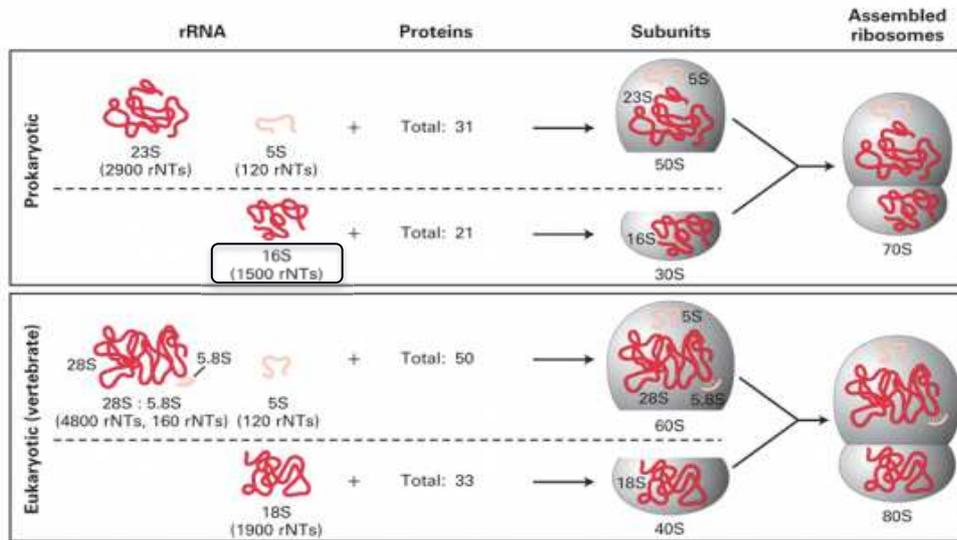
La limite principale de ces méthodes résidait dans leur capacité à distinguer différents groupes phylogénétiques et ne permettait pas de fournir une vision d'ensemble des microorganismes en présence. L'étude d'un écosystème microbien complexe tel que celui de l'intestin est d'autant plus compliqué que la majorité des espèces en présence est anaérobie stricte et il est donc difficile, voire impossible, de les cultiver dans des conditions aérobies. En effet, un contact avec de l'oxygène, même minime, peut tuer les bactéries anaérobies. Et le manque d'oxygène diminue la vitalité d'autres espèces aérobies. Ainsi, il est estimé que plus de 70% du microbiote intestinal n'est pas cultivable avec les méthodes actuelles (5,8). L'avancée des techniques d'analyses cultures-indépendantes a ainsi conduit à s'éloigner des techniques d'études traditionnelles.

## **II.2 Les méthodes cultures-indépendantes**

Un des principaux moteurs ayant permis une meilleure compréhension du microbiote intestinal a été l'avènement de la biologie moléculaire, dans les années 1990, apportant de nouveaux moyens pour l'étude du matériel génétique porté par ces organismes non cultivables par des méthodes classiques (9). Ces méthodes permettent aujourd'hui une détection et une reconnaissance fiable de bactéries difficilement cultivables.

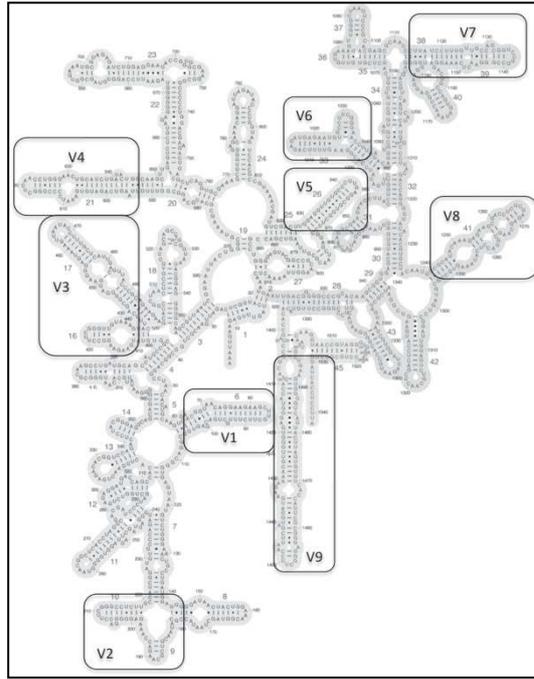
Leur principe consiste à déterminer, de manière directe ou indirecte, la séquence d'un gène ubiquitaire commun à toutes les bactéries, le gène de l'ARN ribosomique 16S ou ADNr 16S. Les ribosomes sont des complexes ribonucléoprotéiques. Leur fonction est de synthétiser les protéines. Ils sont constitués d'ARN ribosomiques (ARNr), qui portent l'activité catalytique, et de protéines ribosomiques. Les ribosomes sont constitués de deux sous-unités. La petite sous-unité est composée de l'ARNr 16S et d'une vingtaine de protéines. Elle permet la « lecture » de l'ARNm. La grande sous-unité est composée de l'ARN ribosomal 23S, de l'ARN ribosomal 5S et d'environ trente protéines, et une plus grosse qui se charge de la polymérisation des acides aminés pour former la protéine correspondante à l'ARNm « lu » par

la petite sous-unité (Figure 3).



**Figure 3: Les constituants du ribosome**

L'ARNr 16S est composé d'environ 1500 nucléotides et est constitué de régions conservées et de neuf régions hypervariables (V1 à V9) (Figure 4) (10). Ce gène code la sous-unité 16S de l'ARNr et est essentiellement utilisé en raison de sa structure très conservée dans toutes les bactéries. En effet, en plus de sa petite taille (environ 1,5 kb), il est constitué d'une succession de domaines conservés, qui permettent d'identifier des bactéries appartenant aux mêmes groupes phylogénétiques, et d'autres portions de séquences variables propres à un groupe de bactéries, nommées séquences signatures (espèce, genre, famille). Ce gène a également été choisi puisque des banques de données de séquences du gène 16S sont aujourd'hui très développées. A ce jour, plus de 92 000 séquences d'ARNr 16S sont à la disposition des scientifiques (9).



**Figure 4 : Régions hypervariables de la structure secondaire de l'ARNr 16S d'*E. Coli* (10).**

La revue publiée par Serikov *et al.* en 2010 (11) présente différentes méthodes cultures-indépendantes comportant chacune des avantages et des limites. Parmi les méthodes basées sur l'analyse de l'ARNr 16S, on retrouve les méthodes de séquençages, les méthodes d'empreintes (DGGE et TRFLP), les puces à ADN, la PCR quantitative (qPCR) et l'hybridation in-situ couplée à la cytométrie en flux (FISH). Ces méthodes permettent d'évaluer la composition mais ne donnent pas d'informations concernant les fonctions de ce microbiote.

### **II.2.1 Les méthodes de séquençage**

Le séquençage complet et le pyroséquençage, permettent une analyse globale du microbiote intestinal.

La technique de séquençage complet de l'ARN 16S (*Full-length 16S rRNA sequencing*) permet de déterminer l'étendue de la diversité bactérienne en classant les séquences d'ARNr 16S en fonction de leurs unités taxonomiques opérationnelles (OTUs), selon leur pourcentage d'identité de séquences. Une OTU est un regroupement d'individus d'une même souche bactérienne dont les séquences d'ARNs 16S présentent une similitude de plus de 99%. Des pourcentages supérieurs ou égaux à 97%, 95% et 90% indiquent respectivement, une espèce, un genre et une famille (12).

Le pyroséquençage amplifie des régions variables ciblées de l'ADNr 16S et permet une

meilleure résolution taxonomique puisque l'identification peut atteindre un genre ou une espèce. Cette méthode à haut débit est cent fois plus rapide que le séquençage complet.

### **II.2.2 Les méthodes d'empreintes**

Ces méthodes regroupent plusieurs techniques : l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) et le polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux (TRFLP). Ces méthodes permettent d'obtenir le profil ADN d'une communauté bactérienne.

La DGGE est basée sur la migration électrophorétique par gradient chimique, sur un gel dénaturant de polyacrylamide, des fragments du gène de l'ARNr 16S. Deux fragments seront ainsi différenciés en fonction de leur migration et leur proportion en paires de bases GC. De ce fait, les fragments présentant une taille similaire mais des séquences différentes, peuvent être séparés (11,13).

Contrairement à la DGGE qui utilise des fragments de gènes (régions hypervariables), cette technique utilise les amplicons de l'ADNr 16S total.

### **II.2.3 Les puces à ADN**

La technique des puces à ADN est une technologie basée sur l'hybridation. Elle permet l'identification phylogénétique des bactéries du microbiote intestinal. Les régions codant pour l'ARNr 16S sont amplifiées par PCR, marquées par fluorescence puis mises en contact avec des sondes de fragments d'ADN connue. La fluorescence résultant de cette hybridation est détectée et l'intensité du signal représente le niveau d'expression du gène correspondant (14).

### **II.2.4 L'hybridation in situ couplée à la cytométrie en flux**

Cette technique (FISH), utilise des sondes d'oligonucléotides fluorescentes fabriquées pour s'hybrider avec leurs cibles, des séquences uniques d'ARNr 16S. Ces cibles peuvent être des groupes bactériens (niveau de classification du phylum) mais aussi plus spécifiques et atteindre le niveau de classification du genre ou de l'espèce. Une étude de 2002 démontre qu'un ensemble de quinze sondes FISH peuvent identifier 90% du microbiote intestinal (15).

### II.2.5 La PCR quantitative (qPCR)

La PCR quantitative en temps réel repose sur la possibilité de suivre au cours du temps le processus de PCR à l'aide de la fluorescence. Cette technique utilise des sondes spécifiques ciblant des groupes bactériens pour l'amplification par PCR de l'ADNr 16S extrait de l'échantillon.

### II.2.6 La métagénomique

La métagénomique représente l'avancée la plus récente dans le développement de l'analyse du microbiote intestinal. Cette technique permet de passer de l'étude d'un gène ou d'une petite fraction du génome à celle de l'ADN génomique (génomique) bactérien dans son ensemble (16). C'est aujourd'hui la méthode la plus puissante pour analyser les fonctions métaboliques potentielles du microbiote intestinal en plus de sa composition.

La métagénomique ne permet pas un suivi des activités des micro-organismes ou de leurs expressions géniques. Ainsi, d'autres approches permettent d'évaluer les fonctions réellement exprimées par le microbiote intestinal. Les approches de métatranscriptomique et métaprotéomique permettent ainsi de déterminer les ARNm ou les protéines exprimées par le microbiote intestinal.

## II.3 La composition du microbiote intestinal

Chez l'adulte sain, le microbiote fécal est dominé par des espèces bactériennes anaérobies strictes. Elles représentent plus de 99% des bactéries présentes. Le microbiote fécal est dominé par deux phyla bactériens: *Bacteroidetes* et *Firmicutes* qui constituent près de 90% de la population totale (3). Les *Firmicutes* regroupent essentiellement des espèces anaérobies à Gram(+), très sensibles à l'oxygène et les *Bacteroidetes* correspondent aux bactéries anaérobies à Gram(-). Ces phyla sont présents tout le long du tractus gastro-intestinal avec des proportions fluctuantes en fonction du compartiment de ce tractus : on observe en effet, un gradient de concentration croissant dans le sens œsophage-colon. D'autres phyla tels que *Actinobacteria*, *Proteobacteria* et *Fusobacteria* sont présents en proportion moindre (11).

Le nombre d'unités bactériennes présentes dans les différents compartiments du tractus gastro-intestinal n'est pas homogène et varie longitudinalement tout au long de

l'intestin (Figure 5). Ainsi, on observe une population qui s'étend de  $10^1$  à  $10^3$  UFC (Unité formant une colonie) par millilitre de contenu au niveau de l'estomac. Ces bactéries doivent supporter des conditions de pH très acide (pH=2). Le genre *Helicobacter Pylori* du phylum *Proteobacteria* est dominant mais d'autres genres comme *Escherichia* ou *Acinetobacter* sont également présents (17,18). Les genres *Veillonella*, *Prevotella* et *Rothia* des phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* respectivement et le phylum *Fusobacteria* sont aussi représentés.

On retrouve environ  $10^3$  à  $10^7$  UFC/gr de contenu au niveau de l'intestin grêle, avec un niveau de colonisation bactérienne augmentant rapidement du duodénum à l'iléon. En effet, on passe de  $10^3$  à  $10^4$  UFC/gr dans le duodénum à environ  $10^5$  à  $10^6$  UFC/gr dans le jéjunum pour atteindre  $10^6$  à  $10^7$  UFC/gr dans l'iléon.

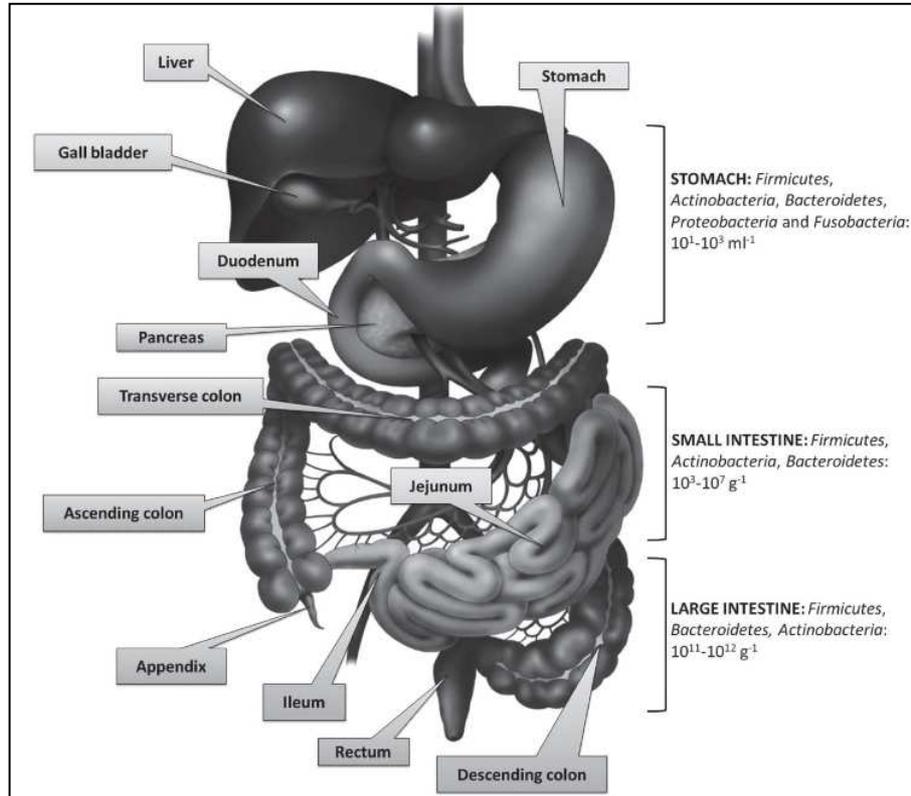
Le microbiote associé au duodénum et au jéjunum est proche de celui de l'estomac avec une dominance des aérobies-anaérobies facultatif. Le genre *Streptococcus* du phylum *Firmicutes* est largement dominant mais on peut retrouver également les genres *Lactobacillus*, *Staphylococcus* et *Enterococcus* de ce même phylum. Des bactéries anaérobies strictes appartenant au phylum *Bacteroidetes* et des genres *Veillonella* et *Clostridium* du phylum *Firmicutes* sont également retrouvées (18–20).

Le microbiote de l'iléon est beaucoup plus riche aussi bien quantitativement que qualitativement et proche de celui du colon. Il est composé en majorité par des bactéries anaérobies strictes, largement représentées par les genres *Bacteroides* et *Clostridium*. D'autres genres bactériens sont retrouvés comme les *Bifidobacterium* (phylum *Actinobacteria*), les *Lactobacillus*, les entérobactéries et les entérocoques.

Le colon, dépourvu d'oxygène, a la population bactérienne la plus dense avec environ  $10^{11}$  à  $10^{12}$  UFC/gr. Elle est dominée par deux phyla. Le premier, *Bacteroidetes* est le plus représenté par le sous-groupe *Bacteroides fragilis*. Le second, *Firmicutes*, rassemble des bactéries des genres *Clostridium*, *Eubacterium* et *Ruminococcus*. Il est généralement prépondérant chez les individus puisqu'il représente à lui seul deux tiers du microbiote dominant et regroupe également des bactéries appartenant aux populations sous-dominantes. Ainsi, le groupe *Clostridium leptum* incluant notamment l'espèce *Faecalibacterium prausnitzii* fait partie de la flore dominante et les bactéries anaérobies facultatives des genres *Lactobacillus* et *Enterococcus* appartiennent aux populations sous-dominantes. Le phylum *Actinobacteria*, notamment par les genres *Bifidobacterium* et *Atopobium*, et le phylum *Proteobacteria* par l'espèce *E. Coli* sont aussi présents (18–20).

Beaucoup de ces bactéries sont opportunistes mais la majorité sont de véritables symbiotes puisqu'elles ont des interactions bénéfiques entre elles et avec leur hôte.

Il existe également une variation transversale entre la lumière et la muqueuse intestinale (21).



**Figure 5: Anatomie du tractus digestif, principaux phyla bactériens, et leur abondance au sein de chaque niche (20)**

L'apport des études du métagénome (projet international MetaHIT) montre que les individus se répartissent en trois groupes distincts, ceci de manière indépendante de l'origine géographique, de l'état de santé (surpoids ou maladies inflammatoires du tube digestif), du sexe, ou de l'âge de ces individus (22). Cette classification, est spécifique des individus, ce qui a amené les chercheurs à utiliser la notion d' « entérotypes ».

Les chercheurs ont analysé le métagénome des bactéries issues d'échantillons intestinaux de trente-neuf individus répartis sur trois continents. Les résultats indiquent que tous ces individus peuvent être classés en trois groupes distincts, selon la nature des bactéries contenues dans le tube digestif mais aussi selon le type de fonctions qu'elles codent.

Ils ont pu détecter trois entérotypes distincts. L'entérotype 1 est dominé par le genre

*Bacteroides* (27%-39%), l'entérotipe 2 par le genre *Prevotella* (12%-29%) et l'entérotipe 3 dominé par le genre *Ruminococcus* (1%-3%) (Figure 6). L'entérotipe *Bacteroides* tire principalement son énergie de la fermentation des sucres. Ce genre est riche en gènes codants pour la synthèse de la biotine. L'entérotipe *Prevotella* est riche en gènes codants pour la synthèse de la thiamine. Ce genre tire son énergie à partir de la biodégradation des glycoprotéines de mucines. L'entérotipe *Ruminococcus* est également capable de dégrader les mucines.

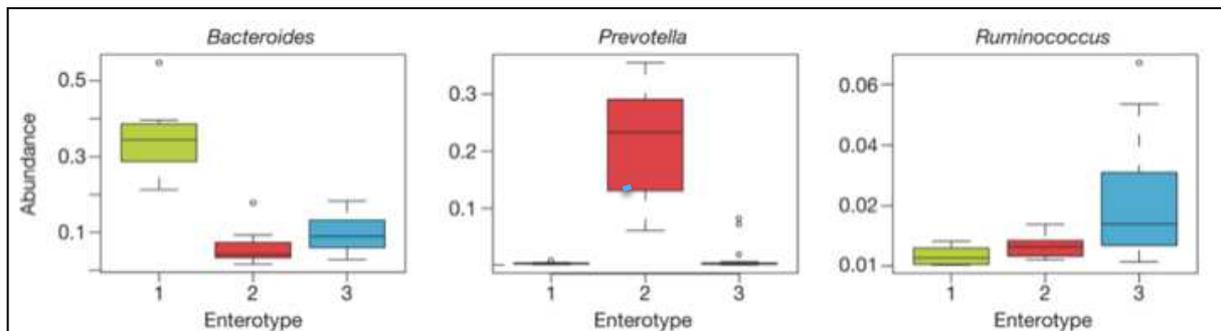


Figure 6 : Abondance des principaux contributeurs pour chaque entérotipe (22)

## II.4 Origine et développement du microbiote intestinal

Le fœtus humain vit dans un liquide amniotique stérile et serait colonisé par les bactéries au moment de la naissance. Cependant, bien que cette idée soit largement acceptée par la communauté scientifique, une étude tend aujourd'hui à prouver le contraire (23). Quoiqu'il en soit, la mise en place du microbiote suit un processus dynamique durant les trois premières années d'un individu, allant du mode d'accouchement à l'alimentation en passant par les conditions d'hygiène et les traitements médicamenteux éventuels. L'émergence du microbiote stable contribue ainsi à un système immunitaire pleinement fonctionnel et à des fonctions physiologiques comme les fonctions métaboliques et les fonctions de barrière.

### II.4.1 L'influence du mode d'accouchement

La primo-colonisation du tractus gastro-intestinal d'un nouveau-né dépend de la voie d'accouchement. Lors d'une naissance par voie basse, les nouveaux-nés sont rapidement colonisés par les microbiotes vaginal et fécal de la mère, tandis que par césarienne le

microbiote présente des similitudes avec la flore cutanée de la mère. Par conséquent, les enfants nés par césarienne présentent un microbiote différent et ont un plus faible taux de bifidobactéries et *Bacteroides fragilis* associé à une colonisation par *Clostridium difficile* plus rapide et plus intense par rapport aux enfants nés par voie basse. Ainsi, les trois premiers jours de vie du nouveau-né sont fortement influencés par le mode d'accouchement et son microbiote initial évolue fortement les premiers mois en raison de l'exposition continue à des bactéries de l'environnement (24). Après quelques semaines de vie, les bactéries aérobies facultatives consomment l'oxygène présent et permettent ainsi la croissance des bactéries anaérobies strictes (25). A six mois, les différences ne sont plus aussi significatives mais la différence de microbiote pendant cette période a des conséquences potentielles sur le système immunitaire et le risque de développer diverses pathologies (allergies, infections, diabète de type 1...).

#### **II.4.2 L'influence d'un accouchement prématuré**

Les enfants nés prématurément présentent un retard de colonisation et un nombre plus réduit d'espèces bactériennes, notamment concernant les bactéries anaérobies strictes et incluant le genre *Bacteroides*, comparés aux enfants nés à terme (26). Ce retard peut s'expliquer par le fait que ces enfants sont le plus souvent nés par césarienne, placés dans un environnement aseptisé et nécessitent parfois une lourde prise en charge (soins intensifs, antibiothérapies) (27).

#### **II.4.3 L'influence de l'alimentation**

Le régime alimentaire apparaît également comme ayant un rôle déterminant pour la définition du microbiote intestinal du tractus gastro-intestinal immature. Chez les enfants nourris au sein, la population bactérienne est plus uniforme et plus stable que celle des enfants nourris avec des laits industriels. Un enfant né à terme et nourri au sein possède un microbiote intestinal au sein duquel les *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* prédominent largement alors que chez un enfant nourri avec une formule infantile, les entérocoques et les entérobactéries dominent. Ces enfants ont un risque plus élevé de développer des allergies du fait de leur plus faible taux en *Bifidobacterium* (~30%). Le même taux d'*E.coli* est observé chez les deux types de nouveaux-nés (28–30).

C'est avec la diversification alimentaire que la composition de la flore augmente à la fois en diversité et en richesse, ce qui coïncide avec le passage d'une alimentation liquide à une alimentation solide, favorisant le développement des entérobactéries, *Streptococcus* et *Clostridium* (31). La flore anaérobie stricte plus diversifiée augmente également pendant cette phase, avec des bactéries plus spécifiques du côlon. Vers l'âge de trois ans, un équilibre des populations bactériennes intestinales est atteint, avec une biodiversité voisine de celle de l'adulte. Aussi, des études ont montré que l'adolescent possède un microbiote légèrement différent de celui de l'adulte avec une plus forte abondance des bactéries appartenant aux genres *Bifidobacterium* et *Clostridium* que celui de l'adulte (32).

Les changements alimentaires peuvent expliquer 57% des variations du microbiote, alors que les changements génétiques n'en expliquent que 12% (33).

Des études menées sur des souris axéniques (exempt de microbiote), auxquelles a été implanté un microbiote fécal humain ont pu montrer l'influence de l'alimentation sur le microbiote. Les souris nourries dans un premier temps par une alimentation pauvre en matières grasses ont montré une modification de leur microbiote avec une augmentation du phylum *Firmicutes* et une réduction en *Bacteroidetes* suite au passage à un régime riche en sucres et graisses, ou dit « régime Occidental ». Les sucres entraînent différentes dysbiose en fonction de leur nature. Un régime pauvre en sucres rapides et sucres lents provoque une croissance du phylum *Bacteroidetes* (34), alors qu'un régime riche en sucres lents entraîne une croissance des Bifidobactéries bénéfiques (35). Les sucres raffinés (sucres blanc, blond, roux) induisent quant à eux une surcroissance de l'espèce *Clostridium difficile* (36).

Une alimentation limitée en calories inhibe la croissance des *Clostridium coccoïdes* et des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacteria*, productrices majeures de butyrate (37) . Un régime végétarien, donc riche en fibres, mène à une augmentation de la production des acides gras à courte chaîne (AGCC), ce qui prévient la croissance d' *E. coli* et des *Enterobacteriaceae*.

Une étude faite sur des enfants du Burkina Faso a montré un microbiote significativement plus riche en *Bacteroidetes* mais aussi plus pauvre en *Enterobacteraceae* par rapport aux enfants européens, sûrement dû à leur alimentation plus riche en fibres (38).

Toutes ces dysbioses peuvent affecter le métabolisme gastro-intestinal et l'homéostasie du système immunitaire.

#### **II.4.4 L'influence de l'environnement et des conditions d'hygiène**

L'environnement joue un rôle dans le développement du microbiote. En effet, des différences de microbiote ont été observées entre les enfants nés dans les pays industrialisés et les pays en voie de développement. Ces différences concernent notamment l'évolution de l'implantation du microbiote. On observe un retard de colonisation par les bactéries des genres *Bifidobacterium*, *Bacteroides* ou *Enterococcus* chez les nouveau-nés des pays industrialisés, quelles que soient les conditions d'accouchement. Les conditions d'hygiène périnatale et les procédures d'obstétrique beaucoup plus strictes dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement, réduisant l'exposition aux microorganismes de la mère et de l'environnement seraient à l'origine de ce retard (39).

#### **II.4.5 L'influence des traitements médicamenteux**

L'antibiothérapie est le principal facteur de risque associé à l'altération du microbiote intestinal. Le manque de spécificité attribué à certains antibiotiques peut être responsable de divers désordres au niveau du microbiote, le macrolide ayant un impact prononcé sur ce dernier. D'après une récente étude (40), l'exposition d'un nourrisson aux antibiotiques avant ses six premiers mois, ou à plusieurs reprises pendant la petite enfance, est associée à une augmentation de la masse corporelle chez les enfants en bonne santé. Une autre étude a démontré que les traitements antibiotiques réduisent la diversité des espèces du microbiote fécale des nourrissons et retardent la colonisation par des espèces bénéfiques comme les *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium* (41). De tels effets tendent à souligner l'importance d'une utilisation judicieuse des antibiotiques pendant la petite enfance, en favorisant des antibiotiques à spectre étroit.

#### **II.4.6 L'influence du stress**

Un stress psychologique peut altérer l'intégrité du microbiote pendant plusieurs jours. Le stress peut entraîner une réduction de la diversité microbienne avec une diminution du genre *Bacteroides* et une croissance du genre *Clostridium* (42). Dans une étude menée sur des lycéens, il a été observé une diminution significative des bactéries bénéfiques comme les lactobacilles pendant les périodes d'examens (43).

### **III Fonctions du microbiote**

Le microbiote intestinal exerce de nombreuses fonctions physiologiques dont les répercussions pour l'hôte sont pour la plupart bénéfiques. Parmi les grandes fonctions du microbiote, la fermentation des substrats disponibles au niveau du colon, le rôle de barrière à la colonisation par les micro-organismes pathogènes, le développement et la maturation du système immunitaire intestinal ont un rôle essentiel dans la santé de l'hôte.

#### **III.1 Ses fonctions métaboliques**

##### **III.1.1 Métabolisme glucidique**

Les fibres alimentaires sont des glucides plus ou moins complexes (cellulose, hémicellulose, pectine, amidon résistant...) qui ne peuvent être hydrolysés en totalité par les glycosidases des sucs digestifs de l'Homme du fait de leur trop faible diversité. Le microbiote, avec plus de dix milles glycosidases différentes est alors pour l'hôte un outil indispensable à la fermentation des hydrates de carbone des céréales, des légumes ou des fruits. Les fibres alimentaires n'étant pas digérées par l'intestin grêle, l'activité métabolique la plus intense se retrouve au niveau du colon qui contient le plus grand nombre de bactéries. Les principaux métabolites provenant de la fermentation saccharolytique de ces fibres alimentaires sont les acides gras à courtes chaînes (AGCC) dont le butyrate, l'acétate et le propionate, sont produits anaérobiquement par le microbiote (44). Le butyrate, source majeure d'énergie pour les cellules épithéliales, affecte la prolifération et la différenciation cellulaire, diminue l'inflammation par l'activation des lipoxygénases, et influe sur la barrière gastro-intestinale par la stimulation des jonctions serrées et de la production de mucus (45).

L'acétate et le propionate sont absorbés et métabolisés dans le foie pour être utilisés comme substrat pour la néoglucogénèse et la lipogénèse (46). Le propionate inhibe cependant la synthèse de cholestérol. De plus, le butyrate et le propionate réduiraient la prise alimentaire (47). Pour ces propriétés, le propionate et le butyrate sont considérés comme des métabolites potentiellement intéressants pour prévenir l'obésité et le diabète (48).

### **III.1.2 Métabolisme protidique**

Le métabolisme des protéines est quantitativement moins important que celui des glucides, en particulier dans le côlon proximal, mais il est fondamental car les protéines représentent la principale source azotée des bactéries coliques.

Contrairement aux métabolites de la fermentation des glucides, la dégradation des protéines entraîne la synthèse de métabolites potentiellement toxiques pour son hôte (phénol, indole, amine, ammoniacque) (49).

Dans un premier temps, l'hydrolyse des protéines par les protéases conduit à la libération dans le colon de peptides plus petits utilisables par la flore bactérienne, puis à des acides aminés. Puis, la fermentation des acides aminés nouvellement obtenus met en jeu des réactions d'oxydation et de réduction qui vont aboutir à la formation d'AGCC, d'acides gras à chaînes courtes ramifiés (isobutyrate, 2-méthylbutyrate, isovalérate), d'amines, de phénol, d'indole et d'ammoniacque. Les composés phénoliques et indoliques sont détoxifiés par la muqueuse colique et éliminés dans les urines. L'ammoniacque est majoritairement produit lors de la désamination des acides aminés. Il suit deux voies distinctes, la première étant une absorption par la muqueuse colique suivie d'une transformation en urée dans le foie pour être éliminé dans les urines, la deuxième étant son utilisation avec des hydrates de carbones par les bactéries pour former des acides aminés qui participeront à la synthèse de protéines bactériennes (50).

### **III.1.3 Métabolisme lipidique**

Les lipides atteignant le côlon subissent différentes transformations de la part du microbiote telles que l'hydrolyse, l'hydroxylation, l'oxydation et la réduction. De nombreuses espèces bactériennes ont la capacité, à travers leur activité de lipase, d'hydrolyser les triglycérides à chaînes longues. De plus, les bactéries à Gram(+) possèdent des activités phospholipasiques (51). Pour une même quantité de lipides parvenant au côlon, les métabolites formés diffèrent d'un individu à l'autre en fonction de la composition de son microbiote (52), montrant ainsi l'influence du microbiote sur son hôte.

Le côlon reçoit également du cholestérol dont 70% provient de la bile, 20% de la fraction alimentaire non absorbée et 10% de la desquamation des muqueuses de l'intestin (49). Le microbiote a la capacité de convertir ce cholestérol selon deux voies (directe et indirecte)

réduisant le cholestérol en coprostérol et permettant ainsi son élimination (51).

Les acides biliaires primaires, produit de transformation du cholestérol par le foie, ont un rôle important pour s'assurer que les taux de cholestérol, de graisses alimentaires et de vitamines liposolubles de l'intestin grêle soient solubles et absorbables. Ces acides biliaires sont ensuite conjugués à la glycine et absorbés au niveau de l'iléon distal pour rejoindre la veine porte et atteindre le foie où ils seront à nouveau excrétés dans la bile. Cependant, une partie de ces acides biliaires (5%) échappent à ce processus et sont déconjugués par le microbiote pour être transformés en acides biliaires secondaires et éliminés (46). Cette activité d'hydrolyse du microbiote sur les acides biliaires peut alors réduire l'absorption et augmenter l'excrétion des acides biliaires et ainsi influencer sur le niveau de lipides sériques.

#### **III.1.4 Biosynthèse de vitamines**

Les vitamines sont des éléments essentiels pour le bon fonctionnement de l'organisme. Rarement fabriquées par le corps humain, elles doivent donc être fournies de manière exogène par l'alimentation. Cependant, il a été prouvé depuis longtemps que le microbiote intestinal de l'Homme est capable de synthétiser de la vitamine K et les vitamines B hydrosolubles (53). Contrairement aux vitamines apportées par l'alimentation qui sont adsorbées au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle, la majorité des vitamines synthétisées par le microbiote est adsorbée par le côlon (54).

#### **III.1.5 Métabolisme de xénobiotiques**

L'implication du microbiote intestinal dans le métabolisme des xénobiotiques est connue depuis plusieurs décennies. Comme vu précédemment avec le métabolisme des lipides, la circulation entéro-hépatique est une partie intégrante de la digestion et peut être définie comme un cycle composé d'une excrétion biliaire suivie d'une réabsorption intestinale. Alors que ce cycle permet aux acides biliaires de métaboliser les lipides pour qu'ils soient réutilisés, il influence également le métabolisme des médicaments (55). Ainsi, les xénobiotiques entrant dans la circulation entéro-hépatique, suite à une déconjugaison par le microbiote suivie d'une réabsorption, augmentent fortement leur temps d'exposition dans le corps à travers leur présence dans la veine porte et une toxicité peut alors être redoutée. Des études ont pu démontrer que les bactéries ayant une activité  $\beta$ -glucuronidase sont impliquées dans la déconjugaison intestinale des xénobiotiques (56). Il a aussi été démontré que la forte

consommation de viande provoquait une augmentation frappante de l'activité  $\beta$ -glucuronidases fécale (57).

### **III.2 Son rôle de protection et de barrière**

La muqueuse intestinale présente une surface d'échange considérable d'environ 400m<sup>2</sup> et est exposée en permanence aux antigènes, qu'ils soient d'origine alimentaire ou bactérienne. La première réaction de défense fait appel aux bactéries du microbiote intestinal. La fonction de barrière du microbiote intestinal a un effet protecteur au travers de multiples mécanismes. Il existe une compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre les bactéries pathogènes et les bactéries commensales qui sont plus adaptées à l'écosystème intestinal (58). La protection de l'intégrité de l'hôte fait également appel à la production par les bactéries du microbiote de composés antimicrobiens tels que les bactériocines capables de détruire les bactéries pathogènes (59).

De plus, les cellules endothéliales façonnent également une barrière de protection grâce à leurs différents types cellulaires (Figure 7). En effet, la muqueuse intestinale comporte des invaginations, appelées cryptes de Lieberkühn, où sont situées les cellules souches dont la différenciation et la prolifération sont à l'origine du renouvellement de l'épithélium intestinal. Celui-ci est recouvert d'une pellicule de mucus hydrophobe principalement constitué de mucines produites par les cellules caliciformes (ou cellules à gobelet). L'épaisseur de la couche de mucus varie le long du tube digestif et est maximale dans le côlon. Le microbiote intestinal peut intervenir sur le niveau de production et de sécrétions de ces mucines en stimulant la différenciation des cellules caliciformes (60). Le mucus est également constitué d'un système de défense antimicrobien composé de protéines anti-bactériennes Reg3 et de peptides antimicrobiens tels que défensines et lysosymes, produits par les cellules de Paneths et les entérocytes (61).

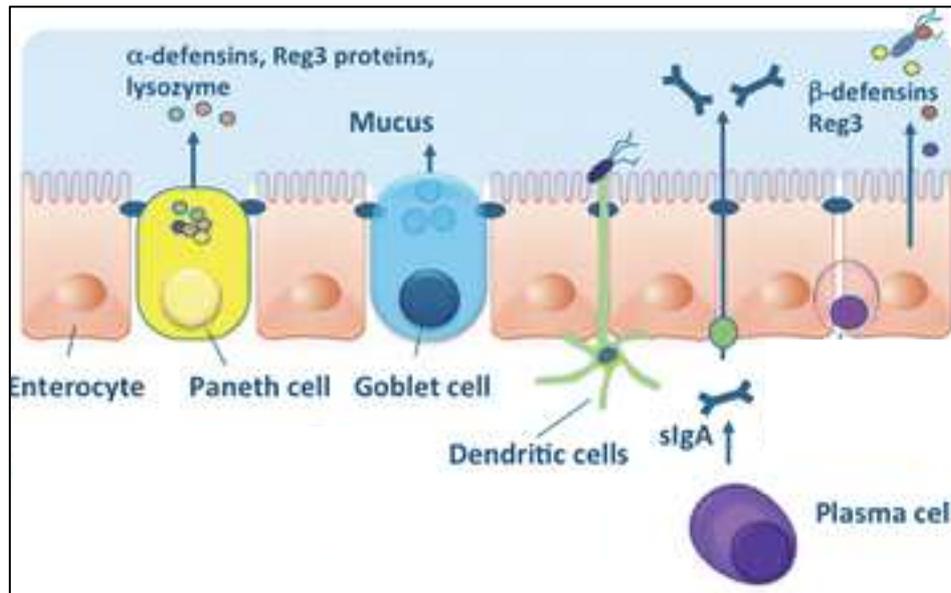


Figure 7 : Les cellules de l'épithélium intestinal (61)

Le dernier mécanisme mis en jeu dans cet effet barrière est la capacité du microbiote à stimuler le système immunitaire inné et adaptatif de l'hôte.

### III.3 Son rôle dans la maturation du système immunitaire

Le biofilm présent à la surface des cellules épithéliales dès les premiers jours du nouveau-né permet de développer un lien entre la muqueuse intestinale normale de l'hôte et le microbiote. Le système immunitaire étant constamment en contact avec des antigènes du microbiote, il se développe une immunotolérance empêchant une stimulation permanente et non souhaitée du système immunitaire inné. Ce système immunitaire intestinal joue un rôle important dans le maintien de la barrière homéostatique épithéliale.

L'immunité innée fait appel aux cellules présentatrices de l'antigène de la *lamina propria* ainsi qu'aux peptides anti-microbiens (62), et résulte de l'interaction entre les récepteurs PRR (*Pattern Recognition Receptor*) exprimés par les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules épithéliales, et des structures moléculaires microbiennes appelées motifs associés aux pathogènes (*Pathogen Associated Molecular Pattern*, PAMP). L'immunité adaptative humorale fait intervenir les immunoglobulines de type IgA, anticorps spécifiques des muqueuses. En effet, les cellules dendritiques présentes au niveau de la *lamina propria* (Figure 8) peuvent capter les bactéries grâce à leurs dendrites émettant des prolongements dans la lumière intestinale, et induire si nécessaire la production d'IgA par les plasmocytes (63). Le microbiote

peut lui-même stimuler la production des IgA sécrétoires. La réponse cellulaire fait quant à elle appel aux lymphocytes intra-épithéliaux de l'intestin. La colonisation par le microbiote intestinal commensal stimule la prolifération des lymphoblastes situés dans les follicules de la zone T des plaques de Peyer ainsi que la migration des lymphocytes T dans la *lamina propria* et l'épithélium. Ainsi, l'expression d'interleukines IL-13 par ces lymphocytes induit une production de mucus par les cellules caliciformes et l'activation des lymphocytes T résidents CD4<sup>+</sup> entraîne l'expression de lymphocytes effecteurs Th 17 (ou pro-inflammatoires), ceux-ci sécrétant les interleukines IL-22. Ces interleukines contribuent alors à la stimulation de la production de peptides anti-bactériens par les entérocytes et les cellules de Paneth (64).

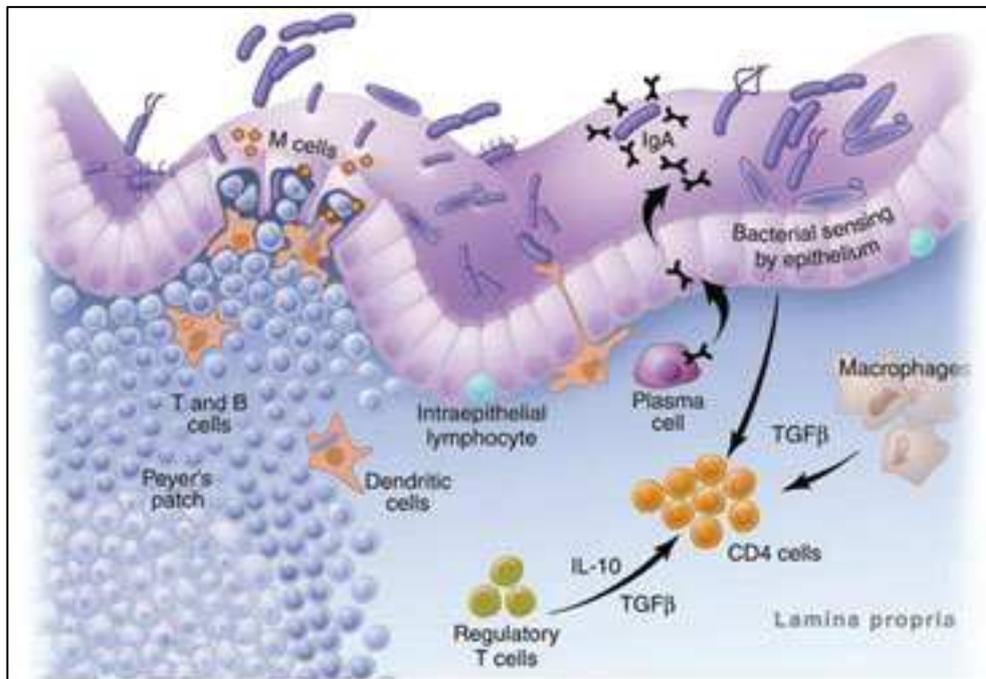


Figure 8 : Système immunitaire intestinal

Pour comprendre le rôle indispensable du microbiote dans le développement et la maturation du système immunitaire chez le nouveau-né, des études comparatives ont été réalisées entre des souris axéniques et des souris conventionnelles (65). Dans ces études, les souris axéniques présentaient de nombreuses anomalies au niveau de leur système immunitaire intestinal : plaques de Peyer immatures alors que les animaux grandissent, une *lamina propria* moins riche en lymphocytes intra-épithéliaux LT CD4<sup>+</sup> et en plasmocytes producteurs d'IgA (66), une production de cytokines limitées. De plus, même si les souris axéniques produisent une forte quantité d'IgG spécifiques en réponse à un antigène, on

observe chez ces animaux une faible production d'IgG non spécifiques (65), ce qui leur confère une réponse humorale non spécifique plus faible que chez les souris conventionnelles.

Les anomalies observées ne se limitent pas au système immunitaire des muqueuses puisque les ganglions lymphatiques et la rate sont également peu structurés, avec des zones lymphocytaires B et T mal formées (67).

Par ailleurs, les lacunes des souris axéniques peuvent être corrigées par l'inoculation d'un microbiote de souris conventionnelles. Ainsi, au bout de quelques semaines les anomalies disparaissent (58). Au-delà de ces observations sur les fonctions globales du microbiote, il semble que certaines espèces bactériennes aient des propriétés spécifiques. Reprenant le cas des IgA et Th 17, l'inoculation de bactéries filamenteuses segmentées apparentées au genre *Clostridium* stimule particulièrement la production de ces immunoglobines et lymphocytes (60). Elle stimule également les lymphocytes T régulateurs par l'intermédiaire des AGCC synthétisés par le microbiote. L'espèce *Bacteroides fragilis* stimule quant à elle le déficit en LT CD4<sup>+</sup> (68). Le microbiote participe donc au maintien de l'homéostasie.

**- PARTIE 2 -**

**INFLUENCE DU MICROBIOTE INTESTINAL DANS LA  
MALADIE HÉPATIQUE ALCOOLIQUE**

## I L'axe Foie - Intestin

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme humain (2% du poids corporel soit une moyenne de 1,5 kg) et appartient au système digestif (Figure 9).

Le foie se divise en quatre lobes inégaux ; le lobe hépatique droit est le plus volumineux, le lobe hépatique gauche est la partie la plus étroite de l'organe. Entre ces deux lobes majeurs, on distingue le lobe carré et le lobe caudé. La vésicule biliaire est attachée au foie à la limite du lobe carré et du lobe hépatique droit.

Le foie est un des organes les plus densément vascularisés du corps humain. Il contient plus de 10% du volume sanguin total du corps, et est traversé par 1,4 litre de sang en moyenne par minute, pour un adulte. Le foie reçoit le sang par un système vasculaire double : l'artère hépatique qui achemine le sang oxygéné de la circulation générale, à hauteur d'environ 30% ; la veine porte qui achemine le sang désoxygéné et riche en nutriments depuis l'intestin grêle en période post-prandiale, à hauteur de 70% (69). Le sang veineux est quant à lui pris en charge par la veine cave inférieure. Parallèlement aux vaisseaux sanguins, le foie est parcouru par un grand nombre de voies biliaires. Il collecte la bile et la mène à sa sortie dans le canal hépatique commun, qui prend plus loin le nom de canal cholédoque. Ce canal débouche dans le duodénum où la bile est utilisée pour la digestion. Une partie de la bile est stockée, sous forme concentrée, dans la vésicule biliaire. Elle est reliée au canal cholédoque par le canal cystique (70).

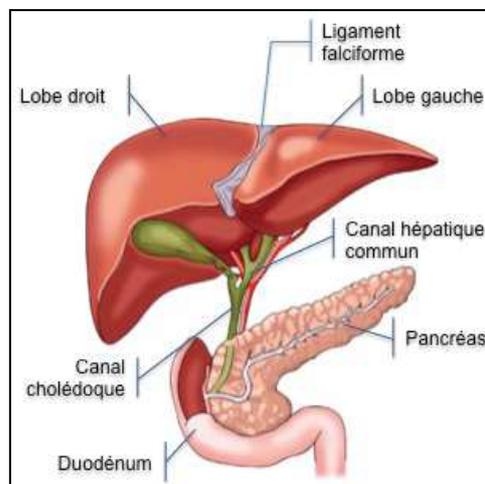


Figure 9 : Anatomie du Foie

Le foie assure de nombreuses fonctions vitales à l'organisme impliquant des mécanismes de détoxification, de synthèse et de stockage (71). La détoxification car il récupère, transforme et élimine de nombreuses substances endogènes et exogènes potentiellement toxiques dont les médicaments. La synthèse, car le foie intervient dans le métabolisme des glucides (glucose, fructose, galactose) et des lipides (cholestérol, triglycérides). Il stocke ainsi l'énergie sous forme de glucose au sein des hépatocytes et répartit l'énergie dans l'organisme en fonction des besoins. Il emmagasine aussi l'absorption de vitamines liposolubles. Le foie est également responsable de la production de la plupart des protéines sanguines telles que l'albumine, les globines et les facteurs de coagulation. La seule fonction exocrine du foie est la sécrétion de la bile en continu. Les cellules hépatiques sécrètent un liquide jaunâtre contenant bilirubine, acides biliaires (ou sels biliaires), cholestérol, phospholipides et de nombreux autres composants.

Le lobule hépatique est l'unité fonctionnelle du foie. Comme représenté sur la Figure 10, il est constitué de lames d'hépatocytes orientées de façon radiaire et faisant dos à la veine hépatique centrolobulaire qui forme l'axe central du lobule. À la périphérie des lobules se trouvent des formations étoilées nommées espaces portes, occupés par des vaisseaux issus de la veine porte et de l'artère hépatique ainsi que par les canaux biliaires.

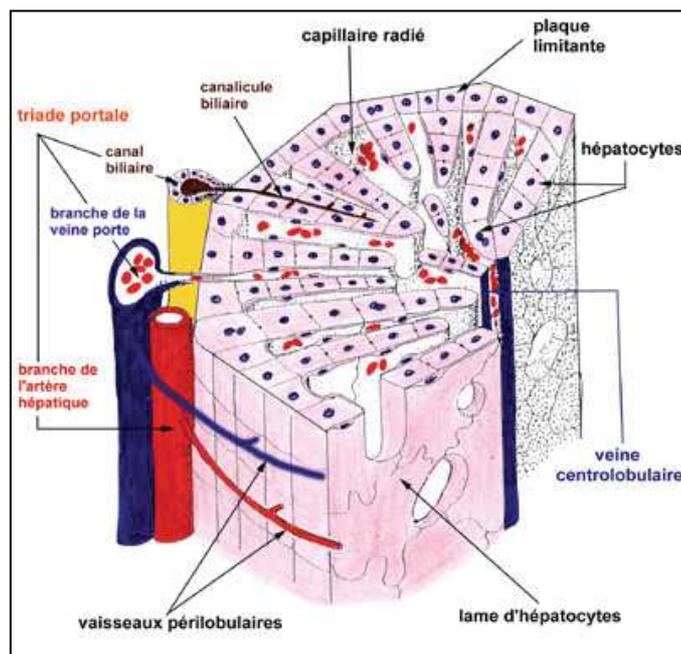


Figure 10 : Schéma d'un lobule hépatique

Le foie est également constitué de plusieurs types cellulaires (Figure 11) : les cellules parenchymateuses que sont les hépatocytes et qui représentent environ 70% de la population totale de cellules hépatiques, et des cellules non parenchymateuses telles que les cellules endothéliales sinusoidales, les cellules de Kupffer (KC, macrophages résidents du foie), les cellules des canaux biliaires, les cellules stellaires (HSC), les cellules dendritiques (DC) et d'autres cellules de l'immunité telles que les cellules du système immunitaires inné (NK et NKT) et adaptatif (LT et LB), présentes en moindre nombre. Ces cellules circulent dans les sinusoides hépatiques, en contact étroit avec les hépatocytes (72).

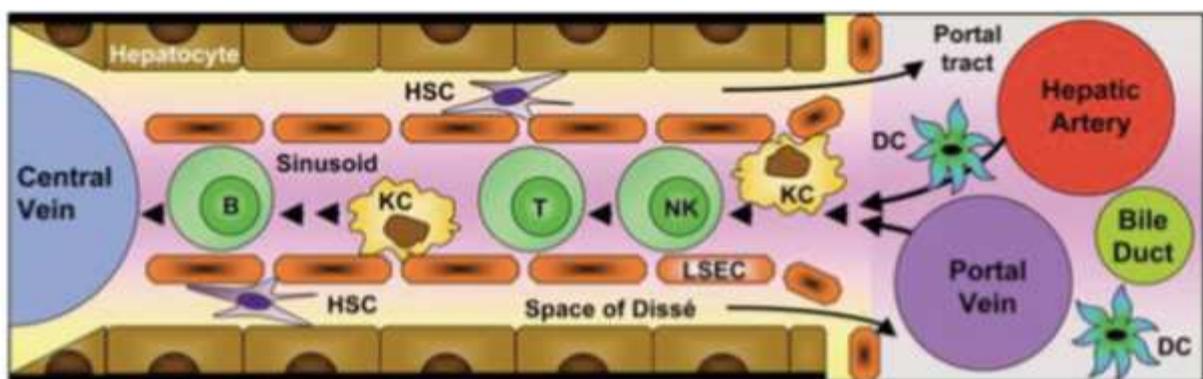


Figure 11 : Les cellules constituant un foie sain (72)

Un prérequis pour une symbiose entre le microbiote et l'hôte est une barrière intestinale fonctionnelle et intacte. La barrière intestinale de l'Homme est une barrière physique directe contre la translocation de bactéries de la lumière intestinale et des toxines ou produits bactériens vers la circulation sanguine et par conséquent elle les empêche de rejoindre le foie. Cette barrière, de structure complexe, est formée d'une couche monocellulaire de cellules épithéliales serrées (plus de 80% sont des entérocytes absorbants), reliées entre elles par des *tight junctions*, séparant la lumière intestinale du tissu conjonctif sous-jacent (barrière physique) et régulant ainsi la perméabilité de la barrière intestinale (73). L'épithélium intestinal est également recouvert d'une pellicule de mucus hydrophobe (barrière chimique) principalement constituée de mucines produites par les cellules caliciformes, et d'un système de défense antimicrobien composé de nombreux peptides antibactériens, nommés défensines, produits par les cellules de Paneths. Les jonctions serrées, également connues sous le nom de zonula occludens, sont des structures dynamiques qui se renouvellent constamment. Elles sont constituées de plusieurs protéines transmembranaires dont les deux principaux représentants

sont l'occludine et les claudines. Ces protéines transmembranaires sont associées à d'autres protéines telles que la ZO-1, la ZO-2 et la ZO-3. Ces jonctions serrées sont sensibles aux composants alimentaires et bactériens. En ce sens, ces composants sont deux facteurs pouvant jouer un rôle dans l'intégrité de la perméabilité intestinale (74).

## II Epidémiologie de la consommation d'alcool

Les classifications pharmacologiques font apparaître l'alcool parmi les substances psychoactives les plus nocives en termes de dommages physiques, sociaux, et de dépendance (75).

D'après le rapport de 2014 sur la situation mondiale sur l'alcool et la santé (76), l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) indique que 3,3 millions de morts sont liés à l'alcool, soit 5,9% des décès mondiaux. En 2010, la consommation moyenne mondiale d'alcool pur, chez les individus de plus de 15 ans, était de 6,2 litres par an. Le taux de consommation le plus fort est retrouvé dans les pays développés, en particulier en Europe, en Russie et en Amérique (Figure 12). Cependant, même si l'Asie du Sud-Est et les pays de la Méditerranée orientale sont les régions consommant le moins d'alcool, ce sont aussi les régions où plus de 50% de la consommation totale d'alcool n'est pas déclarée.

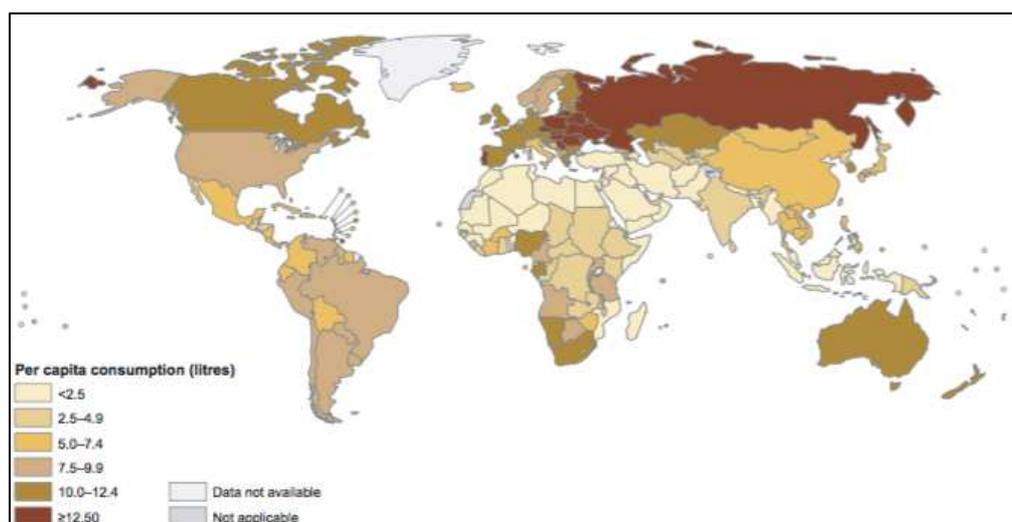


Figure 12: Consommation mondiale d'alcool par personne >15 ans, en 2010 (en Litre) (76)

Le Comité français d'éducation pour la santé (CFES) estime à cinq millions le nombre de personnes ayant des problèmes médicaux, psychologiques ou sociaux en relation avec une

consommation excessive d'alcool, en France. Cet excès est la deuxième cause de mortalité prématurée évitable, après le tabagisme. En 2009, la consommation d'alcool était responsable de près de 49 000 décès, soit 13% de la mortalité totale des hommes et 5% de la mortalité totale des femmes, dont 49% survenus avant 65 ans (77). L'alcool représente des fractions importantes de cette mortalité prématurée puisqu'il est responsable de 22% de décès chez les 15-34 ans, 18% chez les 35-64 ans et 7% à partir de 65 ans.

Malgré une diminution régulière de la consommation d'alcool, la proportion de personnes en difficulté avec l'alcool reste stable à 10% de la population adulte entre 25 et 64 ans (78).

### III Evolution des maladies alcooliques du foie

Le seuil de consommation au-delà duquel le risque pour la santé devient significatif est de 20g d'alcool par jour (deux verres) chez la femme et de 30g d'alcool (trois verres) par jour chez l'homme.

La maladie hépatique provoquée par une consommation excessive et chronique d'alcool surnommée ALD (*alcoholic liver disease*) évolue selon plusieurs stades (Figure 13): la stéatose, l'hépatite alcoolique (ou stéatohépatite alcoolique), la fibrose et la cirrhose. Elles peuvent exister isolément ou être associées.

Selon une étude, seul 11% des consommateurs excessifs montre un foie normal, 46% une stéatose associée ou non à une fibrose, 9% une hépatite alcoolique aiguë et 34% développent une cirrhose alcoolique (79). La survie à 5 ans en cas de cirrhose et/ou d'hépatite alcoolique sévère varie de 20% à 60%.

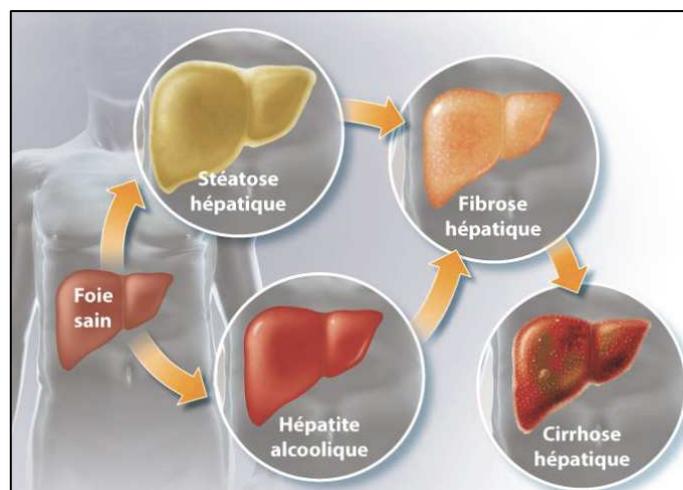


Figure 13: Evolution de la maladie alcoolique du foie (80)

La stéatose hépatique est la première conséquence de la consommation chronique d'alcool. Elle correspond à l'accumulation, à des degrés variés, de triglycérides (TG) sous forme de macrovésicules, préférentiellement dans les hépatocytes de la zone centrolobulaire.

En effet, la consommation d'alcool augmente la synthèse d'acides gras (AG), de triglycérides, de la lipogénèse, et diminue la lipolyse. Ces phénomènes entraînent alors une accumulation des lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et le développement de la stéatose hépatique. Cette accumulation est réversible en diminuant ou en arrêtant la prise d'alcool.

Lorsque la stéatose s'installe et s'aggrave, la nécrose hépatocytaire entraîne une inflammation par infiltration de polynucléaires neutrophiles et de corps de Mallory (résidus irréguliers correspondant à des agrégats de filaments au sein des hépatocytes), c'est l'hépatite alcoolique. En cas de souffrance prolongée des cellules hépatiques, les cellules mortes ou endommagées sont remplacées par un tissu cicatriciel composé principalement de collagène de type 1 produit par les HSC. C'est le stade de la fibrose. L'hépatite alcoolique est une affection aiguë de gravité variable. Au moment du diagnostic, elle correspond le plus souvent à une forme sévère, ictérique pouvant s'atténuer avec le sevrage d'alcool et un traitement.

Sans sevrage ou traitement, la fibrose modifie le tissu hépatique, laissant place à la cirrhose. Ce dernier stade est constitué de nodules de régénération de petites tailles (micronodules) entourés par de la fibrose. Le foie perd alors progressivement ses fonctions vitales limitant ainsi entre autre sa capacité à éliminer les éléments toxiques y compris l'alcool. La cirrhose du foie est irréversible. L'encéphalopathie hépatique et le carcinome hépatocellulaire sont des complications associées à l'hypertension portale chez les patients cirrhotiques. Habituellement, l'encéphalopathie hépatique se manifeste par des troubles neuropsychiatriques comme le ralentissement idéo-moteur, la confusion, la somnolence, voir le coma (81).

## IV Métabolisme de l'alcool

Contrairement aux corps gras et au glucose, l'alcool ne peut être stocké. Il est donc métabolisé. L'éthanol est principalement dégradé au niveau des hépatocytes (90%) mais également éliminé par sécrétion directe (10%) (82).

Le métabolisme de l'éthanol fait intervenir deux oxydations successives, la première transformant l'éthanol en acétaldéhyde, la seconde transformant l'acétaldéhyde en acétate (Figure 14). L'oxydation de l'éthanol en acétaldéhyde se fait selon trois voies enzymatiques, chacune située dans un compartiment cellulaire différent. La première voie est celle de l'alcool déshydrogénase (ADH), localisé dans le cytosol hépatocytaire. Lorsque l'alcoolisation devient importante, l'activité de l'ADH diminue au profit de la seconde voie d'oxydation par le système microsomal d'oxydation de l'éthanol (MEOS), faisant intervenir le cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) localisé dans le réticulum endoplasmique. La troisième voie, celle de la catalase, localisée dans les peroxysomes, est quant à elle la plus nocive, elle n'entre en jeu que lorsque les voies ADH et MEOS sont "saturées".

L'acétaldéhyde est ensuite oxydé en acétate par l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH), dont la localisation est cytosolique et mitochondriale. L'acétate est libéré en grande partie dans la circulation générale et oxydé en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$  pour être utilisé dans le cycle de Krebs.

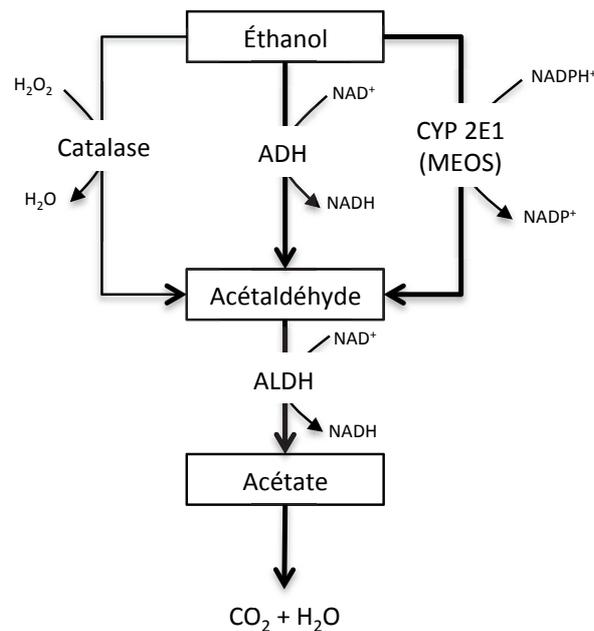


Figure 14 : Métabolisme oxydatif de l'éthanol

L'interaction entre le microbiote et le foie est d'un intérêt particulier dans les ALD puisque l'alcool est lié à un changement de composition du microbiote et à une atteinte de l'intégrité de la barrière intestinale et de ses fonctions (83,84).

En effet, le métabolisme de l'éthanol provoque une accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), principalement le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et l'anion superoxyde  $O_2^-$ . Les mitochondries à travers leur chaîne respiratoire, le réticulum endoplasmique (RE) à travers les CYP2E1, et les KCs à travers l'oxydase NADPH sont les sources principales de ROS.

La voie du MEOS, par induction des CYP2E1, intensifie également la génération de ROS (85), de même que l'acétaldéhyde à travers les mitochondries. Ces radicaux se fixent rapidement à l'éthanol ou aux atomes de Fer pour former des métabolites réactifs tels que des radicaux hydroxyl ( $\bullet OH$ ), des oxydes ferreux (FeO) ou des radicaux hydroxyéthyl ( $CH_3C\bullet HOH$ ), conduisant au stress oxydant, au stress du RE et à la stéatose.

Le stress oxydant est un déséquilibre entre les ROS et le système de défense primaire. En effet, lors d'une alcoolisation chronique, la superoxyde dismutase voit son activité saturée par la trop forte concentration en anion superoxyde. Ce stress altère les jonctions serrées, renforce la perméabilité intestinale (86) ce qui, à terme, entraîne la fibrose. Le stress du RE participe quant à lui à l'inflammation par l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa B$  (85,87).

La génération de ces radicaux libres inhibe également l'oxydation des acides gras, favorise la lipogénèse et donc la stéatose hépatique (88).

La formation d'acétaldéhyde, élément intermédiaire au métabolisme de l'éthanol est hautement toxique. Il joue un rôle important dans la formation d'adduits, provoquant des lésions hépatocytaires et contribuant ainsi aux réponses immunitaires et à la sécrétion de cytokines inflammatoires. L'acétaldéhyde et les aldéhydes peuvent, au même titre que les lipopolysaccharides, induire la synthèse de collagène par l'activation des voies TGF- $\beta$  dépendantes et des voies profibrogéniques indépendantes, et activer les HSC, menant à la fibrose (89).

La voie du MEOS et l'excès de NADH hépatocytaire jouent un rôle dans la diminution de l'activité du cycle de Krebs. La voie du MEOS consomme de l' $O_2$ , provoquant alors une hypoxie et aggravant le stress métabolique. L'excès d'NADH perturbe quant à lui la  $\beta$ -oxydation des

acides gras et ainsi une diminution de l'ATP dans les cellules.

Bien que l'alcool soit principalement métabolisé dans le foie, le microbiote est une cible privilégiée car les composants intestinaux sont en contact direct avec la substance absorbée (90). La prise chronique d'alcool provoque ainsi une prolifération bactérienne et une dysbiose du microbiote, des dommages de la muqueuse intestinale et une augmentation de la perméabilité intestinale, conduisant à une augmentation de la translocation des bactéries et de leurs produits à travers la veine porte (Figure 15).

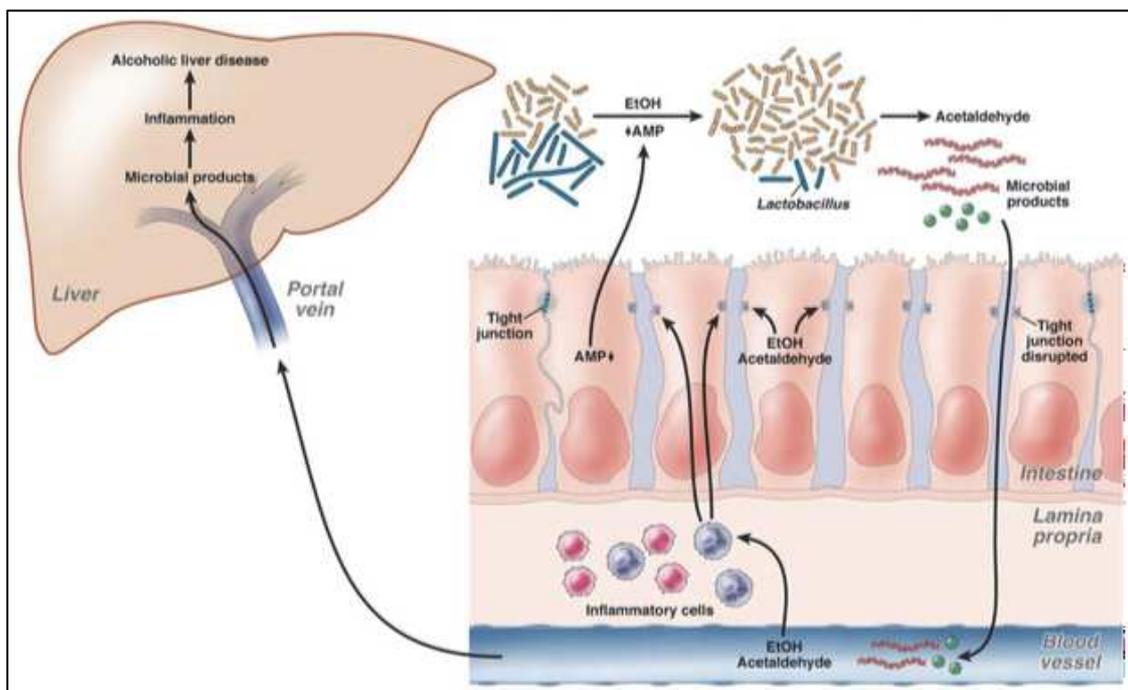


Figure 15 : Conséquence de l'éthanol sur le microbiote et la muqueuse intestinale (83)

## V Effets de l'alcool sur la composition du microbiote

La consommation excessive d'alcool provoque donc une altération quantitative et qualitative du microbiote avec entre autre une croissance bactérienne ou SIBO (*small intestinal bacterial overgrowth*) et une dysbiose.

Chez la souris, Yan *et al.* ont mis en évidence une croissance bactérienne après trois semaines de gavage par de l'alcool, en particulier au niveau de l'intestin grêle (Figure 16) (91).

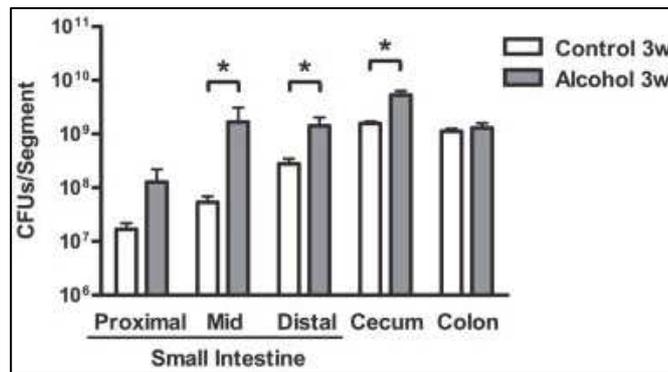


Figure 16 : Nombre de colonies viables de bactéries anaérobies totales du tractus gastro-intestinal de souris exposées à l'éthanol pendant 3 semaines, comparé à des souris contrôle (CFUs/segment) (91)

Hormis la SIBO, il a également été relevé une dysbiose avec une diminution du phylum *Firmicutes* (genres *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*) et une augmentation des phyla *Verrucomicrobia* et *Bacteroidetes* dont les *Bacteroidales*, *Bacteroides* et *Porphyromonadaceae* (Tableau 1). De plus, les auteurs ont observé une forte suppression du genre *Lactobacillus* et une surcroissance de *Akkermansia muciniphila* chez les souris alimentées avec de l'alcool, espèce considérée comme responsable de la dégradation des mucines (91). Cependant, dans une autre étude, il a été montré que la consommation d'alcool entraînait cette fois une baisse du taux du phylum *Bacteroidetes* en plus de celle des phyla *Firmicutes*, avec une augmentation proportionnelle des phyla *Actinobacteria* et *Proteobacteria* (92). D'après les résultats obtenus, les genres bactériens ayant montré la plus forte croissance sont les *Alcaligenes* et les *Corynebacterium*.

Canesso *et al.* ont quant à eux observé que l'augmentation la plus importante concernait les *Enterobacteriaceae* au niveau de l'intestin grêle, dont le genre *Escherichia coli* fait parti (93).

Chez l'Homme, Leclercq *et al.* ont constaté que seuls les patients touchés par une

augmentation de perméabilité intestinale présentaient une dysbiose par rapport aux individus sains (94). Une diminution de l'abondance de bactéries appartenant à la famille des *Ruminococcaceae* a (genre *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, et *Anaerofilum*) ainsi que le genre *Oscillibacter* été observé, contrairement à la famille des *Lachnospiraceae* qui a vu le taux de ses genres *Dorea* et *Blautia* croître. Mutlu et al. (95) ont montré une altération significative du microbiote entre les individus alcooliques présentant ou non des atteintes hépatiques, avec une concentration plus faible en *Bacteroidaceae* du phylum *Bacteroidetes* par rapport aux témoins sains. Par ailleurs, seulement 31% des patients dépendants à l'alcool présentaient une altération du microbiote, prouvant ainsi que la dysbiose n'est pas obligatoire chez ce type de patients. Dans cette étude, les patients atteints de dysbiose présentaient des taux réduits pour les phyla *Bacteroidetes* et *Firmicutes* (pour la classe des *Clostridia*) alors que les taux étaient plus élevés pour les phyla *Proteobacteria* à Gram(-) (pour la classe des  $\gamma$ -*proteobacteria*) et *Firmicutes* (pour la classe des *Bacilli*).

Dans une étude comparative entre des patients alcooliques et des individus sains, Kirpich et al. ont relevé une réduction du nombre de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* et *Enterococcus* chez ces patients (96). Chen et al (97) ont montré une augmentation significative du taux de bactéries potentiellement dangereuses (famille *Enterobacteriaceae*, *Veillonellaceae* et *Streptococcaceae*) chez des sujets atteints de cirrhose alcoolique, comparé à des individus sains (Tableau 1). D'autres études de ces auteurs ont permis de constater de manière moins nette que l'abondance relative des bactéries du phylum *Bacteroidetes* diminue à mesure que le taux de phylum *Proteobacteria* augmente, et que les individus cirrhotiques ne montraient qu'une unique augmentation du taux en *Fusobacteria*.

Dans l'ensemble, les patients alcooliques et cirrhotiques présentent un microbiote enrichi en phyla *Proteobacteria* (pour la classe des  $\gamma$ -*proteobacteria*) et *Firmicutes* (pour la classe des *Bacillus*). De plus, le taux de *Clostridia* du phylum *Firmicutes* diminue chez les individus alcooliques alors que chez les cirrhotiques ce taux ne change pas (95). On observe tout de même chez ces personnes une augmentation du taux de *Veillonellaceae* et une diminution du taux de *Lachnospira* (95). Ces études prouvent que la composition du microbiote est différente entre les individus alcooliques et les individus atteints de cirrhose alcoolique. Cette différence de composition peut ainsi contribuer au diagnostic de la cirrhose.

Tableau 1: Evolution du microbiote associé à la prise chronique d'alcool lors d'études précliniques et cliniques

| PHYLUM                                    | CLASSE                 | ORDRE                  | FAMILLE                  | GENRE                  |
|---|------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| <b>Actinobacteria</b><br>↑(92)            | Actinobacteria         | Corynebactales         | Corynebactaceae          | Corynebacterium ↑(92)  |
|   |                        | Bifidobacteriales      | Bifidobacteriaceae       | Bifidobacterium ↓(96)  |
| <b>Bacteroidetes</b><br>↑(91) ↓(92,95,97) | Bacteroidia            | Bacteroidiales ↑(91)   | Bacteroidaceae ↓(95)     | Bacteroides ↑(91)      |
|   |                        |                        | Porphyromonadaceae ↑(91) |                        |
| <b>Firmicutes</b><br>↓(91,92)             | Bacilli<br>↑(95)       | Bacillales             | Bacillaceae              | Bacillus ↑(95)         |
|   |                        |                        | Lactobacillales          | Enterococcaceae ↑(97)  |
|   |                        | Lactobacillaceae       |                          | Lactobacillus ↓(91,96) |
|   |                        |                        |                          | Pediococcus ↓(91)      |
|   |                        | Leuconostocaceae       |                          | Leuconostoc ↓(91)      |
|   |                        | Streptococcaceae ↑(97) | Lactococcus ↓(91)        |                        |
|   | Clostridia ↓(95)       | Clostridiales          | Ruminococcaceae ↓(94)    | Anaerofilum ↓(94)      |
|   |                        |                        |                          | Faecalibacterium ↓(94) |
|   |                        |                        |                          | Ruminococcus ↓(94)     |
|   |                        |                        | Oscillospiraceae         | Oscillobacter ↓(94)    |
|   |                        | Lachnospiraceae        | Blautia ↑(94)            |                        |
|   |                        |                        | Dorea ↑(94)              |                        |
|   | Negativicutes          | Selenomonadales        | Veillonellaceae ↑(97)    |                        |
| <b>Proteobacteria</b><br>↑(92,95,97)      | β-proteobacteria       | Burkholderiales        | Alcaligenaceae           | Alcaligenes ↑(92)      |
|   | γ-proteobacteria ↑(95) | Enterobacteriales      | Enterobacteriaceae ↑(93) |                        |
| <b>Verrucomicrobia</b><br>↑(91)           |                        |                        |                          |                        |

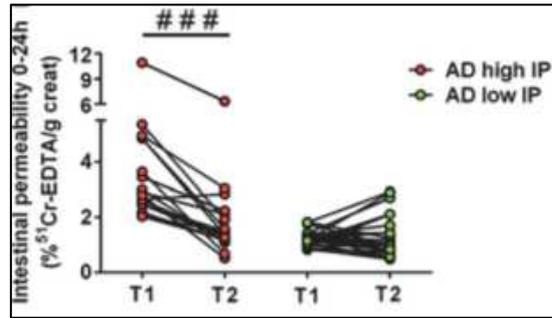
Même si la prise d'alcool provoque des dysbioses intestinales, une étude a démontré que certaines boissons alcoolisées comme le vin pourraient altérer, de manière favorable cette fois-ci, la composition du microbiote (98). Ainsi, il semblerait que les polyphénols contenu dans le vin rouge soient associés à une croissance bactérienne favorisant la bonne santé du tractus gastro-intestinal, alors que la consommation d'alcool fort tel que le Gin est dommageable pour le microbiote. La chute du taux du genre *Clostridium* associée à la consommation de polyphénols du vin rouge suggère que les polyphénols pourraient avoir une activité inhibitrice sur la croissance des *Clostridium*, genre reconnu pour être lié à la progression du cancer du colon (99).

## VI Effets de l'alcool sur la barrière intestinale

L'intégrité de la muqueuse intestinale repose sur différents aspects : la barrière protectrice de défensines à la surface intra-luminale de l'épithélium intestinal, les jonctions serrées entre les cellules épithéliales et les cellules immunitaires présentes au niveau de cette barrière (83).

En temps normal, l'intégrité de la muqueuse intestinale, la composition du microbiote et la surveillance du système immunitaire suffisent pour minimiser l'extension des composants microbiens pouvant affecter le foie. Mais lors de la consommation d'alcool, l'éthanol a un effet direct sur ces fonctions et un effet indirect par ses métabolites (exemple de l'acétaldéhyde) distribués dans la circulation sanguine. L'augmentation du niveau d'alcool dans la circulation sanguine est associé à une diminution de l'expression des ARNm de protéines importantes impliquées dans les jonctions serrées des cellules épithéliales (100). Une étude chez la souris a démontré que l'alcool induirait une redistribution de l'occludine et des ZO-1 des jonctions épithéliales au niveau du colon, augmentant la perméabilité de la barrière intestinale, et entraînerait une forte élévation des récepteurs TLR-4 présents au niveau des entérocytes (101).

Leclercq et *al.* ont comparé la perméabilité gastro-intestinale de soixante patients dépendants à l'alcool lors d'un programme de détoxification. Ils ont observé qu'au début du programme (T1) 43% des patients dépendants à l'alcool et atteints de fibrose avaient une perméabilité accrue de la barrière gastro-intestinale (*AD high IP*) alors que 57% avaient une faible augmentation de la perméabilité (*AD low IP*), comparé aux témoins (Figure 17) (94). Dans une autre étude du même auteur, les résultats montrent clairement une perméabilité supérieure dans l'intestin grêle, lieu où l'alcool est principalement absorbé (102). Après dix-neuf jours d'abstinence (T2), la majorité de ces patients présentant une perméabilité accrue retrouvaient un niveau de perméabilité semblable aux témoins.



**Figure 17: Evolution de la perméabilité intestinale après trois semaines d'abstinence chez des patients alcooliques (94)**

Cependant, même si tous les patients ont consommé la même dose d'alcool, la conséquence sur la perméabilité intestinale n'est pas identique chez tous les sujets puisque que nous pouvons clairement différencier deux groupes. La mise en cause de l'éthanol seul est alors réduite dans la perturbation de la perméabilité gastro-intestinale.

La différence de perméabilité peut également être attribuée à des changements de composition et de l'activité du microbiote.

De récentes études ont montré qu'une intoxication alcoolique aiguë chez des volontaires sains provoque une augmentation du niveau d'endotoxines dans le sérum et ceci corrélé à une augmentation des ADNr 16S, suggérant donc une origine bactérienne (103). La diminution de *Bacteroidetes* et l'augmentation des *Proteobacteria* (bactéries à Gram(-)) dans le microbiote ayant été prouvées comme étant corrélé au haut niveau d'endotoxines (92), ceci confirme bien cette hypothèse. Le lipopolysaccharide (LPS) est un composant essentiel de la face externe de la membrane des bactéries à Gram(-). C'est une endotoxine pyrogène. Elle provoque une réaction immunitaire forte de la part des macrophages intestinaux qui produisent alors des médiateurs pro-inflammatoires tels que des TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  et Nf- $\kappa$ B. Ceux-ci augmentent aussi la perméabilité de la paroi intestinale en altérant les jonctions serrées (103).

Le microbiote intestinal est également capable de métaboliser l'éthanol, produisant ainsi un grand nombre de ROS, ce qui pourrait endommager les composants de la barrière intestinale, y compris la couche de mucus et les jonctions serrées et de ce fait participer à la perméabilité de la barrière intestinale (83,90).

## VII Conséquences de la dysbiose et de la perméabilité intestinale

L'augmentation de la perméabilité gastro-intestinale et la dysbiose étant des conséquences de la consommation l'alcool, ces différents dommages permettent aux LPS et autres produits bactériens de rejoindre le flux sanguin intra-portal. C'est la translocation bactérienne (Figure 18).

Le terme de translocation bactérienne a été inventé par Berg et Garlington en 1979 comme étant le passage de bactéries viables du tractus gastro-intestinal à travers la muqueuse épithéliale dans la *lamina propria* puis vers les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN), et éventuellement d'autres organes comme le foie où ils pourront provoquer à terme un phénomène inflammatoire (104).

Aujourd'hui, grâce aux avancées technologiques, ce terme regroupe les bactéries viables mais aussi des produits bactériens tels que les LPS, les peptidoglycanes (molécules appartenant à la famille des « motif moléculaire associé aux pathogènes » ou PAMPs) et du matériel génétique bactérien.

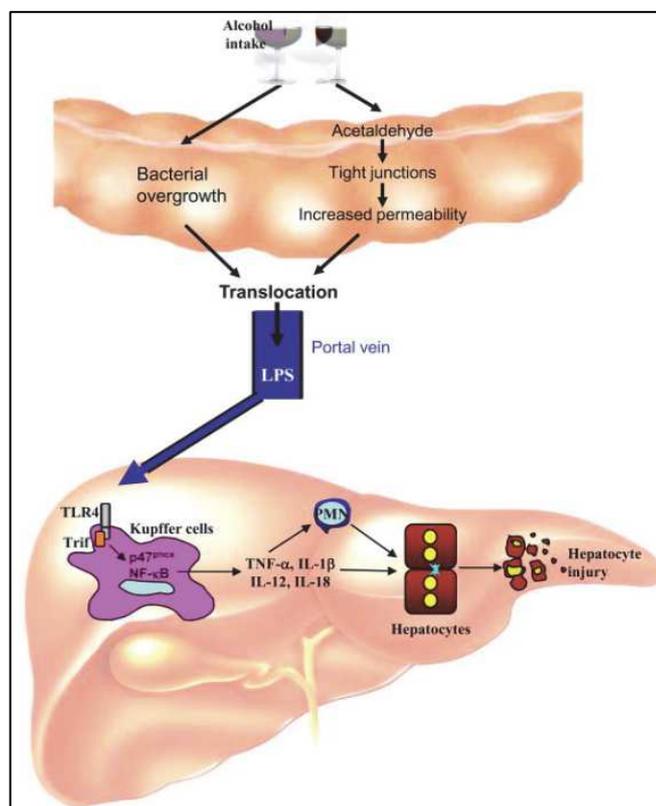


Figure 18 : Causes et impacts de la translocation bactérienne

Selon une étude clinique réalisée chez des patients cirrhotiques, la translocation bactérienne voit son taux augmenter de façon progressive en relation avec la sévérité du score de Child Pugh. Des données ont montré que les organismes dérivés de l'intestin étaient cinq à six fois plus fréquemment retrouvés chez les patients ayant un score de Child Pugh de classe C par rapport aux scores A et B (105).

Les données actuelles suggèrent deux voies majeures dans la perméabilité intestinale pouvant contribuer à la translocation bactérienne : la voie transcellulaire à travers les entérocytes, et la voie paracellulaire par le biais des *tights junctions*. La voie transcellulaire serait prédominante car elle aussi est disponible chez l'individu sain (106). De plus, il existe deux autres voies pouvant permettre aux produits bactériens de rejoindre la circulation systémique : par l'intermédiaire du système veineux entérique à la veine porte ou à la suite du drainage lymphatique entérique (107).

Face à la translocation bactérienne, la réponse la plus forte et la plus rencontrée du système immunitaire inné hépatique à des signaux de danger est l'inflammation. Les PAMPs sont des molécules associées aux pathogènes (bactéries, virus, parasites...) et reconnues par le système immunitaire inné dont les récepteurs de type Toll Like Récepteurs (TLRs) et Nod-like Récepteurs (NLR), récepteurs appartenant à la famille des PRR. Le microbiote contient une large variété de PAMPs, dont les LPS, qui ne passent pas dans la circulation sanguine quand la barrière intestinale est intacte (90).

Cependant, la consommation d'alcool fragilisant cette barrière, les LPS rejoignent la circulation sanguine et gagnent le foie pour y stimuler les TLRs. Ces récepteurs sont alors surexprimés à la surface des cellules de Kupffer KC, des cellules endothéliales, des cellules stellaires HSC, des cellules dendritiques et des hépatocytes (44). Les TLR-4 peuvent spécifiquement reconnaître les LPS comme un signal de danger et induire la voie de signalisation responsable de la production de cytokines pro-inflammatoires. Tous ces éléments participent activement à la pathogénèse de l'ALD.

Cependant, les TLR-4 ne pouvant pas se lier directement aux LPS, ils sont associés à des co-récepteurs CD-14 et MD-2 (108) et une protéine de liaison de lipopolysaccharides (LBP) se lie aux lipides A des LPS. Les LBP et les LPS sont alors respectivement reconnus par le CD-14 et le TLR-4 (109).

Au niveau du foie, les cellules KC sont les premières à réagir à la présence des LPS et contribuent à l'inflammation hépatique et aux lésions hépatocellulaires menant à la stéatose. En effet, lorsque le LPS se lie au TLR-4 des cellules Kcs, sa signalisation conduit à la translocation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B et à l'expression des gènes placés sous son contrôle, tels que les gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires dont le TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, et les chemokines. Ces éléments participent également au recrutement des Lymphocytes T, ces derniers ayant un impact sur les HSC (86).

Les LPS peuvent également cibler directement les cellules HSC. En effet, à l'état quiescent, ces cellules sont impliquées dans la synthèse de la matrice normale et résistent à leur activation par la voie de signalisation induite par les TGF- $\beta$  grâce à l'expression d'une protéine Bambi (*bone morphogenetic protein and activin membrane-bound inhibitor*) capable d'inhiber les récepteurs du TGF- $\beta$  (106). Cependant, dès l'activation des récepteurs TLR-4 par fixation de LPS, l'expression de Bambi est diminuée, menant à une activation de la signalisation *via* le récepteur de TGF- $\beta$ . Les cellules HSCs modifient alors leur synthèse de protéines et participent activement au processus de fibrose par la sécrétion de TGF- $\beta$ , de collagène de type 1 et de MMPs (110). De plus, l'éthanol et l'acétaldéhyde peuvent aussi activer les HSCs.

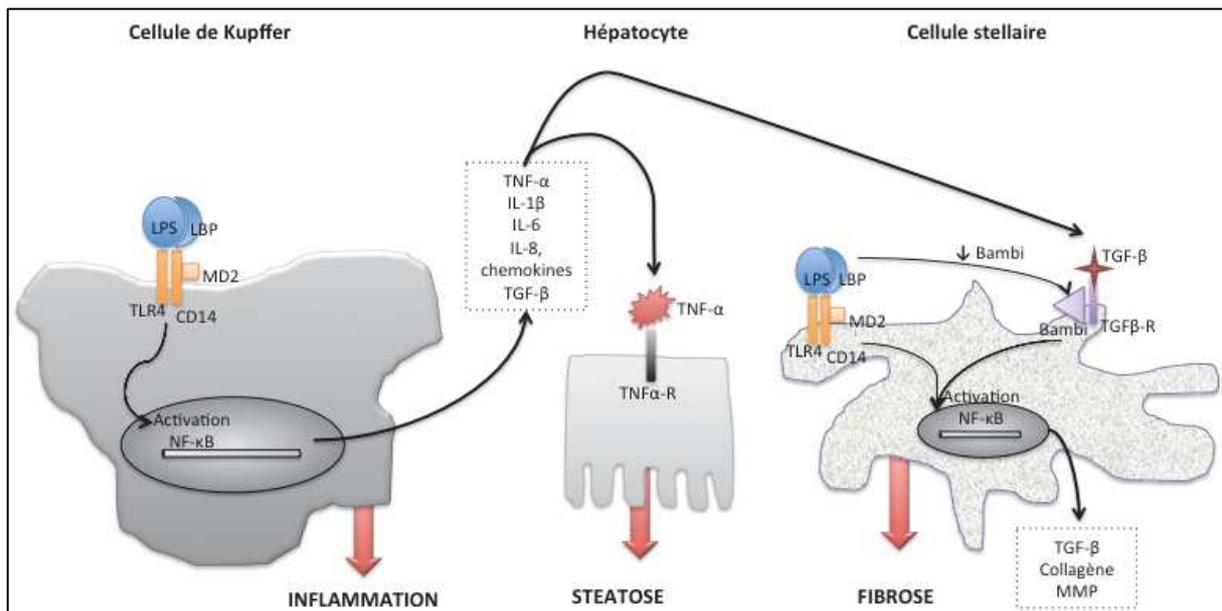


Figure 19 : Cascade de signalisation LPS/TLR-4 chez les patients atteints d'ALD

## VIII Traitements

Plusieurs scores ont été élaborés pour établir la sévérité de l'hépatite alcoolique aiguë et ainsi guider le traitement. Le score de Maddrey est spécifique au pronostic de l'hépatite alcoolique et permet d'identifier les formes sévères associées à un risque élevé de décès à court terme. Il est calculé en utilisant le taux de bilirubine et le temps de Quick, et est à l'heure actuelle le plus utilisé. Toutefois, le score de MELD (*Model for end-stage liver disease*) est de plus en plus adopté comme alternative au score de Maddrey. Il utilise les valeurs de la bilirubine totale, de la créatinine et de l'INR. Initialement, ce score a été développé pour prédire la survie des patients à trois mois après un shunt porto-systémique intrahépatique par voie transjugulaire mais il est aujourd'hui également utilisé pour hiérarchiser la répartition des transplantations hépatique. Un score de Maddrey supérieur ou égal à 32 signe une forme sévère de stéatohépatite alcoolique et demande la mise en place d'une corticothérapie, après confirmation par biopsie. Un score de MELD de 18 équivaut à un score de Maddrey de 32 (88).

L'évaluation ponctuelle de la sévérité de la cirrhose est quant à elle principalement réalisée à l'aide du score de Child Pugh (111). Son calcul est dépendant de différents critères (Tableau 2). La valeur du score augmente avec le niveau de gravité. La cirrhose compensée (cirrhose sans manifestation fonctionnelle ni complications) correspond à la classe A (valeur du score entre 5 et 6). La cirrhose décompensée (dont l'encéphalopathie hépatique est un signe clinique) correspond à la classe B (valeur entre 7 et 9 points) ou C (valeur entre 10 et 15).

Tableau 2: Calcul du score de Child Pugh

|   | 1 point | 2 points      | 3 points        |
|---|---------|---------------|-----------------|
| <b>Encéphalopathie (Grade)</b>                          | Absente | Grade I et II | Grade III et IV |
| <b>Ascite</b>   | Absente | Minime        | Modérée         |
| <b>Bilirubine totale (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b> | < 35    | 35 à 50       | > 50            |
| <b>Albumine (g/L)</b>                                   | > 35    | 28 à 35       | < 28            |
| <b>Taux de prothrombine (%)</b>                         | > 50    | 40 à 50       | < 40            |

## VIII.1 Les traitements classiques

### VIII.1.1 Les corticoïdes

Le traitement par corticoïdes est utilisé dans le but de réduire la réaction inflammatoire. La molécule la plus utilisée est la prednisolone (112). Elle est instaurée pendant quatre semaines, en l'absence d'infection et de répllication virale B pouvant être majorée par les corticoïdes. Malgré les effets positifs sur la survie à court terme de ce traitement, six mois après l'installation de la maladie, la mortalité atteint toujours 30 à 40% (87).

Sept jours après l'initiation de la corticothérapie, temps suffisant pour prédire la réponse, le « modèle de Lille » est utilisé pour reconnaître les patients répondeurs au traitement. Ce modèle dynamique génère un score pronostic applicable aux patients atteints d'une hépatite alcoolique sévère et traités par corticoïdes. C'est le plus précis pour identifier le degré de réponse au traitement. Sa formule inclut les effets des corticoïdes sur le taux de bilirubine. Il identifie aussi le risque de mortalité à six mois chez ces patients. Ce modèle génère un score variant de 0 à 1. La limite idéale est de 0,45 pour définir les patients répondeurs (Score de Lille <0,45) et non répondeurs aux corticoïdes (score de Lille >0,45) (87).

### VIII.1.2 La Pentoxifylline

La pentoxifylline pourrait constituer une alternative à la corticothérapie. En effet, une étude chez des patients atteints d'une forme sévère d'hépatite alcoolique aiguë a comparé les effets de la pentoxifylline à ceux du placebo. À six mois, le taux de survie du groupe traité par pentoxifylline était significativement supérieur (75%) à celui du groupe traité par placebo (54%) (113). De plus, il semblerait que la pentoxifylline puisse être aussi efficace voire plus efficace que les corticoïdes (114,115). Cependant, l'administration concomitante de pentoxifylline et de prednisolone n'a pas amélioré le taux de survie à six mois par rapport à l'administration de prednisolone seule (116). Aussi, malgré l'effet anti-inflammatoire de la pentoxifylline dans les hépatites sévères, il semble que ses bénéfices soient liés principalement à une prévention du syndrome hépatorénal (113).

Cette molécule alternative à la prednisolone a d'autres limites puisque chez les patients non répondeurs à la corticothérapie (40% des cas), le passage à la pentoxifylline reste inefficace puisqu'il n'améliore ni la survie ni la fonction hépatique (117).

### **VIII.1.3 Les anti-oxydants**

L'utilisation d'anti-oxydants pourrait être intéressante car le stress oxydant est un élément clé conduisant à la stéatose par son rôle dans la perméabilité intestinale.

Une étude a notamment été réalisée sur la survie de patients atteints d'hépatite alcoolique aigüe sévère, comparant dans un cas les patients traités par l'association N-acetylcystéine et corticoïdes et dans l'autre cas par corticoïdes seuls. Bien que la thérapie combinée ait augmenté la survie à un mois par rapport à la monothérapie par prednisolone (24% contre 8%), la survie à six mois n'était pas modifiée (38% contre 27%) (118). Compte tenu des résultats concluants de la survie à un mois, le développement et l'étude d'autres composés anti-oxydants seraient utiles.

### **VIII.1.4 Les anti-TNF- $\alpha$**

L'approche thérapeutique, pourtant prometteuse compte tenu de l'implication de ce médiateur dans le développement de la pathologie, avec des anticorps monoclonaux anti-TNF- $\alpha$  a été abandonnée du fait d'un excès d'infections et d'une surmortalité enregistrés chez les patients recevant cette molécule (119,120).

### **VIII.1.5 La transplantation**

Il est évident qu'un arrêt total de l'alcool est à envisager pour ce type de pathologie. Pour les patients en phase terminale secondaire à la cirrhose alcoolique, y compris ceux qui ne répondent pas aux traitements médicaux, la transplantation hépatique est l'unique traitement envisageable. Elle ne peut être alors envisagée qu'après une période d'abstinence d'au moins six mois (121).

## **VIII.2 Les traitements ciblant le microbiote**

### **VIII.2.1 Les antibiotiques**

Les patients sous corticothérapie sont plus sujets à développer des infections. En effet, deux mois après l'instauration des corticoïdes, 22% des patients développent une infection (122). Pour tenter d'éviter ce phénomène, le recours aux antibiotiques semble être intéressant pour purifier le microbiote.

Des études pré-cliniques ont montré que le pré-traitement par antibiotiques pour nettoyer la flore digestive est capable de réduire le taux des bactéries à Gram(-) et par conséquent le taux d'endotoxines, et de prévenir les maladies alcooliques du foie (108).

Une étude clinique chez des patients souffrant de cirrhose alcoolique et traités par de la norfloxacine associée à la néomycine pendant six mois a permis de montrer une amélioration du score de Child Pugh, passant de 9,2 à 6,2 (123). Par conséquent, l'antibiothérapie à long terme permettrait d'améliorer le pronostic de l'ALD et le taux de survie des patients cirrhotiques. Toutefois, malgré l'amélioration de la fonction hépatique et de la réduction des infections chez les patients atteints d'ALD, il est également important de prendre en compte les effets négatifs des antibiotiques sur la muqueuse intestinale. En effet, l'utilisation prolongée d'antibiotiques peut augmenter la vulnérabilité du microbiote et conduire à une augmentation de la colonisation bactérienne pathogène (124).

A ce titre, les effets de la rifaximine, un antibiotique non absorbable à large spectre, ont été évalués dans les ALD. La rifaximine est en effet une option sûre et efficace pour la réduction du risque de la récurrence de l'encéphalopathie hépatique chez les patients présentant une cirrhose hépatique (125). Que sa dose soit élevée ou faible, la rifaximine réduit de manière analogue le taux d'endotoxines chez les patients cirrhotiques avec une diminution significative du taux de la famille des *Veillonellaceae* (Phylum *Firmicutes*) et une augmentation de celui des *Bacteroidaceae* (Phylum *Bacteroidetes*) (126).

### **VIII.2.2 Les probiotiques**

D'après le comité d'experts FAO/OMS (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la santé) réunis en 2001, les probiotiques sont des « Microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte au-delà de l'effet nutritionnel premier » (127).

Il a été montré que les probiotiques modifient le microbiote. Leur administration chez l'Homme améliore les fonctions du foie, par le biais d'une amélioration de la réponse immunitaire aux pathogènes entériques, d'une amélioration du taux d'enzymes hépatiques, d'une diminution des dommages et du stress oxydatif et d'une réduction du niveau

d'endotoxines.

Les probiotiques les plus utilisés sont les Lactobacilles et Bifidobactéries.

Les *Lactobacillus*, bactéries à Gram(+) anaérobies facultatives, peuvent inhiber la croissance d'une large gamme de bactéries à Gram(-), et donc diminuer le niveau d'endotoxines. Des patients atteints d'ALD ont été traités par *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus plantarum* 8PA3 et comparés à des patients traités par simples vitamines et à des contrôles sains (96). Après cinq jours de traitement, une nette amélioration du taux de Bifidobactéries, Lactobacilles et Entérocoques a été observée, atteignant le même taux que les individus témoins. De plus, les taux d'enzymes du foie étant particulièrement élevés en cas de lésions hépatique, le traitement par probiotiques a ainsi permis de réduire de manière significative le taux d'alanine aminotransférase ou ALT (considérée comme l'indicateur le plus efficace de lésions hépatique), contrairement aux patients traités par vitamines (Figure 20).

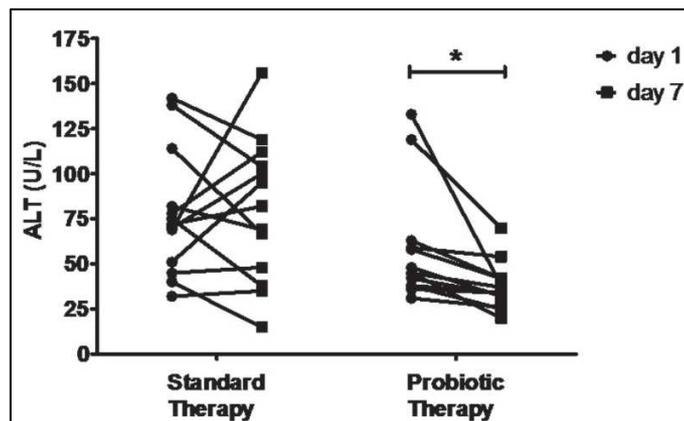


Figure 20: Evolution du taux d'ALT après cinq jours de traitement par probiotiques ou vitamines, chez des patients atteints d'ALD, (U/L) (96)

Le prétraitement de souris par *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) avant une exposition à l'alcool durant six heures a réduit les caractéristiques de la maladie alcoolique du foie (128). Le prétraitement par LGG a empêché la réduction induite par l'alcool du niveau d'ARNm de la claudine-1, ZO-1 et de l'occludine, protéines indispensables à l'intégrité de la barrière intestinale (Figure 21). Par conséquent, le traitement par LGG a permis de réduire de manière significative la perméabilité intestinale et l'endotoxémie.

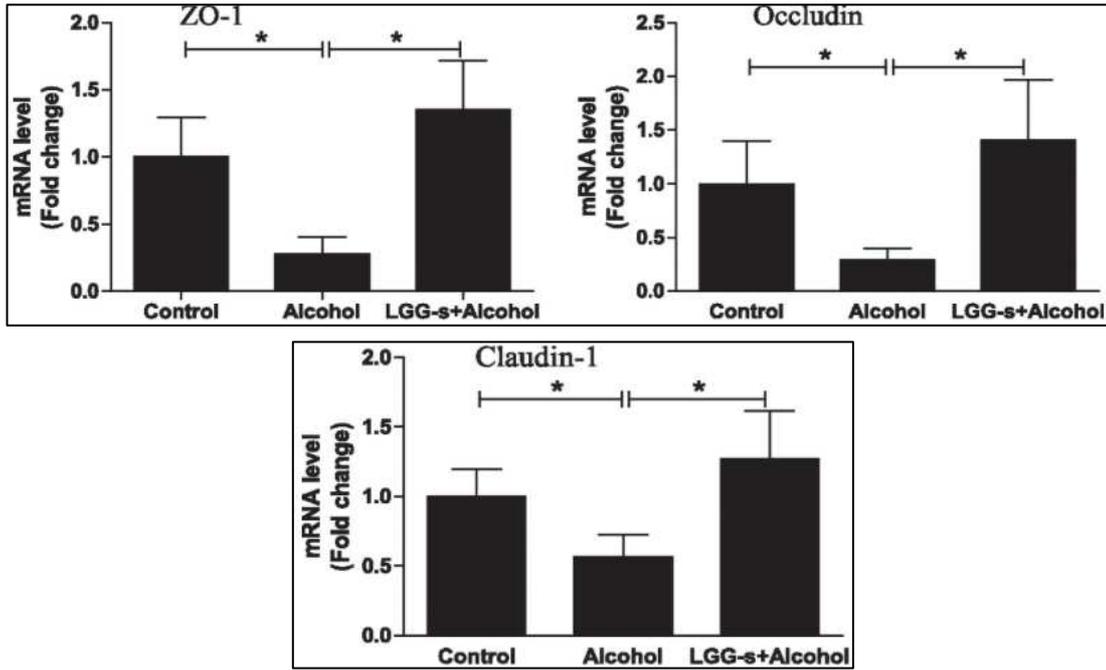


Figure 21: Effets du prétraitement par LGG sur le niveau d'ARNm des protéines des jonctions serrées de l'iléon de souris, après une exposition à l'alcool de 6h (128)

Dans une étude de 2007, les effets de l'administration d'*Escherichia coli Nissle* à des patients cirrhotiques ont pu être étudiés sur le microbiote intestinale (129). Un groupe de patients a été traité pendant quarante-deux jours par *Escherichia coli Nissle* et un second groupe a été traité par un placebo. Une nette amélioration dans la restauration du microbiote chez les patients traités par probiotiques a été observé, ainsi qu'une tendance à la baisse de l'endotoxémie et l'amélioration des fonctions hépatiques, évaluées par le score de Child Pugh.

L'altération de la barrière intestinale due aux effets de l'alcool est associée à la production locale de cytokines proinflammatoires. Une étude sur des modèles animaux a montré que l'administration des probiotiques *Lactobacillus rhamnosus R0011* et *acidophilus R0052* diminue le taux de TNF- $\alpha$  et IL-1 $\beta$ , ce qui pourrait contribuer aux effets bénéfiques des probiotiques sur l'intégrité de la barrière intestinale dans les ALD (130). Cette étude a également montré une diminution de l'expression des TLR-4 chez ces sujets, diminuant ainsi l'inflammation.

Enfin, l'administration de probiotiques permettrait aux neutrophiles de retrouver leur capacité de phagocytose. Des patients atteints de cirrhose alcoolique ont été traités par *Lactobacillus casei Shirota* trois fois par jour pendant quatre semaines (131). Les résultats

obtenus ont été comparés à des témoins et à des individus cirrhotiques non traités. La capacité phagocytaire des patients traités par *Lactobacillus casei Shirota* a nettement augmenté pour atteindre la capacité de phagocytose des contrôles sains (Figure 22), contrairement à celle des patients non traités qui n'a pas évolué.

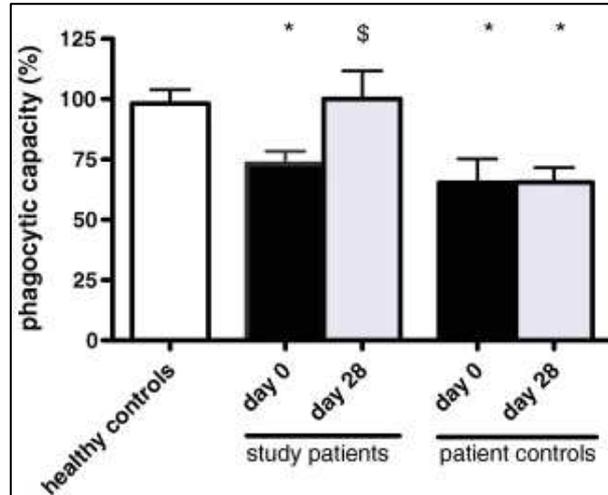


Figure 22: Capacité phagocytaire des témoins, des patients traités et des témoins cirrhotiques (131)

### VIII.2.3 Les prébiotiques

Selon Bengmark et Martindal (132), les prébiotiques sont des « ingrédients alimentaires non digestibles qui présentent un effet bénéfique sur leur hôte en stimulant la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries résidant dans le colon, améliorant ainsi la santé de leur hôte » .

Contrairement aux probiotiques, les prébiotiques ne sont pas des bactéries vivantes mais des carbohydrates non digestibles dans la lumière intestinale et métabolisés par le microbiote. Ils sont utilisés comme source d'énergie par les bactéries bénéfiques et stimulent la croissance ainsi que l'activité de celles-ci. Les prébiotiques les plus utilisés sont les oligosaccharides tels que le galacto-oligosaccharide (GOS) et le fructo-oligosaccharide (FOS) (133), et sont présents dans des produits alimentaires comme l'asperge, le poireaux, l'endive, l'ail, l'oignon, l'avoine ou l'orge (134).

Des études pré-cliniques ont montré que l'administration de prébiotiques pouvait atténuer les dommages hépatiques chez le rat. Pendant douze semaines, des rats ont été gavés avec de l'alcool, avec ou sans traitement par de l'avoine (composé à 25% d'oligosaccharides et

aux propriétés anti-oxydantes) (135). L'expérience a montré que la supplémentation en avoine prévenait en parti les dommages de la barrière intestinale liés à l'alcool, en inhibant l'augmentation du stress oxydatif et des dommages oxydatifs des tissus intestinaux.

L'administration de FOS permet également une action sur le niveau des Reg3g (protéines antibactériennes de la barrière intestinale). Chez des souris alimentées à base d'alcool, certaines d'entre elles ont reçu un traitement FOS pendant trois semaines (91). Les résultats ont montré que les souris traitées par probiotiques présentaient un niveau de protéines Reg3g pratiquement semblable aux souris saines (Figure 23A). Cette restauration partielle permet alors l'inhibition de la surcroissance bactérienne aérobie (Figure 23C, graphique du haut) et anaérobie (Figure 23C, graphique du bas) et la réduction de la stéatohépatite alcoolique chez ces souris, ceci passant par la diminution du taux d'ALT (Figure 23B).

Cependant, il n'existe à l'heure actuelle aucune étude clinique chez l'Homme souffrant d'ALD.

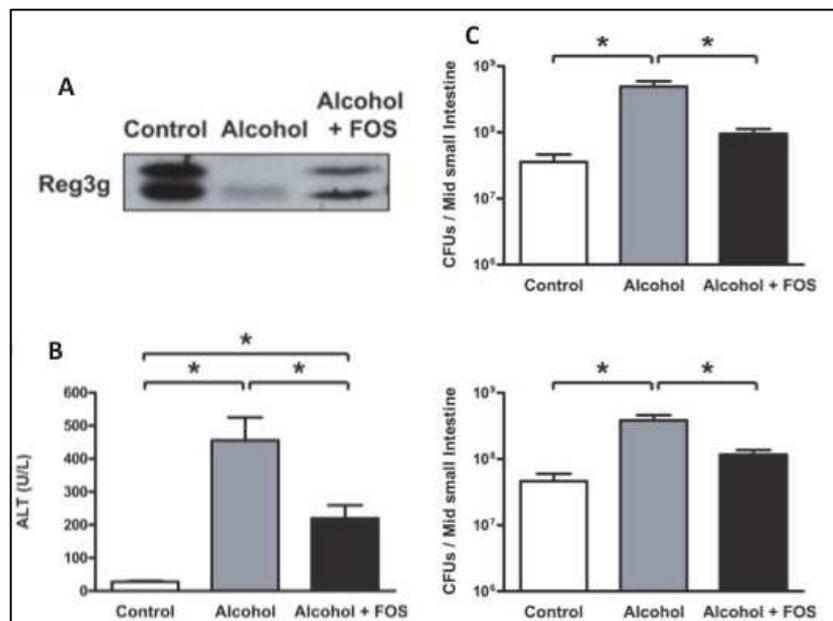


Figure 23: Amélioration de la stéatohépatite alcoolique par induction de l'expression des Reg3g et réduction de la prolifération bactérienne intestinale (91)

### VIII.2.4 Les symbiotiques

Les symbiotiques sont composés de probiotiques et de prébiotiques qui exercent leurs effets bénéfiques, stimulant la croissance des bactéries intestinales protectrices. Les prébiotiques sont d'autant plus bénéfiques qu'ils sont utilisés avec les probiotiques car leur association pourrait favoriser la survie et l'activité des probiotiques (136).

La supplémentation en symbiotiques (Floraguard®) chez des rats alimentés par de l'alcool a été comparée à des témoins (136). Il a été observé un impact positif sur le taux de TG et sur la réponse inflammatoire par inhibition de l'élévation du taux de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-6. Le traitement par symbiotiques a également permis d'agir sur le niveau plasmatique d'endotoxine en inhibant l'augmentation de la perméabilité intestinale et en rééquilibrant la composition du microbiote par augmentation du taux de lactobacilles et bifidobactéries.

Chez l'Homme, trente patients cirrhotiques dont la moitié ayant reçu une préparation de symbiotiques (association de quatre probiotiques et quatre prébiotiques) ont également montré une amélioration de leur microbiote avec une augmentation du nombre de *Lactobacillus* (Figure 24). Chez 44% des sujets, une amélioration du score de Child Pugh a pu être observée et les endotoxines plasmatiques sont devenues indétectables dans un tiers des cas (137).

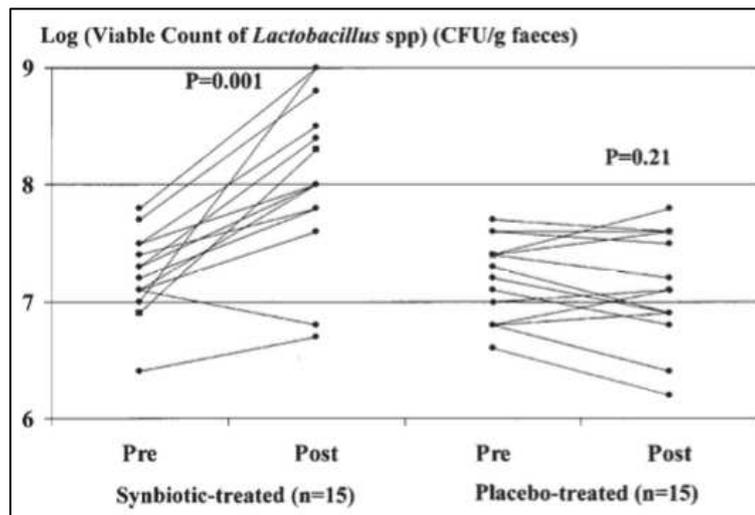


Figure 24: Variation du nombre de *Lactobacillus* fécal pré- et post- traitement par symbiotique ou placebo (CFU/g) (137)

**- PARTIE 3 -**

**INFLUENCE DU MICROBIOTE INTESTINAL DANS LA  
MALADIE HÉPATIQUE NON ALCOOLIQUE**

## I Epidémiologie de l'obésité et de la NAFLD

Le surpoids et l'obésité sont en hausse de manière alarmante dans le monde puisque depuis 1980 la prévalence de l'obésité a plus que doublé. Chez l'adulte, le surpoids et l'obésité sont définis par l'indice de masse corporel (IMC) qui est le ratio du poids en kilogramme par le carré de la taille en mètre. Le surpoids est défini par un IMC compris entre 25 et 30, l'obésité est définie par un IMC supérieur à 30 (Tableau 3).

Tableau 3 : Interprétation de l'IMC chez l'adulte

| IMC (kg/m <sup>2</sup> ) | INTERPRETATION             |
|--------------------------|----------------------------|
| + de 40                  | Obésité morbide ou massive |
| 35 – 40                  | Obésité sévère             |
| 30 – 35                  | Obésité modérée            |
| 25 – 30                  | surpoids                   |
| 18,5 – 25                | Corpulence normale         |
| 16,5 – 18,5              | Maigreur                   |
| - de 16,5                | Famine                     |

D'après l'OMS, en 2014, 1,9 milliards d'individus de plus de 18 ans étaient en surpoids dans le monde, dont 600 millions étaient obèses, soit 39% de surpoids et 13% d'obésité mondiale (Figure 25) (138). Les complications associées à l'obésité entraînent le décès de près de 2,8 millions d'individus chaque année.

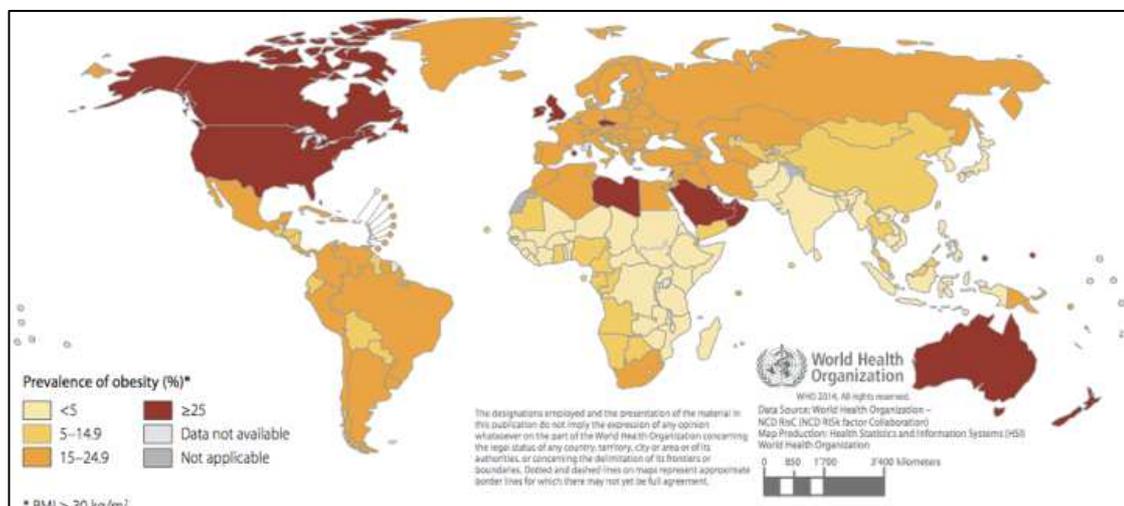


Figure 25 : Prévalence de l'obésité (chez l'homme) >18 ans, d'IMC >30, en 2014 (138)

Selon la 6<sup>e</sup> édition de l'étude ObEpi conduite par les laboratoires Roche, l'obésité touchait en France 6,9 millions d'individus en 2012, soit 15% de la population adulte totale (139) (Figure 26).

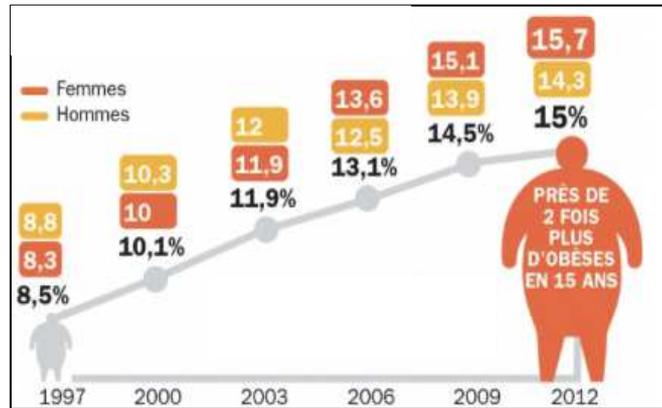


Figure 26: Evolution de l'obésité en France (139)

L'obésité et l'insulino-résistance sont associées à un risque accru de maladies hépatiques telles que les stéatoses hépatiques non alcooliques ou NAFLD (*Nonalcoholic fatty liver disease*). Cette dernière représente la première cause de maladie hépatique dans les pays développés affectant près d'un tiers de la population (140). La prévalence de la NAFLD a ainsi doublé ces vingt dernières années, contrairement à celle d'autres maladies hépatiques chroniques restée stable voire même ayant diminué (141). La NAFLD affecte 20% à 30% des adultes, plus de 80% des obèses dans le monde et 40% à 50% des individus atteints de NAFLD ont développé un diabète de type 2 et présentent une insulino-résistance (142). De plus, 10% à 30% des patients atteints de stéatose développeront une stéatohépatite non alcoolique (NASH) et 10% à 29% de ces NASH évolueront en cirrhose dans les 10 ans (Figure 27) (143,144).

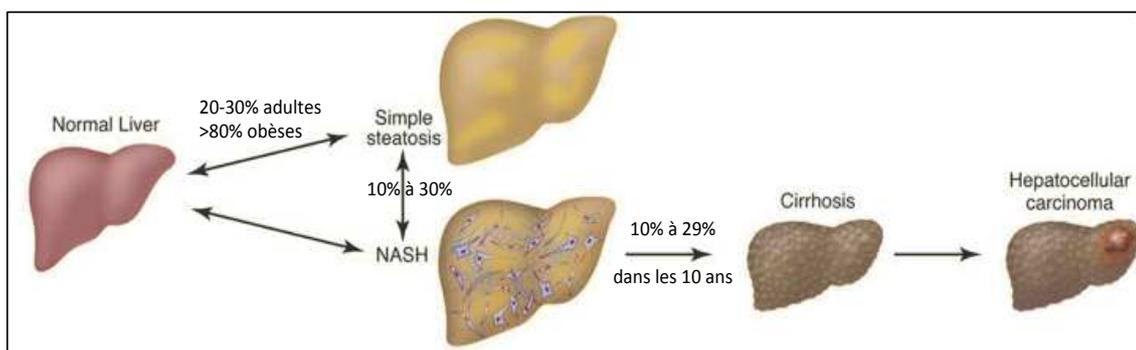
## II Définition de l'hépatopathie stéatosique non alcoolique

La NAFLD regroupe un ensemble de pathologies allant de la stéatose hépatique non alcoolique à la cirrhose, en passant par la stéatohépatite non alcoolique ou NASH. La NAFLD étant souvent associée à l'obésité, la résistance à l'insuline au diabète, les interactions entre le foie et l'intestin, nommé aussi « axe intestin – foie », jouent un rôle crucial dans son apparition et sa progression.

La stéatose hépatique non alcoolique est caractérisée par une stéatose pure du tissu hépatique caractérisée par une accumulation excessive de TG sous forme de gouttelettes lipidiques dans les cytoplasmes des hépatocytes. La stéatose est considérée comme pathologique lorsqu'elle affecte plus de 5% des hépatocytes. Elle n'est ni accompagnée d'inflammation ni de fibrose. La stéatose se développe lorsque que le taux d'acides gras entrants (estérifié par la suite en TG) est supérieur au taux d'acides gras sortants (par oxydation et sécrétion). Il y a alors une augmentation significative des TG dans les hépatocytes.

La NASH, forme la plus sévère de la NAFLD, se distingue de la stéatose pure par la présence de lésions hépatocytaires s'accompagnant d'une inflammation du tissu hépatique et d'une ballonnisation hépatocellulaire, avec ou sans fibrose. Seule une biopsie hépatique permet de faire la distinction entre une stéatose simple et une NASH et de déterminer le degré de sévérité de la maladie.

Selon l'ampleur des dommages subis par le foie, la fibrose peut-être plus ou moins importante, et l'on distingue plusieurs stades. Le stade F1 désigne une fibrose légère, le stade F3, une fibrose sévère. On parle de cirrhose à partir du stade F4.



**Figure 27: Evolution de la NAFLD (142)**

Actuellement, la classification histologique la plus souvent utilisée est le score NAFLD Activity Score (NAS), développée en 2005 par Kleiner *et al.* Ce score d'activité de la maladie est basé sur les principales lésions histologiques de NAFLD (145). Le score NAS est la somme des scores individuels pour la stéatose (0-3), l'inflammation lobulaire (0-2) et la ballonnisation hépatocellulaire (0-2), et varie de 0 à 8 (Tableau 4). Il est également associé au score de fibrose. Ainsi, un score NAS égal à 1 ou 2 confirme l'absence de la NASH alors qu'un score de 5 à 8 confirme une NASH. Un score de 3 ou 4, qualifié de "borderline" ne permet pas d'établir un

diagnostic.

Le score SAF (Steatosis Activity Fibrosis), créé en 2012, permet la classification des mêmes lésions hépatiques que le score NAS (146). Cependant l'évaluation de la stéatose, réalisée séparément, et le regroupement des scores de fibrose de Kleiner (1a, 1b, 1c) en un seul stade 1 permettent de mieux discriminer la NASH. Ainsi la présence d'une stéatose supérieure à 5% des hépatocytes confirme le diagnostic de NAFLD ( $S \geq 1$ ). Les patients ayant une NAFLD sans ballonisation ou avec une ballonisation minimale et sans inflammation lobulaire ( $A < 3$ ) sont classés comme stéatose simple. La présence d'une stéatose hépatique ( $S \geq 1$ ) associée soit à une inflammation sévère ( $A \geq 3$ ) soit à une ballonisation ou une inflammation lobulaire, définit la NASH.

**Tableau 4 : NAFLD Activity Score**

| Degré d'activité de la NASH                           | NAFLD activity score (NAS) |                |                  |                |
|---|----------------------------|----------------|------------------|----------------|
|   | 0                          | 1              | 2                | 3              |
| Stéatose (grade)                                      | < 5%                       | 5% - 33%       | > 33% - 66%      | > 67%          |
| Inflammation lobulaire (x200/champ)                   | Sans infiltrat             | < 2 Infiltrats | 2 - 4 infiltrats | > 4 infiltrats |
| Ballonisation   | Absence                    | Quelques       | Nombreuses       | -              |
| Stade de la fibrose de la NASH                        | Stade                      |                |                  |                |
| Aucune  | 0                          |                |                  |                |
| Légère, fibrose périsinusoïdale, zone 3               | 1a                         |                |                  |                |
| Modérée, fibrose périsinusoïdale, zone 3              | 1b                         |                |                  |                |
| Fibrose portale/périportale uniquement                | 1c                         |                |                  |                |
| Fibrose périsinusoïdale et portale/périportale zone 3 | 2                          |                |                  |                |
| Ponts fibreux   | 3                          |                |                  |                |
| Cirrhose  | 4                          |                |                  |                |

Par ailleurs, la distinction entre la NASH et la stéatohépatite alcoolique est uniquement possible par la réalisation d'une anamnèse ciblée, car les deux affections sont identiques sur le plan histologique.

La progression de la stéatose vers une NASH augmente de façon dramatique le risque de cirrhose et d'insuffisance hépatique (147). Le lien entre le passage de la stéatose à la NASH n'est pas clairement défini mais il pourrait être dû à une modification du microbiote produisant de l'éthanol de manière endogène, amenant ainsi au développement de la NASH. (148). Il n'est

cependant pas certain que la stéatose précède obligatoirement la NASH (134).

### III Métabolisme hépatique lipidique

La stéatose hépatique provient du déséquilibre entre le taux de TG entrant et sortant au niveau du foie. Les acides gras utilisés pour la formation des TG hépatiques proviennent de différentes sources que sont l'alimentation, la synthèse *de novo* et le tissu adipeux.

Les lipides apportés par l'alimentation sont hydrolysés par le microbiote au niveau intestinal en acides gras et monoglycérol. Ceux-ci sont absorbés par les entérocytes et rapidement réestérifiés en TG. Après leur resynthèse, les TG passent dans la circulation systémique sous la forme de chylomicrons pour atteindre le foie. 80% de ces TG sont hydrolysés par les lipoprotéines lipases (LPL) présentes à la surface des cellules adipeuses et musculaires, relarguant les acides gras libres pour une absorption par ces types cellulaires. La synthèse des LPL est sous le contrôle du facteur de transcription PPAR. Les 20% restant, appelés chylomicrons remnants, rejoindront le foie. Chez une personne ayant adopté une alimentation riche en lipides, ces 20% correspondent à la moitié de la teneur en TG total du foie. Les lipases hépatiques hydrolyseront à leur tour les TG restants qui rejoindront le pool de cholestérol hépatique.

Les carbohydrates contenus dans l'alimentation participent à la synthèse *de novo* des acides gras libres, à partir de l'acétyl-coenzyme A, en augmentant le taux d'insuline. L'insuline stimule alors le facteur de transcription SREBP-1c par le biais d'une cascade de signalisation, provoquant l'activation d'enzymes catalisant la lipogénèse. Les carbohydrates peuvent également stimuler la lipogénèse *de novo* en activant un autre facteur de transcription ChREBP. En période post-prandiale, l'hydrolyse des TG a lieu par les hydrolases adipocytaires des TG. Les acides gras seront alors transportés vers le foie (142,149).

Le devenir des acides gras libres hépatiques suit différentes voies. Ceux-ci peuvent être métabolisés par  $\beta$ -oxydation au niveau des mitochondries, estérifiés ou associés à des apolipoprotéines pour former les VLDL. Ces lipoprotéines initient la voie centrifuge, elles transportent les TG d'origine hépatique vers les tissus périphériques, sous l'action des LPL.

Chez les patients atteints de NAFLD, l'augmentation du glucose plasmatique et de l'insuline associée à la stéatose hépatique stimule la lipogénèse *de novo* et inhibe l'oxydation des acides gras en affectant les SREBP-1c et les ChREBP, provoquant une accumulation de ces derniers dans le foie. De plus, l'insuline inhibe la lipolyse dans le tissu adipeux en supprimant les hydrolases adipocytaires des TG.

L'augmentation du taux d'acides gras par l'alimentation, le tissu adipeux et par la lipogénèse *de novo* amplifie donc la stéatose hépatique. L'éthanol synthétisé de façon endogène par le microbiote a également un impact sur le métabolisme lipidique.

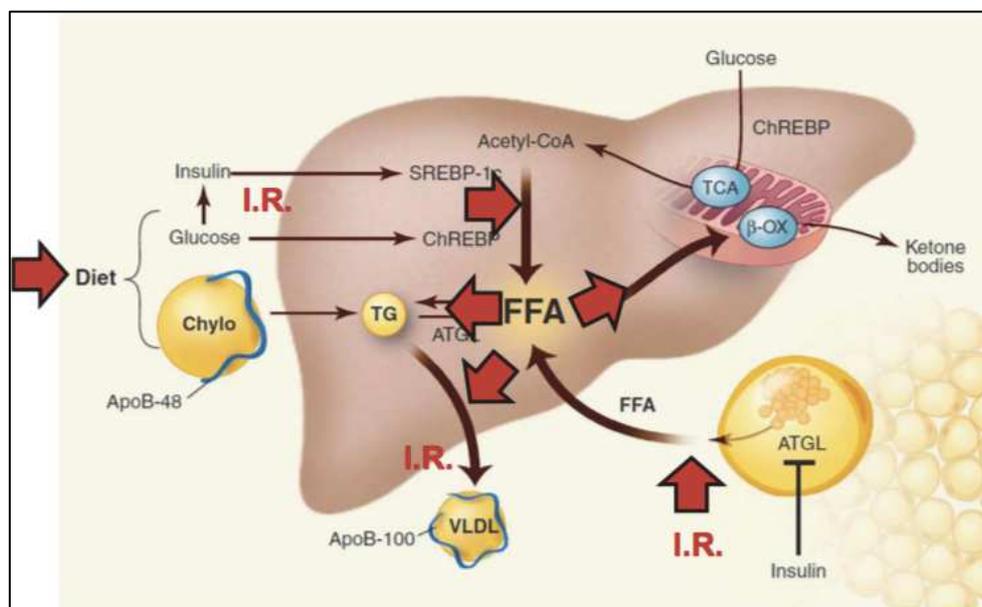


Figure 28 : Métabolisme hépatique des acides gras libres (142)

#### IV Dysbiose et SIBO dans la NAFLD

En dépit des preuves sur le rôle joué par le microbiote intestinal dans la pathogénèse de l'obésité, la composition du microbiote des individus atteints de NAFLD n'avait encore jamais été clairement caractérisée. Grâce aux progrès des méthodes analytiques, il est aujourd'hui possible d'identifier de manière plus poussée les bactéries constituant le microbiote intestinal de ces personnes.

Les personnes obèses sans NAFLD présentent un microbiote différent de celui des individus de corpulence normale. Ley *et al.* ont réalisé une étude sur douze patients obèses qui

a montré une plus forte abondance en phylum *Firmicutes* et plus faible en *Bacteroidetes* par rapport aux sujets de corpulence normale (150). Malgré d'autres études allant dans ce sens, de récentes études ont parfois contredit ces résultats puisqu'elles ont montré un taux plus faible en *Firmicutes* et plus élevé en *Bacteroidetes* et *Proteobacteria*, le ratio *Bacteroidetes/Firmicutes* augmentant (151–153). Ainsi dans le phylum *Firmicutes*, les familles *Ruminococcaceae* (pour les genres *Ruminococcus* et *Faecalibacterium*) et *Lachnospiraceae* (pour les genres *Roseburia*, *Blautia* et *Coprococcus*) ont été diminuées.

Tableau 5 : Evolution du microbiote chez l'adulte obèse (IMC >30)

| PHYLUM   | CLASSE                  | ORDRE                    | FAMILLE                   | GENRE                     |
|--|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <b><i>Bacteroidetes</i></b><br>↓(150) ↑(151–153) | <i>Bacteroidia</i>      | <i>Bacteroidales</i>     | <i>Prevotellaceae</i> ↑   | <i>Prevotella</i> ↑       |
| <b><i>Firmicutes</i></b><br>↑(150) ↓(151–153)    | <i>Clostridia</i>       | <i>Clostridiales</i>     | <i>Eubacteriaceae</i>     | <i>Eubacterium</i> ↓      |
|  |                         |                          | <i>Ruminococcaceae</i> ↓  | <i>Faecalibacterium</i> ↓ |
|  |                         |                          |                           | <i>Ruminococcus</i> ↓     |
|  |                         |                          | <i>Lachnospiraceae</i> ↓  | <i>Blautia</i> ↓          |
|  |                         |                          |                           | <i>Coprococcus</i> ↓      |
|  |                         |                          |                           | <i>Roseburia</i> ↓        |
| <b><i>Proteobacteria</i></b> ↑                   | <i>γ-proteobacteria</i> | <i>Enterobacteriales</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Escherichia</i> ↑      |

Le microbiote des individus atteints de stéatose simple est également différent de celui des obèses. Raman *et al.* ont observé une augmentation du taux de *Firmicutes* chez les patients atteints de stéatose simple avec une élévation des taux des genres *Lactobacillus*, *Dorea*, *Roseburia* et *Robinsoniella*. Toutefois, le taux de la famille *Ruminococcaceae* et du genre *Oscillobacter* est réduit (154). Ces patients ont aussi une diminution du niveau en *Bacteroides* et une augmentation du niveau en *Prevotella* (148).

Zhu *et al.* ont rapporté des différences dans la composition du microbiote chez des enfants NASH par rapport à des enfants obèses et des enfants de corpulence normale. Ils ont en effet remarqué que *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* et *Escherichia* étaient les seuls types de phylum, famille et genre à avoir un taux significativement supérieur chez les enfants NASH que chez les obèses (151). Dans cette étude, la famille *prevotellaceae* (dont le genre majoritaire était *Prevotella*) était en nombre largement supérieur chez les NASH et obèses que chez les individus normaux. Les patients NASH ont également un taux supérieur pour l'ordre des

*Aeromonadales*, les familles des *Succinivibrionaceae* et *Porphyromonodaceae* et pour les genres *Parabacteroides* et *Allisonella* par rapport aux contrôles sains (155). D'après une étude menée par Mouzaki *et al.*, les patients atteints de NASH ont une augmentation significative du pourcentage de *Blautia coccooides* (anciennement *Clostridium coccooides*) et un pourcentage plus faible en *Bacteroidetes* par rapport aux patients à stéatose simple et aux individus sains, mais aucune différence significative du taux d'*Escherichia coli* n'est observée. Cette étude suggère une association indépendante de l'IMC entre *Bacteroidetes* et l'état d'avancement de la maladie hépatique (156). Cette diminution pourrait participer à la libération de LPS, responsable de lésions inflammatoires hépatiques, l'inflammation étant un facteur essentiel de gravité de l'hépatopathie. Ce résultat contraste avec l'étude de Zhu *et al.* qui avait montré une augmentation des *Bacteroidetes*, pouvant être due au déséquilibre de l'IMC entre les groupes dans cette étude. Les patients NASH ont également des taux inférieurs pour le phylum Firmicutes, les genres *Faecalibacterium* et *Anaerospro bacter* appartenant à l'ordre des *Clostridiales* (155).

Munukka *et al.* ont trouvé une faible abondance de *Faecalibacterium prausnitzii* et un rapport *Faecalibacterium prausnitzii*/*Bacteroides* diminué en cas de stéatose (157). Cette bactérie *Faecalibacterium prausnitzii* a des propriétés anti-inflammatoires, et il a été montré que sa diminution entraînait une augmentation de la perméabilité intestinale.

Des bactéries telles que *Akkermansia muciniphila*, même si présente en faible quantité (inférieure à 1%) sont capables d'affecter profondément le métabolisme de l'hôte. Ces bactéries dégradant les mucines intestinales ont été reconnues comme étant capables de jouer sur les troubles métaboliques induits par une alimentation riche en graisses, y compris la prise de poids, l'endotoxémie métabolique, l'inflammation du tissu adipeux et la résistance à l'insuline (158). Elles sont également capables d'augmenter le taux intestinal d'endocannabinoïdes qui contrôlent l'inflammation et la perméabilité intestinale.

Tableau 6 : Evolution du microbiote chez les patients atteints d'ALD

| REFERENCE                           | PHYLUM                  | CLASSE                  | ORDRE                  | FAMILLE                      | GENRE                       |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| Stéatose<br>vs<br>obésité<br>(154)  | <i>Bacteroidetes</i> ↓  | <i>Bacteroidia</i>      | <i>Bacteroidales</i>   | <i>Prevotellaceae</i>        | <i>Prevotella</i> ↑         |
|                                     | <i>Firmicutes</i> ↑     | <i>Bacilli</i>          | <i>Lactobacillales</i> | <i>Lactobacillaceae</i>      | <i>Lactobacillus</i> ↑      |
|                                     |                         | <i>Clostridia</i>       | <i>Clostridiales</i>   | <i>Lachnospiraceae</i> ↑     | <i>Dorea</i> ↑              |
|                                     |                         |                         |                        | <i>Oscillospiraceae</i>      | <i>Roseburia</i> ↑          |
|                                     |                         |                         |                        | <i>Ruminococcaceae</i> ↓     | <i>Robinsoniella</i> ↑      |
|                                     |                         |                         |                        | <i>Oscillobacter</i> ↓       |                             |
| NASH<br>vs<br>obésité<br>(151)      | <i>Proteobacteria</i> ↑ | <i>γ-proteobacteria</i> | Enterobacteriales      | Enterobacteriaceae ↑         | <i>Escherichia (coli)</i> ↑ |
| NASH<br>vs<br>contrôle<br>(151,155) | <i>Bacteroidetes</i> ↓  | <i>Bacteroidia</i>      | <i>Bacteroidales</i>   | <i>Prevotellaceae</i> ↑      | <i>Prevotella</i> ↑         |
|                                     |                         | <i>Bacteroidia</i>      | <i>Bacteroidiales</i>  | <i>Porphyromonodaceae</i> ↑  | <i>Parabacteroides</i> ↑    |
|                                     | <i>Firmicutes</i> ↓     | <i>Clostridia</i> ↓     | <i>Clostridiales</i> ↓ | <i>Clostridiaceae</i>        | <i>Anaerosporobacter</i> ↓  |
|                                     |                         |                         |                        | <i>Ruminococcaceae</i> ↓     | <i>Faecalibacterium</i> ↓   |
|                                     | <i>Negativicutes</i>    | <i>Selenomonadales</i>  | <i>Veillonellaceae</i> | <i>Allisonella</i> ↑         |                             |
|                                     | <i>Proteobacteria</i> ↑ | <i>γ-proteobacteria</i> | <i>Aeromonadales</i> ↑ | <i>Succinivibrionaceae</i> ↑ |                             |
| NASH<br>vs<br>stéatose<br>(156)     | <i>Bacteroidetes</i> ↓  |                         |                        |                              |                             |
|                                     | <i>Firmicutes</i> ↓     | <i>Clostridia</i> ↓     | <i>Clostridiales</i> ↓ | <i>Lachnospiraceae</i> ↑     | <i>Blautia (coccoides)</i>  |

## V L'inflammation de bas grade

Les maladies métaboliques telles que l'obésité et l'insulino-résistance sont caractérisées par une inflammation chronique, dite inflammation de bas grade, dans laquelle le microbiote est impliqué (Figure 29).

Un régime hyperlipidique ou hyperglucidique provoque dysbiose et SIBO. L'altération du microbiote entraîne une altération de l'intégrité de la barrière intestinale avec pour conséquence la perméabilité aux endotoxines. La présence de LPS dans la circulation systémique provoque l'activation du système immunitaire inné et une forte sécrétion des cytokines pro-inflammatoire, en particulier le TNF- $\alpha$ . L'inflammation de bas grade implique un réseau complexe de signaux interconnectés au foie, tissu adipeux et muscles. Au niveau hépatique, le LPS provoque une inflammation hépatocellulaire en stimulant les cellules de Kupffer et les cellules stellaires après reconnaissance par les récepteurs TLR-4, entraînant alors le développement d'une inflammation et d'une fibrose comme décrit précédemment.

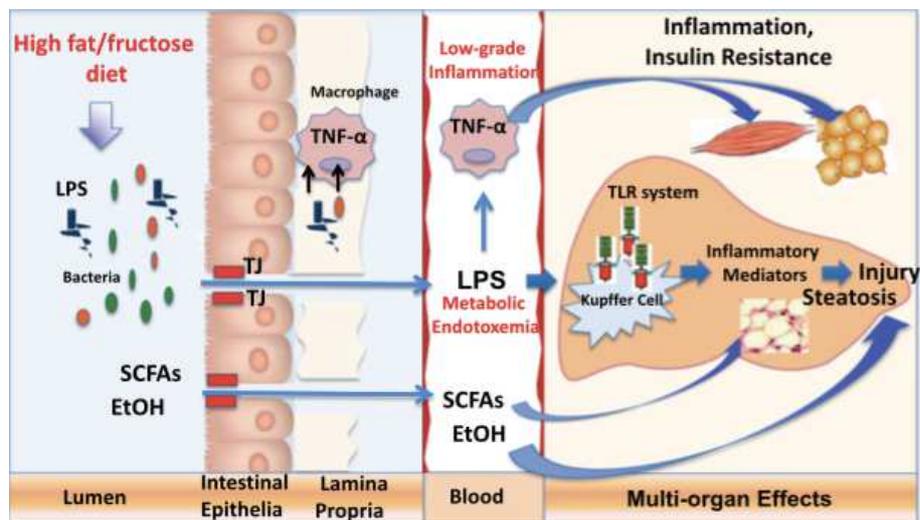
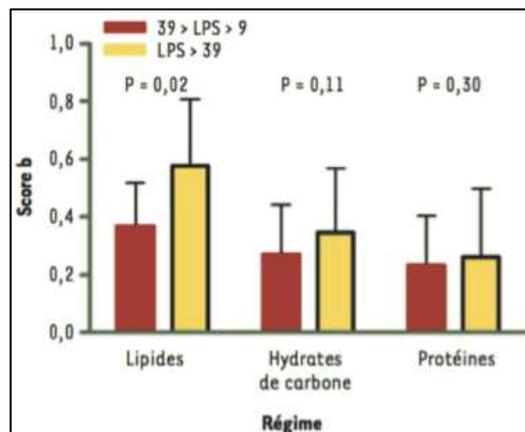


Figure 29 : L'interaction entre les facteurs alimentaire, le microbiote et la barrière intestinale dans la NAFLD (159)

Selon une étude réalisée chez la souris, l'endotoxémie était augmentée ou diminuée après un repas ou lors du jeûne, respectivement. Après quatre semaines nourries par un régime riche en matières grasses, la concentration en LPS plasmatique avait doublé voire triplé, atteignant un seuil désigné comme endotoxémie métabolique (160). Cette étude a également prouvé que ce type de régime était associé à une augmentation des bactéries contenant des LPS, les bactéries à Gram(-). Quand l'endotoxémie métabolique était induite par infusion de LPS

pendant quatre semaines chez des souris, la prise de poids du foie et des tissus adipeux étaient similaires à une alimentation riche en lipides. Cette prise de poids survenait en parallèle à l'insulino-résistance. Ces réactions ne se produisaient pas avec des souris mutantes CD-14, indiquant que la signalisation LPS/CD-14 est nécessaire.

Chez l'Homme, il est reconnu qu'un repas riche en lipides entraîne une hyperlipidémie postprandiale et que celle-ci est associée à une augmentation de médiateurs de l'inflammation (161). De plus, comme évoqué précédemment, un changement de régime alimentaire notamment riche en lipides, induit une surcroissance des bactéries capables d'augmenter la récupération énergétique mais aussi une dysbiose aboutissant à une augmentation de la proportion en LPS (Figure 30). L'inflammation postprandiale pourrait alors être en partie liée à l'élévation de l'endotoxémie.



**Figure 30 : Concentration plasmatique des LPS chez l'Homme en fonction des habitudes alimentaires (162)**

Miele *et al.* ont démontré pour la première fois que la stéatose chez l'homme était associée à une augmentation de la perméabilité de l'intestin grêle. Le suivi de patients atteints de stéatose hépatique pendant six mois a montré une augmentation de la perméabilité intestinale ainsi qu'une augmentation de la prévalence de la SIBO (163). L'augmentation de cette perméabilité est liée à une rupture des jonctions serrées (jonctions ZO-1) de l'intestin. Cette augmentation de la perméabilité est significative chez les patients NAFLD par rapport aux contrôles sains (Figure 31A), et elle est encore plus visible pour les patients NAFLD ayant une stéatose modérée à sévère (Figure 31B). La prévalence de la SIBO est quand à elle corrélée avec la sévérité de la stéatose (Figure 32). Ceci peut suggérer que l'augmentation de la perméabilité

intestinale est la condition *sine qua non* pour la contribution de l'axe foie-intestin dans le développement de la NAFLD.

De plus, la prévalence de la perméabilité intestinale et de la SIBO ont été prouvées comme étant corrélées à la sévérité de la stéatose mais ne sont pas liées à la présence d'une NASH.

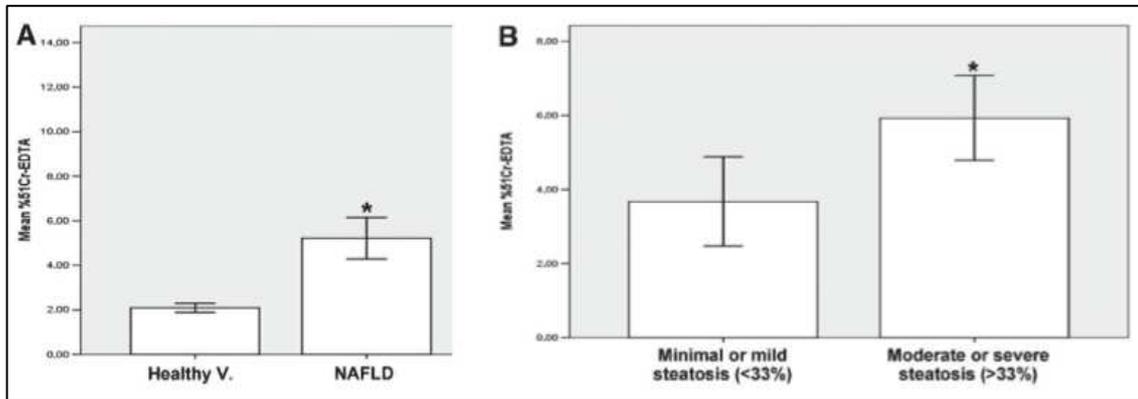


Figure 31 : La perméabilité intestinale entre (A) contrôles sains et NAFLD et entre (B) sévérité de la stéatose (163)

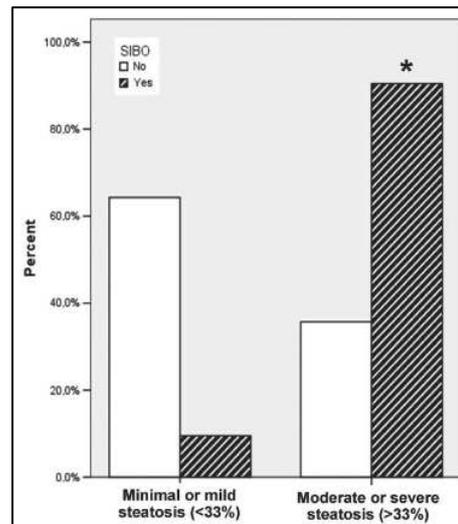


Figure 32 : Prévalence de la SIBO en fonction de la sévérité de la stéatose (163)

L'augmentation de la perméabilité intestinale permet alors, comme dans le cas des pathologies alcooliques, la translocation de LPS dans la circulation systémique *via* la formation des chylomicrons, pour rejoindre le foie, les tissus adipeux ou encore les tissus musculaires (164). L'inflammation à bas bruit qui s'installe dans ces tissus de façon chronique favorise l'insulinorésistance préalable au diabète et à l'obésité.

Chez la souris NASH déficiente en choline, Rivera *et al.* ont observé une endotoxémie portale et une élévation de l'expression des TLR-4, CD-14 et MD-2 au niveau des KC, menant à la production des cytokines pro-inflammatoires (165).

La prévalence de la NAFLD est dépendante de l'expression en TLR-4 ou TLR-9 et en récepteur au TNF $\alpha$  (151). De même que l'activation des TLR-4 et TLR-9 est requise pour l'évolution de la sévérité de la NASH (166).

## **VI Conséquences fonctionnelles de la dysbiose et de la perméabilité intestinale**

Les patients atteints de NAFLD dans le monde sont obèses dans 80% des cas (142). L'évolution du microbiote intestinal discutée précédemment et ses mécanismes joueraient un rôle dans les NAFLD (90). Il aurait en effet un impact sur l'homéostasie énergétique, la production endogène d'alcool, la modulation du système endocannabinoïde et de la bile, ainsi que sur le métabolisme de la choline.

### **VI.1 La régulation de l'homéostasie énergétique**

Malgré le fait que les études ne s'accordent pas sur le rapport *Bacteroidetes/Firmicutes*, il en ressort clairement que la composition du microbiote d'un individu obèse est associée à l'augmentation de sa capacité à collecter l'énergie depuis l'alimentation, et plus particulièrement à travers les acides gras à courtes chaînes (AGCC).

Les AGCC, principalement constitués d'acétate, propionate et butyrate, sont les produits de fermentation majeurs des fibres par le microbiote intestinal. L'acétate et le propionate sont absorbés, métabolisés dans le foie et utilisés comme substrats pour la néoglucogénèse et la lipogénèse (46). Les AGCC seraient impliqués dans la pathogénèse de la NAFLD du fait de leur contribution dans l'obésité.

La première preuve a été fournie par l'équipe de Turnbaugh *et al.* qui a remarqué que le microbiote des souris obèses était enrichi en gènes métabolisant les carbohydrates et que la concentration en AGCC étaient augmentée au niveau du côlon de ces animaux (167). Chez

l'Homme, Schwartz *et al.* ont notifié que les patients obèses avaient une moyenne totale d'AGCC 20% supérieure aux témoins (153).

Bien que les phyla *Firmicutes* et *Bacteroidetes* soient tout deux producteurs d'AGCC, il semblerait que le phylum *Bacteroidetes* et plus particulièrement le genre *Prevotella* soit majoritaire dans la production des AGCC (38). Comme vu précédemment, ce genre est retrouvé en proportion élevée chez les obèses et les patients atteints de NAFLD (Tableau 5 et Tableau 6). Il semblerait également qu'une alimentation riche en fibres végétales fournisse des substrats de fermentation pour *Prevotella* et ainsi stimule sa prolifération (38). L'élévation du taux d'énergie extrait passe alors par les AGCC produits par le microbiote intestinal et semble contribuer au développement de l'obésité et de la NAFLD.

De plus, le microbiote inhibe la synthèse d'une molécule "signal", le facteur FIAF (*fasting-induced adipocyte factor* aussi connu sous le nom d'ANGPTL4). Ce facteur est un inhibiteur circulant de la LPL (impliquée dans le métabolisme des TG) au niveau des cellules épithéliales. L'expression de FIAF a été soulignée suite à l'étude de souris déficientes en FIAF suivant un régime hyperlipidique (168). Ces souris ont eu une prise de poids supérieure aux souris témoins. La réduction du niveau des FIAF permet alors une activité plus élevée des LPL endothéliales ce qui engendre une perturbation de stockage des TG au sein des lipoprotéines, au profit des adipocytes pour permettre un stockage des graisses plus important au niveau des tissus adipeux, du foie et du cerveau (168,169). Ces expériences n'ont toutefois été conduites que sur des modèles de souris.

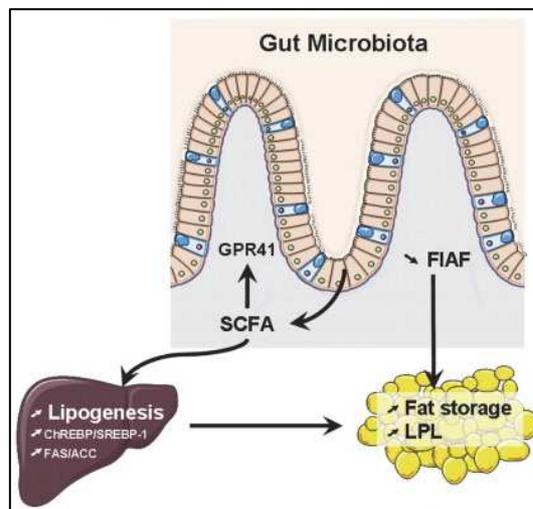


Figure 33 : Régulation par le microbiote intestinal du stockage énergétique (37)

## VI.2 La production endogène d'alcool

Il est prouvé depuis longtemps que l'éthanol, en plus d'être ingéré par voie orale, peut aussi être produit de manière endogène par le microbiote, comme suggéré en 1971 par une élévation du taux d'alcool sanguin suite à une alimentation exempte l'alcool (170).

L'implication possible de l'alcool produit de façon endogène dans les NAFLD a d'abord été évaluée chez des souris ob/ob par Cope *et al.*. La concentration d'alcool sérique, déterminée par test respiratoire, a été comparée entre des souris obèses et des souris témoins (171). L'air expiré des souris obèses avait une teneur en éthanol supérieure à celui des souris témoins (Figure 34A). De plus, chez les sujets obèses, une augmentation liée à l'âge du taux d'éthanol reflète une production accrue d'éthanol par le microbiote intestinal qui subit une dysbiose de plus en plus importante avec l'âge (Figure 34B). Par conséquent, la production d'éthanol intestinal peut contribuer au développement de la stéatose hépatique associée à l'obésité.

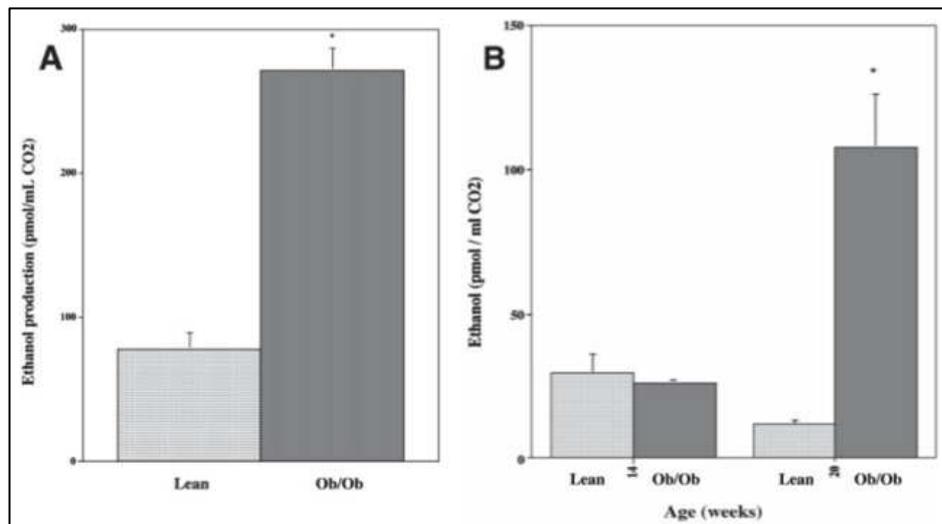


Figure 34 : taux d'éthanol expiré en fonction du type et de l'âge des souris (171)

D'après une étude réalisée par Zhu *et al.*, il a été montré que les enfants atteints de NASH présentent des concentrations d'éthanol sériques plus élevées que les obèses à taux de transaminases normales et que les sujets sains (151). L'étude concernant des enfants, ces résultats ne peuvent vraisemblablement pas être biaisés par une prise d'alcool. Une nouvelle hypothèse est alors évoquée pour expliquer la NAFLD : le microbiote de ces patients serait enrichi en bactéries produisant de l'alcool endogène.

Cette même équipe a également remarqué que les gènes ADH et ALDH étaient parmi les gènes à croissance accrue au niveau du foie des patients atteints de NASH, se traduisant par un niveau élevé de NADH ce qui favorise la synthèse d'acides gras, amplifiant la stéatose (172). De plus, les CYP2E1 sont également élevés dans le foie de ces patients, entraînant une élévation des ROS et menant à l'inflammation hépatique. La raison la plus probable est qu'une forte concentration d'alcool circulant chez ces patients active significativement le métabolisme de l'éthanol (173).

Le microbiote intestinal serait donc responsable de la hausse de production de l'alcool endogène chez les patients atteints de NASH.

Des différences importantes ont été observées au niveau des phyla, familles et genres entre des patients obèses (avec ou sans NASH) et des sujets sains. Cependant, peu de différences ont été révélées entre le microbiote de personnes obèses et celui de patients NASH, excepté pour le genre *Escherichia*, qui est présent de manière significativement disproportionnée entre des enfants obèses et des enfants atteints de NASH (151).

De nombreuses autres bactéries ont également la capacité d'induire la fermentation des carbohydrates en éthanol. La surcroissance gastrique d'*Helicobacter pylori* participe à cette production endogène. Les bactéries coliformes telles que *Klebsiella pneumoniae*, et *Escherichia coli* au niveau de l'intestin grêle, et *Clostridium spp.* au niveau du colon, peuvent aussi participer à la production d'alcool endogène (85).

L'abondance croissante, chez les patients atteints de NASH, de bactéries productrices d'éthanol, l'élévation du taux d'éthanol sanguin chez ces patients et le rôle établi du mécanisme de l'alcool dans le stress oxydatif et par conséquent l'inflammation du foie, suggère un rôle du microbiote producteur d'éthanol dans les NASH.

### **VI.3 La modification du métabolisme de la choline**

La choline pourrait également être impliquée dans le développement de la NAFLD. Elle est apportée chez l'Homme par la phosphatidylcholine (PtdCho) de l'alimentation avec une prédominance dans les œufs, le lait, le foie, la viande rouge, la volaille, les fruits de mer et le poisson (174).

Chez l'individu sain, la choline rejoint intacte le foie. Elle y est alors oxydée en bétaine (qui sera renvoyée dans la circulation sanguine) ou redevient PtdCho pour permettre la synthèse de VLDL et le transport des TG hépatiques vers les tissus ayant besoin d'énergie (Figure 35) (175).

Cependant, des études sur l'Homme ont montré que le faible taux de choline favorise l'engraissement du foie ainsi que des dommages au niveau de cet organe (176,177). En effet, chez les patients consommant une alimentation riche en graisses la choline est métabolisée en triméthylamine (TMA) par le microbiote. La TMA rejoint alors le foie pour être oxydée, via des flavine-monooxygénase de type 3 (FMO3), en triméthylamine-N-oxide (TMAO). Le TMAO est ensuite relargué dans la circulation sanguine (Figure 35). Cette dernière molécule contribue au développement de maladies cardiovasculaires et à l'athérosclérose (178). Du fait de la réduction de la biodisponibilité de la choline à cause de sa conversion en méthylamine par le microbiote, on observe une réduction du taux de PtdCho dans le foie. Ce mécanisme mime alors une alimentation carencée en choline. Cette réduction de la biodisponibilité de la choline liée au microbiote se traduit par une diminution de la sécrétion hépatique de VLDL et une accumulation des TG hépatocytaires (179). De plus, la choline et la bétaine ont pour fonction d'être donneurs de méthyl dans la voie concernant la méthylation des histones, éléments jouant potentiellement un rôle dans les NAFLD (175).

Par conséquent, un faible taux plasmatique en PtdCho et une forte excrétion urinaire de méthylamines engendrés par le microbiote intestinal sont donc associés à une altération de l'homéostasie du glucose et à une NAFLD.

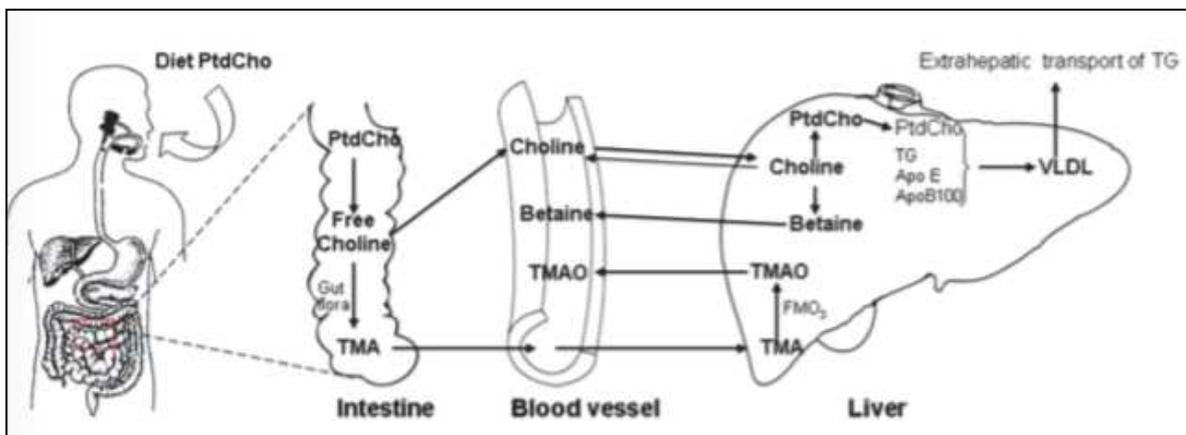


Figure 35 : Métabolisme de la Choline (175)

## VI.4 La modulation de la bile

En plus d'être la voie principale d'élimination du cholestérol de l'organisme, l'élément indispensable à la solubilisation et l'absorption intestinale des lipides et des vitamines liposolubles alimentaires, les acides biliaires ont également un rôle dans le maintien de l'homéostasie. Ils ont en effet une fonction de molécule signal en se liant à des récepteurs nucléaires FXR (*farnesoid X receptor*), au niveau intestinal et hépatique.

Les acides biliaires ainsi formés dans le foie à partir du cholestérol sont l'acide cholique (hydrophile) et l'acide chénodésoxycholique (hydrophobe) chez l'Homme. Ces acides sont conjugués dans le foie à la taurine ou la glycine pour permettre leur solubilisation dans la bile. Les acides biliaires primaires sont transformés en acides biliaires secondaires par le microbiote intestinal, *via* leur activité d'hydrolase, en acide désoxycholique (à partir du cholique) et lithocholique (à partir du chénodésoxycholique) pour être éliminés.

Les acides biliaires synthétisés par le foie sont soumis à un cycle entérohépatique qui permet la conservation de 95% du pool des acides biliaires. Ce cycle implique la réabsorption intestinale, le transport dans le sang portal, le captage par le foie, le transport intrahépatocytaire, la sécrétion biliaire et l'excrétion dans la lumière intestinale des acides biliaires.

Le récepteur FXR, activé par un niveau trop élevé d'acides biliaires au niveau hépatique, stimule leur élimination dans la bile, et inhibe le captage hépatique des acides biliaires plasmatiques. Ce récepteur régule également l'expression du gène codant pour la 7-alpha-hydroxylase (CYP7A1), enzyme limitante dans la synthèse des acides biliaires à partir du cholestérol, évitant ainsi l'accumulation hépatique des acides biliaires. Une diminution de la concentration cellulaire de ces acides biliaires peut lever cette inhibition.

L'activité d'hydrolyse du microbiote sur les acides biliaires peut alors réduire l'absorption et augmenter l'excrétion des acides biliaires et ainsi influencer sur le niveau de lipides sériques.

Des récentes études chez la souris ont montré que l'altération du microbiote change la composition des acides biliaires, notamment en altérant les acides biliaires tauro-conjugués,

acides pouvant inhiber l'activation de FXR au niveau intestinal (180,181).

Chez la souris, apparaît une famille supplémentaire d'acides biliaires constituée des acides  $\alpha$  et  $\beta$ -muricholiques, dérivant de l'acide chénodésoxycholique.

Le changement de composition du pool biliaire mènerait alors au dysfonctionnement métabolique dont l'obésité et l'insulino-résistance, et par conséquent mènerait à la NAFLD. Les acides biliaires pourraient également participer à cette pathologie par l'activation des FXR hépatiques.

Une étude menée chez la souris atteinte de NAFLD a permis d'observer une forte action du microbiote dans la déconjugaison des acides biliaires dans l'intestin grêle, pour permettre leur métabolisme en acides biliaires secondaires au niveau du colon (182). Chez ces souris malades, le microbiote est enrichi en *Lactobacillus*, fort producteur en hydrolase permettant la déconjugaison. Une réduction du pool biliaire avec une diminution de 71% de l'acide tauro- $\beta$ -murocholique (antagoniste des FXR) a alors lieu, levant l'inhibition de FXR et provoquant la synthèse d'acides gras hépatiques, *via* les céramides (Figure 36). La diminution du taux de l'acide tauro- $\beta$ -murocholique, inhibe également au niveau hépatique les CYP7A1 nécessaires à la synthèse des acides biliaires (180).

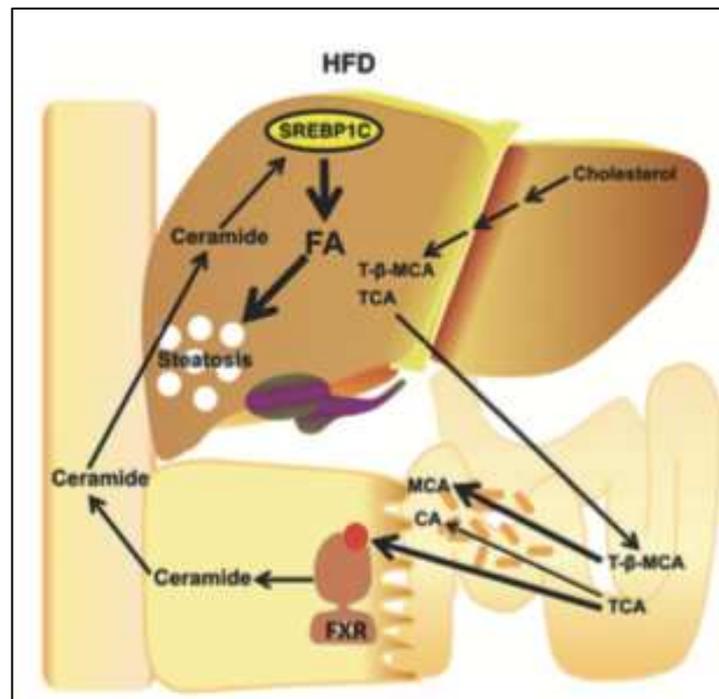


Figure 36 : Développement de la NAFLD médiée par le microbiote à travers l'axe acide biliaire/FXR intestinal/céramide (181)

Le récepteur FXR intestinal contrôlant le métabolisme hépatique lipidique et glucidique, il pourrait être une cible thérapeutique idéale dans la prévention de la progression des patients atteints de NAFLD.

## **VI.5 La modulation du système endocannabinoïde**

Le système endocannabinoïde (système eCB) est un système composé de lipides endogènes qui activent spécifiquement une famille de récepteurs couplés aux protéines G appelés récepteurs cannabinoïdes 1 et 2 (Récepteurs CB<sub>1</sub> et CB<sub>2</sub>). L'activation spécifique des récepteurs CB<sub>1</sub> stimule l'appétit et le système eCB contrôlerait la perméabilité de la barrière intestinale ainsi que l'adipogénèse (183,184).

Chez l'individu obèse, le système eCB est surexprimé au niveau du colon et du tissu adipeux et entraîne une croissance de l'expression des récepteurs CB<sub>1</sub>. Une étude chez des souris obèses montre que le récepteur CB<sub>1</sub> régulerait la perméabilité intestinale. A la suite de l'expérience, il a été montré que l'inhibition du récepteur CB<sub>1</sub> réduisait le niveau de LPS plasmatique, l'indice de masse adipeuse et l'expression des facteurs inflammatoires hépatiques. Le rôle du récepteur CB<sub>1</sub> dans la perméabilité intestinale est confirmé et son inhibition protégerait les souris de l'obésité, de la stéatose et de l'inflammation de bas grade (183,185). On peut donc supposer un lien entre obésité, inflammation et système eCB.

De plus, le microbiote contrôlerait l'activité du système eCB au niveau intestinal et adipocytaire. Chez des souris axéniques et témoins, des variations de l'expression intestinale du système eCB en réponse à la modification du microbiote ont été observées au niveau du colon (183). Il a aussi été montré que les récepteurs CB<sub>1</sub> contrôlaient la perméabilité intestinale à travers les interactions du microbiote avec ces derniers. En effet, le microbiote interagit avec les récepteurs CB<sub>1</sub> au niveau du colon en stimulant l'expression de leur ARNm. (183). Les endotoxines sont également un stimulateur puissant du système eCB.

En somme, l'activation du système eCB intestinal altère la perméabilité intestinale, augmentant le niveau de LPS plasmatiques, aggravant à son tour la perturbation de la barrière intestinale et de l'activité du système eCB dans l'intestin et le tissu adipeux. On a donc à faire à un cercle vicieux puisque le dérèglement de la boucle au sein du colon et des adipocytes

retrouvés dans l'obésité perpétue le déséquilibre initial. Ce cycle maintient donc l'accroissement de perméabilité, l'activité du système eCB et l'adipogenèse qui caractérisent l'obésité (Figure 37).

Le rôle du système eCB dans le contrôle de la perméabilité, de l'endotoxémie et dans le développement de l'obésité est clair mais les mécanismes par lesquels le microbiote participe à cette régulation restent encore à étudier.

Le système eCB peut également être mis en cause dans la NASH et particulièrement dans la fibrogénèse hépatique puisqu'au cours de la NASH, le récepteur CB<sub>1</sub> se retrouve surexprimé dans le foie. Or, l'activation des récepteurs CB<sub>1</sub> des myofibroblastes hépatiques entraîne une augmentation de la fibrose alors que l'effet inverse est obtenu lors de l'activation de CB<sub>2</sub>. Ainsi, les dérivés cannabinoïdes et le microbiote peuvent aggraver les lésions hépatiques (186).

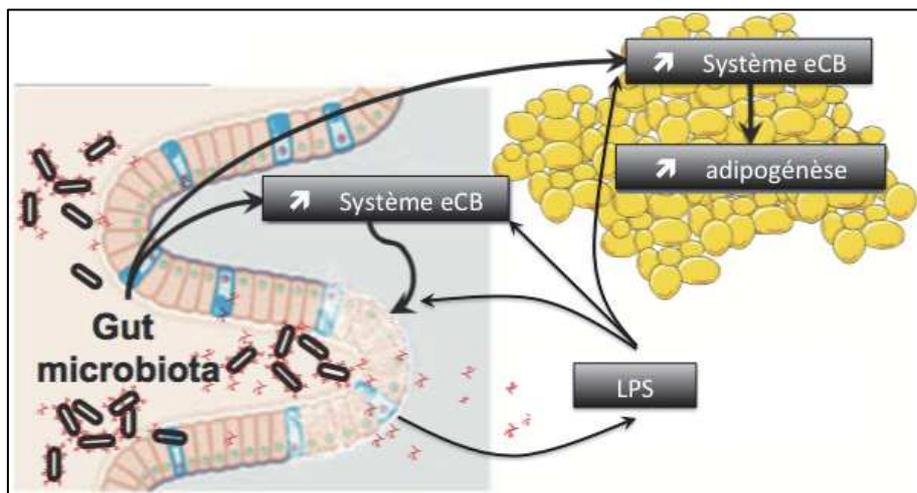


Figure 37 : Implication de la communication système eCB/LPS à travers le microbiote (187)

## VII Traitements

### VII.1 Les traitements classiques

#### VII.1.1 Les mesures hygiéno-diététiques

Les mesures hygiéno-diététiques restent l'option actuellement la plus efficace à visée hépatique. Les effets des interventions diététiques sur la stéatose n'ont toutefois été évalués que récemment. Une perte de poids supérieure à 7% est nécessaire pour observer une amélioration histologique et les meilleurs résultats sont observés avec une perte de poids supérieure à 10% (188,189). Toutefois, la perte de poids ne doit pas être trop rapide, ne pas excéder 0,5 à 1 kg/semaine, car un amaigrissement brutal aggrave les lésions hépatiques en mobilisant les acides gras toxiques (134).

Une alimentation réduite en apport calorique telle que la restriction en carbohydrates et matières grasses pourrait permettre l'amélioration du taux d'ALT et de la stéatose. Des études ont pu évaluer le rôle de la perte de poids à travers une modification, celle de l'alimentation, en réduisant l'apport en carbohydrate et matières grasses. Dans une étude menée par Haufe *et al.*, 170 personnes obèses ou en surpoids ont suivi un régime réduit soit en carbohydrates soit en matières grasses pendant six mois, avec un apport calorique total limité (30% de consommation d'énergie réduite/jour) pour tous les participants (190). Les deux groupes ont montré une perte de poids et une diminution du taux de lipides intrahépatiques, sans différence significative entre les deux groupes. Cette étude suggère alors qu'un régime hypocalorique prolongé, faible en carbohydrates mais riche en matières grasses a les mêmes effets bénéfiques sur l'accumulation de lipides intrahépatiques et le niveau d'ALT qu'un régime hypocalorique traditionnel à faible teneur en matières grasses.

Les acides gras oméga-3, acides gras polyinsaturés (AGPI), sont classés comme acides gras essentiels pour l'Homme. Ils sont issus de végétaux terrestres (la noix, l'huile de colza, de soja, de lin, etc.) et d'animaux marins (les poissons gras tels que le saumon, le thon, la sardine, etc.) (191). Des études suggèrent que la NAFLD est associée à une diminution des AGPI hépatiques, au profit des acides gras saturés (192).

Chez les patients ayant une NAFLD et suivant une supplémentation en oméga-3, aucune amélioration du taux d'ALT, du poids, de la stéatose ou du NAS score n'a été constatée. La

résistance à l'insuline pourrait même se retrouver augmentée (193,194).

Il est donc prématuré de recommander les oméga-3 pour le traitement spécifique de la NAFLD, mais, selon l'association américaine pour l'étude des maladies du foie (AASLD), ils peuvent être considérés comme des agents de première intention pour traiter l'hypertriglycéridémie chez les patients atteints de NAFLD (195).

L'exercice physique a également montré une amélioration de la stéatose. Une étude a été menée sur 23 adultes sédentaires obèses engagés à suivre quatre semaines d'exercice aérobic (vélo) et sur un groupe contrôle suivant des séances d'étirements. Le groupe pratiquant de l'aérobic a montré une réduction de 21% de la concentration en TG hépatiques et de 14% en acides gras libres, bien qu'aucune perte de poids n'ait été constatée (196).

Des modifications alimentaires associées à de l'exercice physique ont montré de meilleurs résultats. Dans une étude réalisée sur 261 patients atteints de NASH, un régime hypocalorique et une activité physique modérée ont montré qu'une perte de poids supérieure à 5% était associée à une réduction du score NAS et que chez 90% des participants ayant perdu 10% de poids, la NASH n'était plus détectable (189).

Une autre étude a été réalisée sur 31 patients obèses atteints de NASH. Pendant six mois ces patients ont subi un changement de style de vie intense : association d'un régime hypocalorique à une activité sportive et à des changements comportementaux. Leur perte de poids d'environ 9% a entraîné des améliorations significatives des lésions histologiques de stéatose, de ballonnisation, d'inflammation et du score NAS (188). De plus, 67% d'entre eux avaient une réduction du score NAS supérieure à trois points.

Néanmoins, il n'a pas été observé de changement significatif dans le degré de fibrose hépatique un an après l'étude, indiquant que l'effet de la perte de poids sur la fibrose pourrait être plus faible que l'effet sur la stéatose.

### **VII.1.2 Les molécules cytoprotectrices**

Les résultats d'études concernant l'acide ursodésoxycholique (UDCA) sont très hétérogènes. Certaines montrent une amélioration du niveau d'ALT, de la stéatose, de l'inflammation ou de la fibrose (197,198), alors que d'autres ne montrent aucune différence de résultats comparé à des placebo (199–201). Une étude récente a permis de montrer que

l'UDCA combiné à d'autres molécules entraînait des meilleurs résultats dans la stéatose et l'inflammation (198). De plus, il pourrait y avoir des variations dans les résultats suivant la dose du traitement par UDCA (197). Plus d'études sont donc nécessaires et l'UDCA n'a actuellement aucune autorisation de mise sur le marché (AMM), en France, pour cette indication.

### **VII.1.3 Les molécules anti-oxydantes**

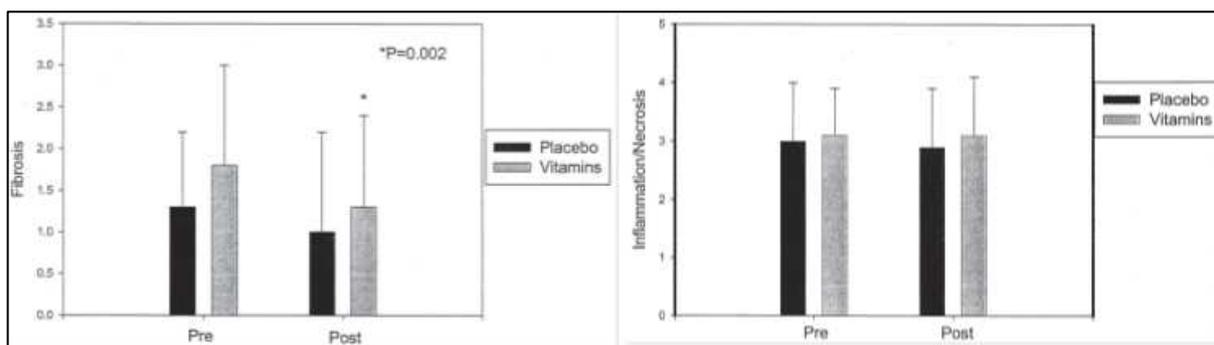
Le stress oxydatif est un des médiateurs clés dans les dommages hépatiques, contribuant au passage de la stéatose à la NASH.

Les traitements anti-oxydants par la vitamine E ont montré un intérêt du fait de l'amélioration du taux d'ALT uniquement chez les patients NASH non diabétiques et non cirrhotiques (195). La prise de vitamine E n'a pas affecté l'insulino-résistance, laissant penser que l'amélioration de la NASH est indépendante à l'insulino-résistance (202). La prise de vitamine E a néanmoins été associée à une augmentation du risque d'AVC hémorragique et de mortalité associée à une dose élevée de vitamine E (203).

Si certaines études apportent des effets d'amélioration des composantes histologiques de la NASH, aucune n'a jusqu'à présent été convainquante.

La vitamine C est un anti-oxydant hydrosoluble qui agit comme piègeur de radicaux libres. L'Homme n'étant pas capable de synthétiser la vitamine C, il doit l'apporter par l'alimentation. Une déficience en vitamine C est mesurée chez les sujets n'ayant pas un style de vie équilibré. Certaines études ont recherché le niveau de vitamine C chez les patients atteints de NAFLD. L'effet de la vitamine C n'a pu être évalué que sur deux essais randomisés contrôlés. Dans l'une d'entre elles, le traitement par vitamine C associé à la vitamine E pendant six mois chez des patients NASH a montré une amélioration concernant le score de fibrose mais aucune amélioration n'a été observée concernant l'inflammation et le taux d'ALT (Figure 38) (204). De plus, cet essai n'a pas permis de déterminer si les améliorations étaient dues à l'association thérapeutique ou à seulement l'une des deux molécules.

Il n'existe ainsi aucune donnée affirmant ou réfutant l'utilisation d'une supplémentation en vitamine C chez les patients atteints de NAFLD.



**Figure 38 : Evolution de la fibrose et de l'inflammation hépatique chez des sujets NASH, après 6 mois de traitement par vitamines C et E (204)**

A ce jour, les vitamines E et C n'ont d'ailleurs aucune autorisation de mise sur le marché dans cette indication.

#### VII.1.4 Les molécules hypolypémiantes

La dyslipidémie est un des facteurs de risque cardiovasculaire et elle joue un rôle important dans le syndrome métabolique, lui-même facteur de risque pour la NAFLD. Le traitement à long terme par les statines réduit la fréquence des risques cardiovasculaires mais l'efficacité et la sécurité chez des patients atteints de NAFLD ne sont pas clarifiées. Selon l'étude GREACE, en plus de l'amélioration du taux de transaminases, de la stéatose et du niveau de lipides, les statines pourraient réduire la morbidité cardiovasculaire de 39% (205). Dans une autre étude utilisant la pravastatine, une diminution des TG et du taux de cholestérol ont été remarquées sans agir de façon significative sur le taux d'ALT (206). Sur la base des résultats de cette étude, le risque d'hépatotoxicité induite par les statines semble être diminué.

Etant donné le manque d'informations concernant le risque pour les patients atteints de NAFLD de développer des lésions hépatiques induites par les statines, celles-ci peuvent être utilisées chez ces patients dans d'autres indications (195,207)

Les preuves nécessaires affirmant que les fibrates, activateurs des  $\alpha$ PPAR et LPL, ont un rôle bénéfique dans la thérapie de la NAFLD ne sont également pas suffisantes. Les résultats d'une étude réalisée sur des patients souffrant de stéatose ou de NASH, traités pendant quarante-huit semaines par fénofibrate, n'ont indiqué aucune amélioration concernant le taux d'ALT, la stéatose, l'inflammation ou la fibrose (208). Une autre étude a même révélé une légère augmentation de la mortalité par maladie coronarienne par rapport au placebo (7,3%

contre 6,6%) (209).

### **VII.1.5 Les anti-diabétiques**

Etant donné la forte association de l'insulino-résistance avec la NAFLD et les taux élevés d'aminotransférases, tout traitement pouvant augmenter la sensibilité à l'insuline pourrait être apprécié pour améliorer la NAFLD. La metformine est une biguanide régulant à la baisse la glucogénèse hépatique et l'oxydation des acides gras.

Les études sur le rôle de la metformine sont délicates à interpréter car il est difficile de différencier un effet direct de la metformine sur le foie de celui lié à la perte de poids.

Les méta-analyses sur ce thème montrent que la metformine ne permet pas d'obtenir d'amélioration significative de la NAFLD car aucune amélioration n'est observée ni sur le niveau de stéatose, ni sur l'inflammation, ni sur le niveau de fibrose (210). En effet, l'une d'elles a conclu qu'un traitement par metformine associé à un changement de style de vie pendant six à douze mois n'améliore d'aucune façon le taux d'ALT ou l'histologie hépatique, comparé à un simple changement de style de vie, indépendamment de la dose de metformine (211). N'ayant aucun effet significatif, elle n'est pas recommandée en première intention dans le traitement de la NASH.

Une nouvelle classe de molécules anti-diabétiques, celle des thiazolidinediones, dont font partie la rosiglitazone et la pioglitazone, a également été testée dans les cas des NAFLD. Ces molécules sont des agonistes des  $\alpha$ PPAR qui entraînent l'oxydation des acides gras hépatiques, augmentant la lipogénèse et la sensibilité à l'insuline. Elles améliorent les composantes histologiques telles que la stéatose et l'inflammation chez ces patients (212). Toutefois, ces effets ne semblent pas durer dans le temps puisque la récurrence d'une NASH peut être observée après la fin du traitement (213).

La rosiglitazone améliore la stéatose, le niveau d'ALT et la sensibilité à l'insuline mais pas la fibrose ni le score NAS (214). L'essai PIVEN est un essai randomisé multicentrique, en double aveugle, réalisé chez 247 patients non diabétiques et atteints de NASH pour évaluer les effets de la pioglitazone. Ces patients ont été séparés en trois groupes : ceux traités par la pioglitazone, par la vitamine E et le placebo. Le traitement par pioglitazone n'a ni amélioré le score NAS ni la fibrose mais a montré une amélioration au niveau du taux d'ALT, de la stéatose et de l'inflammation (202).

Bien que la plupart des études n'aient prouvé aucun effet sur la réduction de la fibrose, les thiazolidinediones pourraient jouer un rôle dans le retardement de la progression de celle-ci chez les patients atteints de NASH, malgré la possibilité que les effets soient inversés après l'arrêt du traitement. Néanmoins, ces molécules sont à utiliser avec précaution en raison de leurs effets indésirables cardiovasculaires (215). Pour cette raison, ils ne sont pas autorisés en France pour cette indication.

### **VII.1.6 Les Inhibiteur de lipases**

Orlistat est une substance dérivée de la lipstatine. Elle est présente dans trois médicaments, Alli®, Xenical et le générique Orlistat EG. Ce sont des inhibiteurs de lipases gastro-intestinales, empêchant l'hydrolyse des TG alimentaires en monoglycérides et acides gras libres absorbables. L'orlistat est le seul médicament contre l'obésité ayant une AMM en France, non remboursé (216). Il doit être utilisé en association avec un régime hypocalorique et hypolipidique.

Dans une étude dirigée par Ziegler-Sagi *et al.*, il a été montré que l'Orlestat pourrait améliorer le taux d'ALT et la stéatose, mais ses effets sur l'histologie hépatique n'ont pas pu être évalués (217).

Des patients NAFLD ont suivi un traitement par Orlistat pendant six mois, associé à un régime alimentaire. Le taux d'ALT a été diminué chez ces patients de manière significative par rapport aux contrôles traités par placebo qui suivaient eux aussi un régime. Néanmoins, aucun progrès concernant la fibrose et l'inflammation n'a été observé. La perte de poids n'a quant à elle pas été significative entre les patients (8%) et les contrôles (6%).

Selon Harrison *et al.*, Orlistat n'aurait aucune action sur le poids des patients ni sur l'histologie hépatique (218). 50 personnes obèses NASH ont subi un traitement pendant six mois par Orlistat, associé à régime alimentaire. Une amélioration de la stéatose, du niveau d'ALT, de l'inflammation, de la ballonnisation et du score NAS a été remarquée mais sans perte de poids liée à Orlistat, les contrôles ayant eu une perte de poids similaire.

Au regard de son efficacité modeste, des effets indésirables, notamment digestifs, et des interactions médicamenteuses (entre autres avec les anticoagulants et les contraceptifs oraux), la prescription d'Orlistat n'est pas recommandée selon la Haute Autorité de Santé (216).

### VII.1.7 La chirurgie bariatrique

La chirurgie bariatrique est indiquée en deuxième intention après un échec thérapeutique, nutritionnel, diététique et psychothérapeutique bien conduit pendant six à douze mois. Elle pourra être envisageable en l'absence de perte de poids suffisante ou en l'absence du maintien de perte de poids.

Il existe deux grands types de techniques chirurgicales : Les techniques dites restrictives pures, qui réduisent la taille de l'estomac (anneau gastrique, gastrectomie longitudinale et gastroplastie verticale ou *sleeve*) et les techniques mixtes dites restrictives et « malabsorptives », qui réduisent la taille de l'estomac (restriction) et diminuent l'assimilation des aliments par l'organisme (malabsorption). C'est le cas du *bypass* gastrique et de la dérivation biliopancréatique (Figure 39).

Le rapport bénéfice/risque des différentes techniques ne permet pas d'affirmer la supériorité d'une technique par rapport à une autre. La perte de poids attendue (40% à 75% de l'excès de poids) mais également la complexité de la technique, le risque de complications postopératoires et la mortalité augmentent avec les interventions suivantes : anneau gastrique, gastroplastie verticale, gastrectomie longitudinale, *bypass*, dérivation biliopancréatique (219).

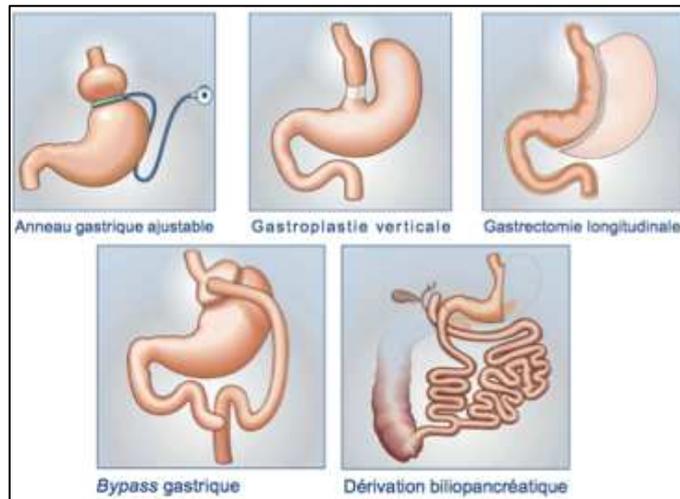


Figure 39 : Les techniques de la chirurgie bariatrique (219)

Une revue réunissant 21 études sur la chirurgie bariatrique pratiquée chez des patients obèses atteints de NAFLD a permis de regrouper leurs résultats (220). Une amélioration au niveau de la stéatose et de l'inflammation a été observée dans la plupart des études, excepté

pour quatre d'entre elles qui ont montré une aggravation de la fibrose.

Parmi elles, une étude française dirigée par Mathurin *et al.*, a permis de comparer les résultats de la chirurgie chez des patients souffrant d'obésité sévère, un an et cinq ans après l'opération (221). Une amélioration de la stéatose, de la ballonnisation et du score NAS a été remarquée chez les patients NASH cinq ans après l'intervention. L'impact sur la NASH a été significative au bout d'un an, puis aucune évolution jusqu'à la cinquième année. Aussi, dans près de 20% des cas, une aggravation significative de la fibrose après cinq ans a été observée, mais dans plus de 95% des cas le score de fibrose restait inférieur à F1. La raison de cette aggravation n'a pas été identifiée mais il est à considérer que ces patients étaient ceux présentant le plus fort IMC ainsi qu'une stéatose, une inflammation et une résistance à l'insuline élevées.

Bien que des améliorations soient faites notamment au niveau de la stéatose et de l'inflammation, le fait que certaines études aient montré une aggravation de la fibrose hépatique ne peut être négligée. De plus amples études seront nécessaires pour répondre à ces questions.

## **VII.2 Les traitements ciblant le microbiote**

En l'absence de stratégie thérapeutique pharmaceutique définie, l'idée est aujourd'hui de développer des stratégies personnalisées pour la prise en charge de l'obésité et des pathologies hépatiques non alcooliques, dans lesquelles l'apport de prébiotiques, probiotiques ou symbiotiques serait adapté aux spécificités individuelles du patient. A plus long terme, des traitements préventifs pourraient être développés afin de prévenir la survenue de ces maladies.

### **VII.2.1 Les antibiotiques**

Selon de récentes études, différentes approches ont été développées pour moduler l'activité des TLR. Parmi elles, la modulation des ligands aux TLR produits par le microbiote, les endotoxines, serait possible par traitement antibiotiques.

Chez la souris obèse, l'administration de norfloxacine et ampicilline pendant deux semaines a diminué le taux de bactéries anaérobies et aérobies (222). Seule la norfloxacine était capable de réduire le taux d'entérobactéries alors que l'ampicilline éliminait de manière plus efficace les bactéroïdes.

Les deux molécules ont toutes deux agi sur les niveaux de *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*.

L'élévation de la  $\beta$ -oxydation des acides gras libres à jeun et la diminution des TG hépatiques peuvent expliquer l'amélioration de la stéatose hépatique chez les souris traitées.

Une amélioration des fonctions hépatiques a aussi été observée par une réduction de 40% du taux d'ALT. La diminution des taux de LPS plasmatiques et de TNF- $\alpha$  au niveau du jéjunum est corrélée à la diminution des bactéries *E. coli* intestinales (Figure 40). La diminution des LPS et TNF- $\alpha$  permet alors une meilleure sensibilité à l'insuline.

Cependant, aux vues des conséquences sévères après un long traitement par antibiotiques, ce genre de traitement devrait être réservé aux patients à risque élevé de développer une cirrhose et non aux patients au stade précoce d'une NAFLD (224).

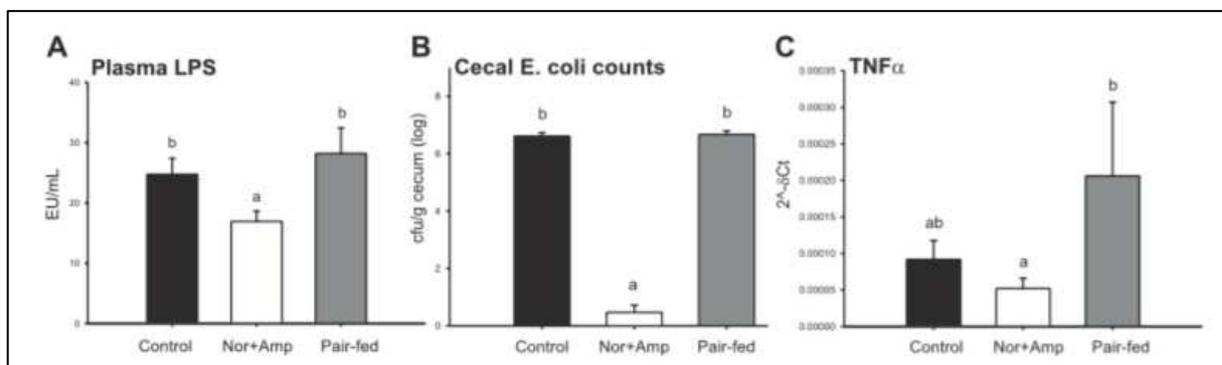


Figure 40 : Evolution du taux de LPS plasmatique (A), d'*E. coli* (B) et de l'expression des TNF- $\alpha$  au niveau du jéjunum chez les souris traitées par Norfloxacin (222)

Les résultats d'une étude menée par Gangarapu *et al.* ont suggéré que le traitement par Rifaximin, antibiotique non absorbable, pourrait agir sur les bactéries Gram(-) et de ce fait inhiber la production de LPS chez les patients atteints de NAFLD (223). Des patients souffrant de stéatose ou NASH ont été traités par la rifaximine. Après vingt-huit jours de traitement, une diminution significative du niveau d'endotoxines et des AST, ALT a été observée chez les patients NASH. Cependant, seul le niveau d'ALT a été modifié chez les patients stéatosés. De plus, la rifaximin n'a pas affecté les taux de TLR-4, IL-1 et IL-6, ou TNF- $\alpha$  chez les deux types de patients. Le traitement à court terme par la rifaximine paraît alors efficace chez les patients atteints de NAFLD et plus particulièrement chez ceux ayant une NASH.

La prise d'antibiotiques pour réduire la production d'éthanol endogène par le microbiote semble également être une alternative efficace. Un antibiotique, la néomycine

(famille des aminosides), a été ajouté à l'eau de boisson de souris obèses pendant cinq jours (171). La concentration d'alcool sérique a été déterminée par test respiratoire. Après seulement un jour de traitement, le taux d'éthanol contenu dans l'air expiré des souris obèses diminuait de plus de 30%. Ce taux est retombé à 50% du taux initial après les cinq jours de traitement (Figure 41). Du fait de la chute du taux d'éthanol suite à la prise de néomycine, molécule faiblement absorbable, il est fort probable que le traitement ait agi sur les bactéries productrices d'éthanol endogène comme *E. coli*.

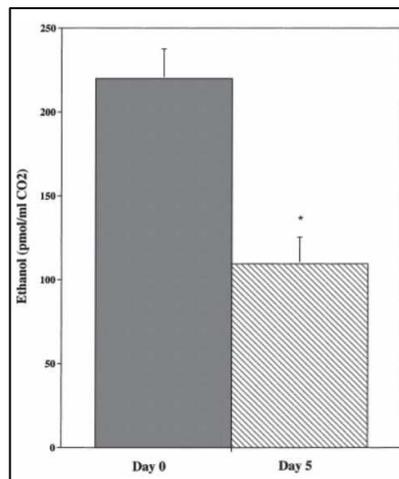


Figure 41 : Taux d'éthanol dans l'air expiré de souris obèses traitées par néomycine pendant 5 jours (171)

Le traitement par antibiotique a prouvé son efficacité dans le métabolisme des acides biliaires. Des souris atteintes de NAFLD et suivant un régime riche ont été traitées pendant sept semaines par antibiotiques (182). Une diminution des *Clostridium* et *Lactobacillus* (espèce produisant des hydrolases de sels biliaires, a été observée. Une augmentation du taux d'acides tauro- $\beta$ -murocholique, acides biliaires primaires, a ainsi permis le retour à l'inhibition du récepteur intestinal FXR et de ce fait la diminution du taux de TG hépatiques (Figure 42).

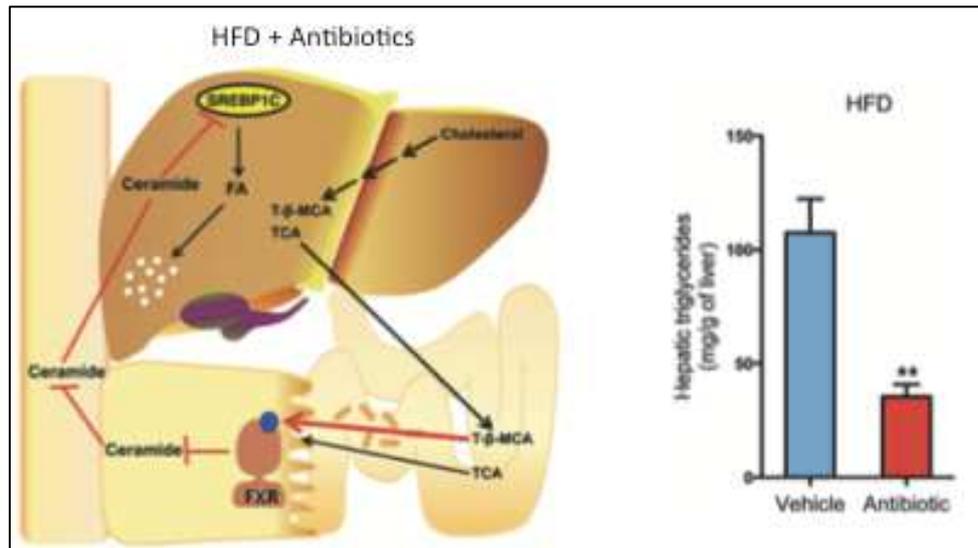


Figure 42 : Impact des antibiotiques sur l'axe acides biliaires/FXR intestinal/céramide et le taux de TG (182)

### VII.2.2 Les probiotiques

La SIBO est présente dans 50% des NASH et le changement de microbiote pourrait être lié à la pathogénèse de la NASH, du fait de son action sur la perméabilité intestinale, l'activation de cytokines pro-inflammatoires et l'absorption des LPS. C'est pourquoi les probiotiques, en modifiant l'état du microbiote, pourraient être une option de traitement intéressante chez ces patients.

Chez la souris NASH, le traitement par VSL#3, une association de probiotiques (dont *Streptococcus*, *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*) a permis d'améliorer les lésions histologiques du foie et de diminuer le taux de TG hépatiques et les ALT (228,229). Il a également permis de réduire les dommages hépatiques inflammatoires et oxydatifs (230).

Chez l'Homme, divers essais cliniques ont été réalisés chez les patients atteints de NAFLD. Deux essais cliniques randomisés en double aveugle ont montré une diminution significative des taux d'aminotransférases, de TNF- $\alpha$  et de cholestérol total après un traitement de deux mois par *Lactobacillus rhamnosus* chez des enfants obèses (231), et par trois mois sous *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* chez des adultes NASH (232). Dans une autre étude, 66 patients ont été traités par *Bifidobacterium longum* et FOS (prébiotique) associé à une modification du style de vie (régime et exercice physique), comparé à des témoins ne suivant que la seule modification du style de vie, pendant six mois. La combinaison

des traitements a mené à une diminution des AST et TNF- $\alpha$ , LPS sériques, de la stéatose et du score NAS (233). Une association de cinq probiotiques (dont *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*) chez des patients NASH pendant six mois a permis une diminution des TG hépatiques et des AST (234).

L'administration orale de *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* F19 pourrait avoir la capacité d'induire une augmentation de l'expression intestinale du facteur FIAF et du niveau de FIAF circulants. Des souris axéniques suivant une régime alimentaire riche en lipides se sont vues administrer la souche F19 pendant dix semaines alors qu'un deuxième groupe de souris axéniques n'ont suivi qu'un régime alimentaire lipidique (235). Le taux de facteur FIAF intestinal et circulant a été augmenté, la charge de TG au sein des VLDL et la charge lipidique des sujets a été réduite (Figure 43). L'augmentation du taux sérique des TG serait la conséquence de l'augmentation des FIAF circulants. Lors de cette étude, une comparaison a été faite avec l'administration d'autres probiotiques. Il s'est avéré que *Bacteroidetes thetaiotaomicron* (bactérie anaérobie) était incapable d'induire l'expression des facteurs FIAF et que F19 est meilleur inducteur de FIAF que *Bifidobacterium lactis*.

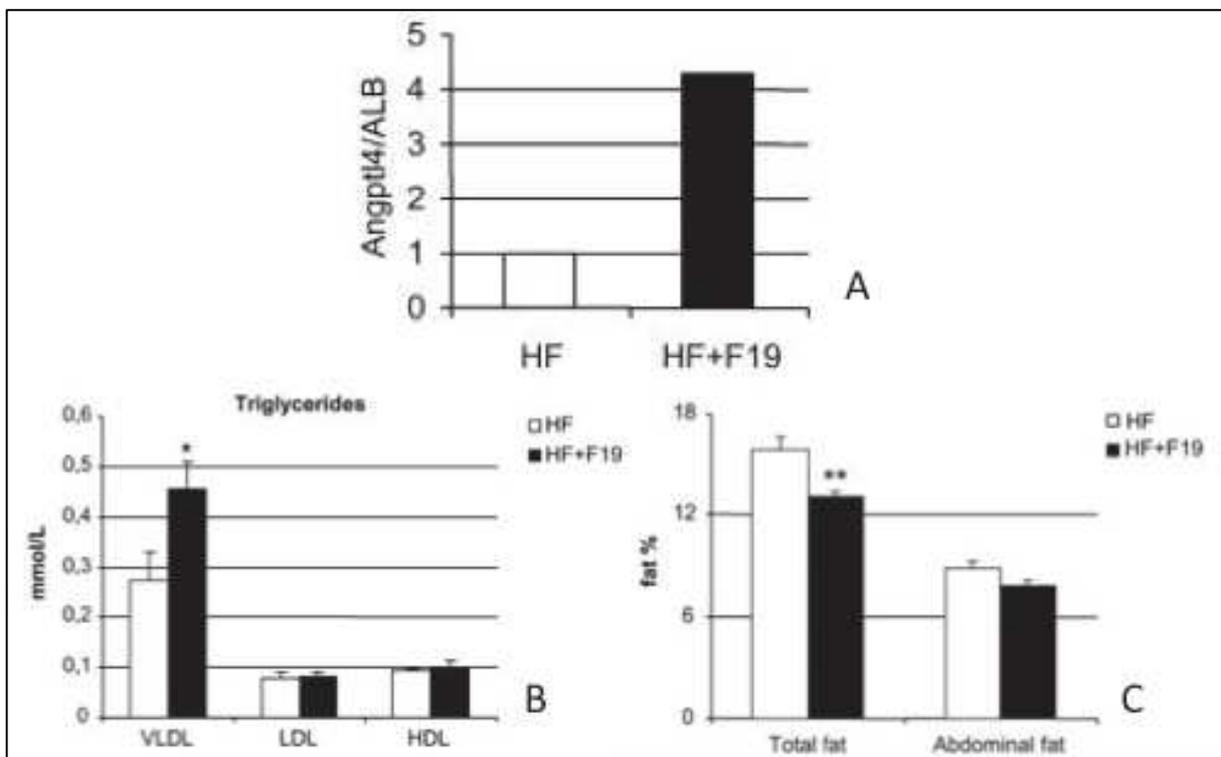


Figure 43 : A) Taux sérique du facteur FIAF. B) Charge des lipoprotéines en TG. C) Pourcentage de graisse corporelle (235)

### VII.2.3 Les prébiotiques

*Bifidobacterium* étant reconnu comme réduisant le taux de LPS et améliorant les fonctions de la muqueuse intestinale, une étude a été réalisée dans le but d'augmenter le taux de *Bifidobacterium* chez la souris suivant une régime riche en lipides (225). Ces dernières ont été traitées par prébiotique FOS. Ce traitement a permis au microbiote intestinal de s'appauvrir en bactéries Gram(-) et de s'enrichir en bactéries Gram(+) dont les bifidobactéries pour retrouver un taux normal. Dans cette étude, *Bifidobacterium* spp. est corrélé fortement et positivement à l'amélioration de la tolérance au glucose et à la diminution de l'inflammation (amélioration du taux de LPS et cytokines pro-inflammatoire plasmatiques et adipocytaires).

Une étude sur 48 personnes en surpoids (IMC >25) a montré qu'une supplémentation en FOS pendant douze semaines améliorerait la perte de poids et réduisait l'absorption énergétique, indépendamment d'un changement de style de vie (226).

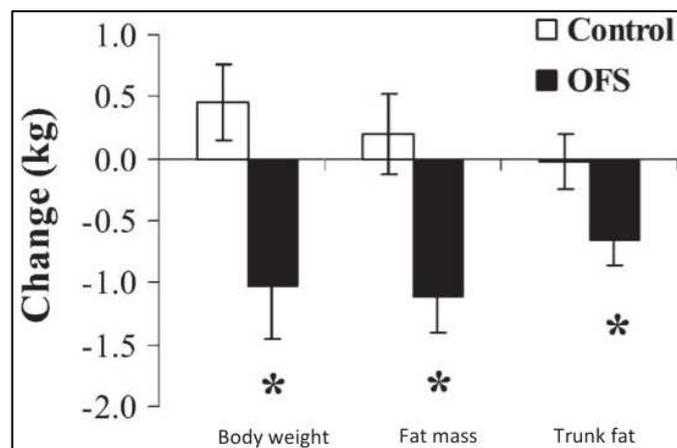


Figure 44 : Evolution du poids, de la masse grasse et de la graisse abdominale, chez les sujets traités par FOS vs témoins (226)

Une méta-analyse regroupant 26 essais cliniques randomisés chez des sujets sains et obèses a révélé que dans les deux groupes, la prise de prébiotiques augmente la satiété et les taux d'insuline et de glucose en période postprandiale (227). Les effets concernant une éventuelle modification concernant l'absorption énergétique, le poids, la sensibilité à l'insuline et les marqueurs inflammatoires sont toutefois contradictoires. D'autres essais sont donc nécessaires pour recommander les prébiotiques dans le cas de la NAFLD.

### VII.2.4 Les symbiotiques

Eslamparast *et al.* ont rapporté les effets bénéfiques des symbiotiques par l'association de sept souches bactériennes (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *S. thermophilus*, *B. breve*, *L. acidophilus*, *B. longum*, et *L. bulgaricus*) au prébiotique FOS chez des patients atteints de NAFLD. Dans cette étude, le traitement de vingt-huit semaines associé à un changement de style de vie a permis une nette diminution des taux d'ALT et d'AST ainsi que du cholestérol total, d'inhiber l'activation des NF- $\kappa$ B et de réduire la production de TNF- $\alpha$  (236). La perte de poids a également été accentuée par la prise de symbiotiques (Figure 45).

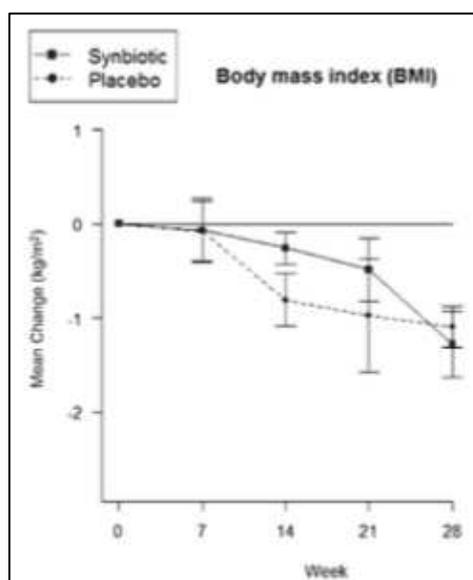


Figure 45 : Evolution de l'IMC chez les patients traités par symbiotiques et des ceux traités par placebo (236)

Le symbiotique composé par le probiotique *Lactobacillus paracasei* B21060 et les prébiotiques arabinogalactane et FOS diminuerait également la progression de la NAFLD en prévenant l'inflammation, la stéatose et l'insulinorésistance. L'expérience a été réalisée chez la souris suivant un régime riche en lipides (237). Une diminution de la glycémie à jeun et de l'insulinémie a été observée. La perméabilité intestinale a été améliorée par l'augmentation de l'expression des protéines ZO-1 et occludines. De plus, il a été révélé une diminution de l'expression des TNF- $\alpha$  et IL-6, limitant ainsi l'inflammation et l'insulinorésistance. En réduisant ces cytokines pro-inflammatoires, le symbiotique modulerait l'activation de la voie de signalisation NF- $\kappa$ B. Le niveau des  $\alpha$ PPAR étant également amélioré par la traitement, la  $\beta$ -oxydation des acides gras libres est restaurée. Le traitement par symbiotique entraîne une

limitation de l'expression des TLR hépatiques comme TLR-4, son co-récepteur CD-14, TLR-9 et restaure le déséquilibre des bactéries à Gram(-) dont *E. coli* (Figure 46).

Ce symbiotique basé sur *Lactobacillus paracasei* B21060 peut donc être considéré comme approche thérapeutique potentielle, limitant les principaux événements pathogéniques impliqués dans l'apparition de la stéatose non alcoolique.

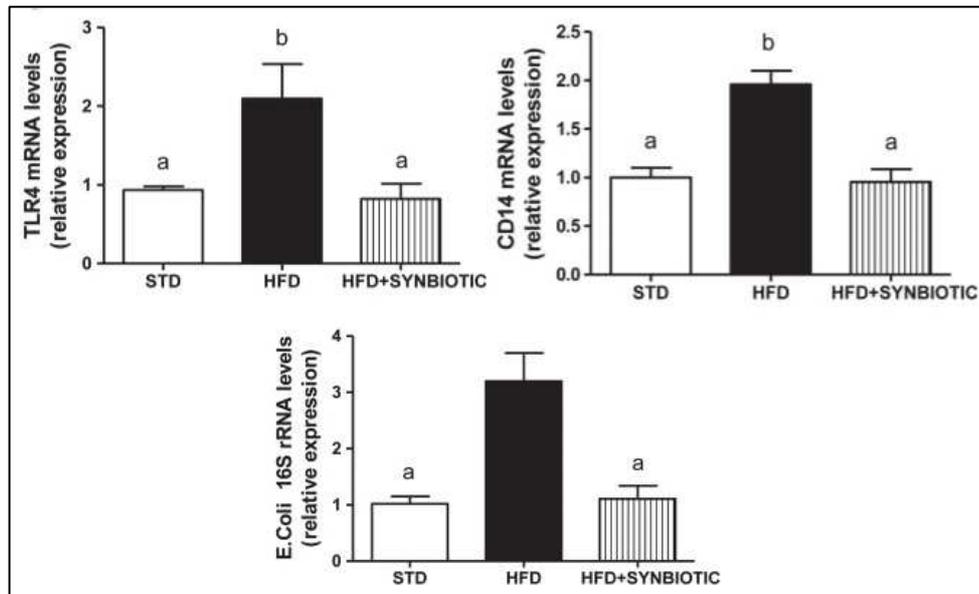


Figure 46 : Effet du symbiotique sur les taux de TLR4 et CD14 hépatique, de *E. coli* intestinal (237)

## CONCLUSION

Les avancées technologiques récentes permettant des travaux plus poussés sur le microbiote intestinal ont permis d'en démontrer l'importance et de bouleverser nos connaissances. Au vu de la densité bactérienne vivant en symbiose et des fonctions biologiques (fonctions métaboliques, immunologiques et de protection) apportées à l'hôte, il apparaît évident que le microbiote joue un rôle majeur pour la santé humaine.

Le microbiote intestinal désigne l'ensemble de la population de microorganismes vivant au sein du tractus gastro-intestinal en accord avec son hôte, et plus particulièrement les bactéries. La communauté bactérienne y est composée de plusieurs centaines d'espèces différentes et est considérée aujourd'hui comme un véritable « organe ». Plus de 90% des bactéries appartiennent aux phyla *Firmicutes* et *Bacteroidetes*. Cependant, cette stabilité est toute relative puisque le microbiote de patients atteints de pathologies hépatiques, soumis à des facteurs environnementaux et alimentaires, a montré une altération quantitative et qualitative du microbiote avec entre autre une croissance bactérienne et une dysbiose. L'alcoolisme et l'obésité sont en effet associés à un risque accru de développer une pathologie hépatique alcoolique ou non alcoolique. Dans les deux cas, l'atteinte hépatique débute par une stéatose (accumulation de triglycérides dans les hépatocytes) qui peut évoluer vers un état inflammatoire (stéatohépatite). La maladie peut ensuite évoluer vers une fibrose, une cirrhose et dans les stades les plus avancés vers un hépatocarcinome.

Chez ces patients, l'alcool et un régime alimentaire riche en lipides et en hydrocarbures seraient à l'origine du déséquilibre *Bacteroidetes/Firmicutes* et de la surcroissance bactérienne. A partir de ce déséquilibre, plusieurs mécanismes métaboliques et inflammatoires ont pu être mis en évidence, prouvant que la dysbiose est un composant à ne pas négliger dans ces pathologies.

L'éthanol d'une part, et le régime alimentaire d'autre part, modifient considérablement le microbiote intestinal et augmente, avec l'implication de ce dernier, la perméabilité intestinale. La surcroissance bactérienne pourrait initier l'état inflammatoire des lipopolysaccharides transloquant à travers la barrière intestinale perméable pour rejoindre le foie.

Actuellement, la base du traitement des stéatopathies liées à l'alcool et au syndrome métabolique sont l'abstinence, associée à une corticothérapie, et des mesures hygiéno-diététiques, associées à des molécules aux propriétés cytoprotectrices, anti-oxydantes ou hypolipémiantes. Il semble maintenant possible d'intégrer la modification du microbiote dans de nombreuses stratégies thérapeutiques. Un apport d'éléments nutritifs pour certaines bactéries, voire un apport de ces bactéries, peuvent devenir la clé d'une amélioration de l'état pathologique. Selon de récentes études, les probiotiques diminueraient l'endotoxémie, le stress oxydatif, la perméabilité intestinale et la sévérité des lésions hépatiques. Les prébiotiques ainsi que les symbiotiques (mélanges de probiotiques et de prébiotiques), ont présenté, eux aussi, des résultats encourageants.

Toutefois, les recherches sur le microbiote étant encore très récentes, beaucoup de questions restent en suspens, que ce soit au niveau bactériologique avec la mise en évidence d'une famille ou d'un germe pathogène, mais aussi au niveau thérapeutique avec le rôle des probiotiques et prébiotiques. De plus, on ne connaît pas aujourd'hui l'impact des traitements traditionnels sur le microbiote. La dysbiose apparaissant souvent avant la symptomatologie de la maladie, un diagnostic préventif pourrait être réalisé sur des sujets à risque ainsi qu'un traitement pour rétablir la symbiose.

NOM et Prénom : RAVACHE Fanny.....

TITRE DE LA THESE

LE RÔLE DU MICROBIOTE DANS LES PATHOLOGIES  
HEPATIQUE : UNE REVOLUTION POUR LA PRISE EN CHARGE  
DES PATIENTS ?

- 4 AVR. 2016

Rennes, le 20/03/2016.

Le Président de thèse : M<sup>me</sup> BOICROT-LORANT

Le Directeur de thèse : M<sup>me</sup> BOICROT-LORANT.

VU et Permis d'imprimer  
Le Président de l'Université de Rennes1.

D ALIS



## BIBLIOGRAPHIE

1. Huse SM, Ye Y, Zhou Y, Fodor AA. A core human microbiome as viewed through 16S rRNA sequence clusters. *PLoS One*. 2012;7(6):e34242.
2. Ben Ytzhak L, Pigenet Y. Microbiote: des bactéries qui nous veulent du bien. *CNRS Le journal* [Internet]. 30 juill 2014 [cité 26 nov 2015]; Disponible sur: <https://lejournal.cnrs.fr/articles/microbiote-des-bacteries-qui-nous-veulent-du-bien>
3. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 4 mars 2010;464(7285):59-65.
4. Seirafi M, Cunnigham S, Hadengue A. Le microbiote dans les maladies du foie et du tube digestif: la révolution annoncée. *Rev Médicale Suisse*. sept 2011;7(307):1696-700.
5. Biedermann L, Rogler G. The intestinal microbiota: its role in health and disease. *Eur J Pediatr*. févr 2015;174(2):151-67.
6. Sears CL. A dynamic partnership: Celebrating our gut flora. *Anaerobe*. oct 2005;11(5):247-51.
7. Moore WE, Holdeman LV. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl Microbiol*. mai 1974;27(5):961-79.
8. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*. 6 juin 2015;308(5728):1635-8.
9. Dauga C, Doré J, Sghir A. La diversité insoupçonnée du monde microbien. *Médecine Sci*. mars 2005;21(3):290-6.
10. Elgaml A, Hassan R, Barwa R, Shokralla S, El-Naggae W. Analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of Gram negative pathogenic bacteria isolated from urinary tract infections. *Afr J Microbiol Res*. 4 juin 2013;7(23):2862-9.
11. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev*. 1 juill 2010;90(3):859-904.
12. Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic Approaches for Defining the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Cell Host Microbe*. 12 juin 2008;3(6):417-27.
13. Børresen A-L, Hovig E, Brøgger A. Detection of base mutations in genomic DNA using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) followed by transfer and hybridization with gene-specific probes. *Mutat Res Mol Mech Mutagen*. 1 nov 1988;202(1):77-83.
14. Glaser P. Les puces à ADN vont-elles révolutionner l'identification des bactéries? *Médecine Sci*. mai 2005;21(5):539-44.

15. Harmsen HJM, Raangs GC, He T, Degener JE, Welling GW. Extensive Set of 16S rRNA-Based Probes for Detection of Bacteria in Human Feces. *Appl Environ Microbiol.* juin 2002;68(6):2982-90.
16. Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EMM. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* juin 2012;9(6):312-22.
17. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 janv 2006;103(3):732-7.
18. Lin C-S, Chang C-J, Lu C-C, Martel J, Ojcius DM, Ko Y-F, et al. Impact of the gut microbiota, prebiotics, and probiotics on human health and disease. *Biomed J.* oct 2014;37(5):259-68.
19. Coudeyras S, Forestier C. [Microbiota and probiotics: effects on human health]. *Can J Microbiol.* août 2010;56(8):611-50.
20. Marchesi JR. Human distal gut microbiome: Human microbiome. *Environ Microbiol.* déc 2011;13(12):3088-102.
21. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale L-P. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J Gastroenterol.* 28 févr 2005;11(8):1131-40.
22. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 12 mai 2011;473(7346):174-80.
23. Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol.* oct 2005;51(4):270-4.
24. Biasucci G, Rubini M, Riboni S, Morelli L, Bessi E, Retetangos C. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev.* juill 2010;86(1, Supplement):13-5.
25. Bezirtzoglou E. The intestinal microflora during the first weeks of life. *Anaerobe.* juin 1997;3(2-3):173-7.
26. Hallab JC, Leach ST, Zhang L, Mitchell HM, Oei J, Lui K, et al. Molecular Characterization of Bacterial Colonization in the Preterm and Term Infant's Intestine. *Indian J Pediatr.* janv 2013;80(1):1-5.
27. Masson E. Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né [Internet]. EM-Consulte. [cité 9 févr 2016]. Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/article/130208/mise-en-place-de-la-flore-intestinale-du-nouveau-n>
28. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe.* déc 2011;17(6):478-82.
29. Hascoët J-M, Hubert C, Rochat F, Legagneur H, Gaga S, Emady-Azar S, et al. Effect of

- formula composition on the development of infant gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* juin 2011;52(6):756-62.
30. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* juill 2007;5(7):e177.
  31. Langhendries J-P. [Early bacterial colonisation of the intestine: why it matters?]. *Arch Pédiatrie Organe Off Société Fr Pédiatrie.* déc 2006;13(12):1526-34.
  32. Lagier J-C, Million M, Hugon P, Armougom F, Raoult D. Human Gut Microbiota: Repertoire and Variations. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2 nov 2012 [cité 9 févr 2016];2. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3487222/>
  33. Zhang C, Zhang M, Wang S, Han R, Cao Y, Hua W, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J.* févr 2010;4(2):232-41.
  34. Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G, Ze X, et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J.* févr 2011;5(2):220-30.
  35. Pokusaeva K, Fitzgerald GF, van Sinderen D. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes Nutr.* août 2011;6(3):285-306.
  36. Begley M, Hill C, Gahan CGM. Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Appl Environ Microbiol.* mars 2006;72(3):1729-38.
  37. Santacruz A, Marcos A, Wärnberg J, Martí A, Martín-Matillas M, Campoy C, et al. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. *Obes Silver Spring Md.* oct 2009;17(10):1906-15.
  38. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 août 2010;107(33):14691-6.
  39. Corthier G. *Bonnes bactéries et bonne santé.* Editions Quae; 2010. 129 p.
  40. Saari A, Virta LJ, Sankilampi U, Dunkel L, Saxen H. Antibiotic exposure in infancy and risk of being overweight in the first 24 months of life. *Pediatrics.* avr 2015;135(4):617-26.
  41. Bonnemaïson E, Lanotte P, Cantagrel S, Thionois S, Quentin R, Chamboux C, et al. Comparison of fecal flora following administration of two antibiotic protocols for suspected maternofetal infection. *Biol Neonate.* 2003;84(4):304-10.
  42. Bailey MT, Dowd SE, Galley JD, Hufnagle AR, Allen RG, Lyte M. Exposure to a Social Stressor Alters the Structure of the Intestinal Microbiota: Implications for Stressor-Induced Immunomodulation. *Brain Behav Immun.* mars 2011;25(3):397-407.
  43. Knowles SR, Nelson EA, Palombo EA. Investigating the role of perceived stress on bacterial flora activity and salivary cortisol secretion: a possible mechanism underlying susceptibility

- to illness. *Biol Psychol.* févr 2008;77(2):132-7.
44. Federico A, Dallio M, Godos J, Loguercio C, Salomone F. Targeting gut-liver axis for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: translational and clinical evidence. *Transl Res J Lab Clin Med.* janv 2016;167(1):116-24.
  45. Canani RB, Costanzo MD, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol WJG.* 28 mars 2011;17(12):1519-28.
  46. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature.* 13 sept 2012;489(7415):242-9.
  47. Lin HV, Frassetto A, Kowalik Jr EJ, Nawrocki AR, Lu MM, Kosinski JR, et al. Butyrate and Propionate Protect against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones via Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms. *PLoS ONE [Internet].* 10 avr 2012 [cité 10 févr 2016];7(4). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323649/>
  48. Arora T, Sharma R, Frost G. Propionate. Anti-obesity and satiety enhancing factor? *Appetite.* avr 2011;56(2):511-5.
  49. Gérard P, Bernalier-Donadille A. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. *Cah Nutr Diététique.* avr 2007;42:28-36.
  50. Macfarlane GT, Gibson GR. Metabolic Activities of the Normal Colonic Flora. In: Gibson DSAW, éditeur. *Human Health [Internet].* Springer London; 1994 [cité 11 févr 2016]. p. 17-52. (Springer Series in Applied Biology). Disponible sur: [http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4471-3443-5\\_2](http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4471-3443-5_2)
  51. Gérard P. Gut microbiota and lipids: impact on human health. *Ol Corps Gras Lipides.* 20127-8;(4):223-7.
  52. Juste C. [Dietary fatty acids, intestinal microbiota and cancer]. *Bull Cancer (Paris).* juill 2005;92(7):708-21.
  53. Hill MJ. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP.* mars 1997;6 Suppl 1:S43-5.
  54. Said HM, Mohammed ZM. Intestinal absorption of water-soluble vitamins: an update. *Curr Opin Gastroenterol.* mars 2006;22(2):140-6.
  55. Roberts MS, Magnusson BM, Burczynski FJ, Weiss M. Enterohepatic circulation: physiological, pharmacokinetic and clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(10):751-90.
  56. Gill CIR, Rowland IR. Diet and cancer: assessing the risk. *Br J Nutr.* sept 2002;88 Suppl 1:S73-87.
  57. Reddy BS, Weisburger JH, Wynder EL. Fecal bacterial beta-glucuronidase: control by diet. *Science.* 1 févr 1974;183(4123):416-7.

58. Landman C, Quévrain E. Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. Rev Médecine Interne [Internet]. déc 2015 [cité 16 févr 2016]; Disponible sur: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0248866315011273>
59. Gallo RL, Hooper LV. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. Nat Rev Immunol. 25 juin 2012;12(7):503-16.
60. Chung H, Kasper DL. Microbiota-stimulated immune mechanisms to maintain gut homeostasis. Curr Opin Immunol. août 2010;22(4):455-60.
61. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke J-D, Serino M, et al. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. BMC Gastroenterol. 2014;14(1):189.
62. Thoma-Uszynski S, Stenger S, Takeuchi O, Ochoa MT, Engele M, Sieling PA, et al. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. Science. 23 févr 2001;291(5508):1544-7.
63. Macpherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. Science. 12 mars 2004;303(5664):1662-5.
64. Duerkop BA, Vaishnava S, Hooper LV. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. Immunity. 18 sept 2009;31(3):368-76.
65. Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. Nat Rev Immunol. juin 2004;4(6):478-85.
66. Macpherson AJ, Martinic MM, Harris N. The functions of mucosal T cells in containing the indigenous commensal flora of the intestine. Cell Mol Life Sci CMLS. déc 2002;59(12):2088-96.
67. Bauer H, Horowitz RE, Levenson SM, Popper H. The response of the lymphatic tissue to the microbial flora. Studies on germfree mice. Am J Pathol. avr 1963;42:471-83.
68. Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. Cell. 15 juill 2005;122(1):107-18.
69. Sase S, Monden M, Oka H, Dono K, Fukuta T, Shibata I. Hepatic blood flow measurements with arterial and portal blood flow mapping in the human liver by means of xenon CT. J Comput Assist Tomogr. avr 2002;26(2):243-9.
70. Chassaing B, Etienne-Mesmin L, Gewirtz AT. Microbiota-liver axis in hepatic disease. Hepatol Baltim Md. janv 2014;59(1):328-39.
71. Centre Hépatobiliaire Paul Brousse [Internet]. Centre Hépatobiliaire Paul Brousse. [cité 6 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.centre-hepatobiliaire.org/>
72. Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. Hepatology. 1 févr 2006;43(S1):S54-62.

73. Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. *J Nutr.* mai 2011;141(5):769-76.
74. Wells JM, Rossi O, Meijerink M, van Baarlen P. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108:4607-14.
75. Nutt D, King LA, Saulsbury W, Blakemore C. Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *The Lancet.* mars 2007;369(9566):1047-53.
76. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2014 [Internet]. WHO; 2014. Disponible sur: <http://www.who.int/en/>
77. Guérin S, Laplanche A, Dunant A, Hill C. Mortalité attribuable à l'alcool en France en 2009. *Bull Épidémiologique Hebd.* 7 mai 2013;(16-17-18):163-8.
78. La consommation d'alcool en France [Internet]. Observatoire français des drogues et des toxicomanies. 2015 [cité 23 févr 2016]. Disponible sur: [http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/produits/alcool/conso.html#aff\\_rech](http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/produits/alcool/conso.html#aff_rech)
79. Alcool Effets sur la Santé. Centre d'expertise collective de l'Inserm; 2001.
80. Toxicité de l'alcool sur le foie. Ramsey Générale de Santé.
81. L'Encéphalopathie Hépatique [Internet]. Centre Hépato-Biliaire Paul Brousse. 2014 [cité 10 mars 2016]. Disponible sur: <http://www.centre-hepato-biliaire.org/maladies-foie/signes-symptomes/encephalopathie-hepatique.html>
82. Norberg A, Jones AW, Hahn RG, Gabrielsson JL. Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics: research and forensic applications. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(1):1-31.
83. Schnabl B, Brenner DA. Interactions Between the Intestinal Microbiome and Liver Diseases. *Gastroenterology.* mai 2014;146(6):1513-24.
84. Szabo G, Bala S. Alcoholic liver disease and the gut-liver axis. *World J Gastroenterol.* 21 mars 2010;16(11):1321-9.
85. Elamin EE, Masclee AA, Dekker J, Jonkers DM. Ethanol metabolism and its effects on the intestinal epithelial barrier. *Nutr Rev.* juill 2013;71(7):483-99.
86. Rao RK, Seth A, Sheth P. Recent Advances in Alcoholic Liver Disease I. Role of intestinal permeability and endotoxemia in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* juin 2004;286(6):G881-4.
87. Louvet A, Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* avr 2015;12(4):231-42.
88. Groebli F, Spahr L, Garin N. Prise en charge de la stéato-hépatite alcoolique aigüe. *Rev Médicale Suisse.* 19 oct 2011;7(313):2030-4.

89. Torok NJ. Update on Alcoholic Hepatitis. *Biomolecules*. 2015;5(4):2978-86.
90. Szabo G. Gut–Liver Axis in Alcoholic Liver Disease. *Gastroenterology*. janv 2015;148(1):30-6.
91. Yan AW, Fouts DE, Brandl J, Starkel P, Torralba M, Schott E, et al. Enteric Dysbiosis Associated with a Mouse Model of Alcoholic Liver Disease. *Hepatol Baltim Md*. janv 2011;53(1):96-105.
92. Bull-Otterson L, Feng W, Kirpich I, Wang Y, Qin X, Liu Y, et al. Metagenomic Analyses of Alcohol Induced Pathogenic Alterations in the Intestinal Microbiome and the Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG Treatment. *PLOS ONE*. 9 janv 2013;8(1):e53028.
93. MCC C, NL L, CM F, JL G, D A, C G, et al. Comparing the effects of acute alcohol consumption in germ-free and conventional mice: the role of the gut microbiota. *BMC Microbiol [Internet]*. 16 sept 2014 [cité 16 mars 2016];14. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4177591/>
94. Leclercq S, Matamoros S, Cani PD, Neyrinck AM, Jamar F, Stärkel P, et al. Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 21 oct 2014;111(42):E4485-93.
95. Mutlu EA, Gillevet PM, Rangwala H, Sikaroodi M, Naqvi A, Engen PA, et al. Colonic microbiome is altered in alcoholism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 1 mai 2012;302(9):G966-78.
96. Kirpich IA, Solovieva NV, Leikhter SN, Shidakova NA, Lebedeva OV, Sidorov PI, et al. Probiotics Restore Bowel Flora and Improve Liver Enzymes in Human Alcohol-Induced Liver Injury: A Pilot Study. *Alcohol Fayettev N*. déc 2008;42(8):675-82.
97. Chen Y, Yang F, Lu H, Wang B, Chen Y, Lei D, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatol Baltim Md*. août 2011;54(2):562-72.
98. Queipo-Ortuño MI, Boto-Ordóñez M, Murri M, Gomez-Zumaquero JM, Clemente-Postigo M, Estruch R, et al. Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. *Am J Clin Nutr*. juin 2012;95(6):1323-34.
99. Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. *Lancet Lond Engl*. 8 févr 2003;361(9356):512-9.
100. Keshavarzian A, Holmes EW, Patel M, Iber F, Fields JZ, Pethkar S. Leaky gut in alcoholic cirrhosis: a possible mechanism for alcohol-induced liver damage. *Am J Gastroenterol*. janv 1999;94(1):200-7.
101. Mir H, Meena AS, Chaudhry KK, Shukla PK, Gangwar R, Manda B, et al. Occludin deficiency promotes ethanol-induced disruption of colonic epithelial junctions, gut barrier dysfunction and liver damage in mice. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj*. avr 2016;1860(4):765-74.
102. Leclercq S, Cani PD, Neyrinck AM, Stärkel P, Jamar F, Mikolajczak M, et al. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-

- dependent subjects. *Brain Behav Immun.* août 2012;26(6):911-8.
103. Bala S, Marcos M, Gattu A, Catalano D, Szabo G. Acute Binge Drinking Increases Serum Endotoxin and Bacterial DNA Levels in Healthy Individuals. Feng W, éditeur. *PLoS ONE.* 14 mai 2014;9(5):e96864.
  104. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infect Immun.* févr 1979;23(2):403-11.
  105. Cirera I, Bauer TM, Navasa M, Vila J, Grande L, Taurá P, et al. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* janv 2001;34(1):32-7.
  106. Wiest R, Lawson M, Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J Hepatol.* janv 2014;60(1):197-209.
  107. Bellot P, Francés R, Such J. Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver Int.* janv 2013;33(1):31-9.
  108. Vassallo G, Mirijello A, Ferrulli A, Antonelli M, Landolfi R, Gasbarrini A, et al. Review article: alcohol and gut microbiota - the possible role of gut microbiota modulation in the treatment of alcoholic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 1 mai 2015;41(10):917-27.
  109. Revillard J-P. *Immunologie.* 4ème édition. De Boeck Supérieur; 2001. 604 p.
  110. Cellules étoilées du foie et fibrogenèse hépatique. [Httpwwwem-Premiumcomdatarevues0399832000210011869](http://www.em-premium.com/article/97757) [Internet]. 29 févr 2008 [cité 13 janv 2016]; Disponible sur: <http://www.em-premium.com/article/97757>
  111. HAS. Diagnostic cirrhose non compliquée 2008 - Synthèse des recommandations [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2008 [cité 5 mars 2016]. Disponible sur: [http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c\\_476486/fr/criteres-diagnostiques-et-bilan-initial-de-la-cirrhose-non-compliquee](http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_476486/fr/criteres-diagnostiques-et-bilan-initial-de-la-cirrhose-non-compliquee)
  112. Liang R, Liu A, Perumpail RB, Wong RJ, Ahmed A. Advances in alcoholic liver disease: An update on alcoholic hepatitis. *World J Gastroenterol.* 14 nov 2015;21(42):11893-903.
  113. Akriviadis E, Botla R, Briggs W, Han S, Reynolds T, Shakil O. Pentoxifylline improves short-term survival in severe acute alcoholic hepatitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology.* déc 2000;119(6):1637-48.
  114. Sidhu SS, Goyal O, Singla P, Gupta D, Sood A, Chhina RS, et al. Corticosteroid plus pentoxifylline is not better than corticosteroid alone for improving survival in severe alcoholic hepatitis (COPE trial). *Dig Dis Sci.* juin 2012;57(6):1664-71.
  115. De BK, Gangopadhyay S, Dutta D, Baksi SD, Pani A, Ghosh P. Pentoxifylline versus prednisolone for severe alcoholic hepatitis: a randomized controlled trial. *World J Gastroenterol.* 7 avr 2009;15(13):1613-9.
  116. Mathurin P, Louvet A, Duhamel A, Nahon P, Carbonell N, Boursier J, et al. Prednisolone

- with vs without pentoxifylline and survival of patients with severe alcoholic hepatitis: a randomized clinical trial. *JAMA*. 11 sept 2013;310(10):1033-41.
117. Louvet A, Diaz E, Dharancy S, Coevoet H, Texier F, Thévenot T, et al. Early switch to pentoxifylline in patients with severe alcoholic hepatitis is inefficient in non-responders to corticosteroids. *J Hepatol*. mars 2008;48(3):465-70.
118. Nguyen-Khac E, Thevenot T, Piquet M-A, Benferhat S, Gorla O, Chatelain D, et al. Glucocorticoids plus N-acetylcysteine in severe alcoholic hepatitis. *N Engl J Med*. 10 nov 2011;365(19):1781-9.
119. Naveau S, Chollet-Martin S, Dharancy S, Mathurin P, Jouet P, Piquet M-A, et al. A double-blind randomized controlled trial of infliximab associated with prednisolone in acute alcoholic hepatitis. *Hepatol Baltim Md*. mai 2004;39(5):1390-7.
120. Boetticher NC, Peine CJ, Kwo P, Abrams GA, Patel T, Aqel B, et al. A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Multi-Center Trial of Etanercept in the Treatment of Alcoholic Hepatitis. *Gastroenterology*. déc 2008;135(6):1953-60.
121. Prise en charge de l'hépatite alcoolique sévère [Internet]. FMC-HGE. 2012 [cité 4 mars 2016]. Disponible sur: <http://www.fmcgastro.org/postu-main/archives/postu-2012-paris/textes-postu-2012-paris/prise-en-charge-de-l%e2%80%99hepatite-alcoolique-severe/>
122. Louvet A, Wartel F, Castel H, Dharancy S, Hollebecque A, Canva-Delcambre V, et al. Infection in patients with severe alcoholic hepatitis treated with steroids: early response to therapy is the key factor. *Gastroenterology*. août 2009;137(2):541-8.
123. Madrid AM, Hurtado C, Venegas M, Cumsille F, Defilippi C. Long-Term treatment with cisapride and antibiotics in liver cirrhosis: effect on small intestinal motility, bacterial overgrowth, and liver function. *Am J Gastroenterol*. avr 2001;96(4):1251-5.
124. Brandl K, Plitas G, Mihu CN, Ubeda C, Jia T, Fleisher M, et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature*. 9 oct 2008;455(7214):804-7.
125. Rivkin A, Gim S. Rifaximin: new therapeutic indication and future directions. *Clin Ther*. juill 2011;33(7):812-27.
126. Zeng X, Tang XJ, Sheng X, Ni W, Xin HG, Chen WZ, et al. Does low-dose rifaximin ameliorate endotoxemia in patients with liver cirrhosis: a prospective study. *J Dig Dis*. nov 2015;16(11):665-74.
127. FAO/OMS. Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes. Cordoba, Argentine; 2001 oct.
128. Wang Y, Liu Y, Sidhu A, Ma Z, McClain C, Feng W. *Lactobacillus rhamnosus* GG culture supernatant ameliorates acute alcohol-induced intestinal permeability and liver injury. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 1 juill 2012;303(1):G32-41.

129. Lata J, Novotný I, Příbramská V, Juránková J, Frič P, Kroupa R, et al. The effect of probiotics on gut flora, level of endotoxin and Child–Pugh score in cirrhotic patients: results of a double-blind randomized study: *Eur J Gastroenterol Hepatol.* déc 2007;19(12):1111-3.
130. Hong M, Kim SW, Han SH, Kim DJ, Suk KT, Kim YS, et al. Probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* R0011 and *acidophilus* R0052) Reduce the Expression of Toll-Like Receptor 4 in Mice with Alcoholic Liver Disease. *PLoS ONE* [Internet]. 18 févr 2015 [cité 8 mars 2016];10(2). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4333821/>
131. Stadlbauer V, Mookerjee RP, Hodges S, Wright GAK, Davies NA, Jalan R. Effect of probiotic treatment on deranged neutrophil function and cytokine responses in patients with compensated alcoholic cirrhosis. *J Hepatol.* juin 2008;48(6):945-51.
132. Bengmark S, Martindale R. Prebiotics and synbiotics in clinical medicine. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr.* avr 2005;20(2):244-61.
133. Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol.* déc 2015;52(12):7577-87.
134. Buffet C, Buffet C. Les hépatopathies stéatosiques non alcooliques et le microbiote intestinal. *Médecine Mal Métaboliques.* mai 2015;9(3):301-10.
135. Tang Y, Forsyth CB, Banan A, Fields JZ, Keshavarzian A. Oats supplementation prevents alcohol-induced gut leakiness in rats by preventing alcohol-induced oxidative tissue damage. *J Pharmacol Exp Ther.* juin 2009;329(3):952-8.
136. Chiu W-C, Huang Y-L, Chen Y-L, Peng H-C, Liao W-H, Chuang H-L, et al. Synbiotics reduce ethanol-induced hepatic steatosis and inflammation by improving intestinal permeability and microbiota in rats. *Food Funct.* mai 2015;6(5):1692-700.
137. Riordan APSM, Skinner NA, McIver CJ, Liu Q, Bengmark S, Bihari D, et al. Synbiotic-associated improvement in liver function in cirrhotic patients: Relation to changes in circulating cytokine messenger RNA and protein levels. *Microb Ecol Health Dis.* 1 janv 2007;19(1):7-16.
138. Obésité et surpoids - Aide Mémoire N°311 [Internet]. World Health Organization. 2015 [cité 24 févr 2016]. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/fr/#>
139. ObEpi-Roche, enquête épidémiologique de référence sur l'évolution de l'obésité et du surpoids en France [Internet]. [cité 25 févr 2016]. Disponible sur: <https://sftp.rch.cm/france/fr/03-10-12/index.html?module1&module2&module3&module4&module5&module6>
140. Dyson JK, Anstee QM, McPherson S. Non-alcoholic fatty liver disease: a practical approach to treatment. *Frontline Gastroenterol.* 1 oct 2014;5(4):277-86.
141. LaBrecque D. Stéatose hépatique non alcoolique et stéato-hépatite non alcoolique [Internet]. World Gastroenterology Organisation; 2012 juin [cité 25 févr 2016]. Disponible sur: <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/naflid-nash/naflid->

nash-french

142. Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human Fatty Liver Disease: Old Questions and New Insights. *Science*. 24 juin 2011;332(6037):1519-23.
143. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*. janv 2011;140(1):124-31.
144. Argo CK, Caldwell SH. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. nov 2009;13(4):511-31.
145. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. juin 2005;41(6):1313-21.
146. Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, Bouillot J-L, Basdevant A, Paradis V, et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *Hepatology*. nov 2012;56(5):1751-9.
147. Bernsmeier C, Heim M. Stéatose hépatique non alcoolique et stéatohépatite non alcoolique - Manifestations hépatiques du syndrome métabolique. *Forum Méd Suisse*. 2011;11(4):53-7.
148. Minemura M. Gut microbiota and liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2015;21(6):1691.
149. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic and Clinical Implications. *Hepatology*. févr 2010;51(2):679-89.
150. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 21 déc 2006;444(7122):1022-3.
151. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: A connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. févr 2013;57(2):601-9.
152. Yuan J, Baker SS, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, Xie J, et al. Endotoxemia unrequired in the pathogenesis of pediatric nonalcoholic steatohepatitis: Endotoxin and nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. juin 2014;29(6):1292-8.
153. Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects. *Obesity*. janv 2010;18(1):190-5.
154. Raman M, Ahmed I, Gillevet PM, Probert CS, Ratcliffe NM, Smith S, et al. Fecal Microbiome and Volatile Organic Compound Metabolome in Obese Humans With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. juill 2013;11(7):868-75.e3.
155. Wong VW-S, Tse C-H, Lam TT-Y, Wong GL-H, Chim AM-L, Chu WC-W, et al. Molecular

- characterization of the fecal microbiota in patients with nonalcoholic steatohepatitis--a longitudinal study. *PLoS One*. 2013;8(4):e62885.
156. Mouzaki M, Comelli EM, Arendt BM, Bonengel J, Fung SK, Fischer SE, et al. Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. juill 2013;58(1):120-7.
  157. Munukka E, Pekkala S, Wiklund P, Rasool O, Borra R, Kong L, et al. Gut-adipose tissue axis in hepatic fat accumulation in humans. *J Hepatol*. juill 2014;61(1):132-8.
  158. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 28 mai 2013;110(22):9066-71.
  159. Kirpich IA, Marsano LS, McClain CJ. Gut–liver axis, nutrition, and non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem*. sept 2015;48(13–14):923-30.
  160. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*. 1 juill 2007;56(7):1761-72.
  161. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr*. nov 2007;86(5):1286-92.
  162. Burcelin R, Chabo C, Blasco-Baque V, Sérino M, Amar J. Le microbiote intestinal à l'origine de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les maladies métaboliques ? (French). *Médecine Sci*. août 2013;29(8/9):800.
  163. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 1 juin 2009;49(6):1877-87.
  164. Laugerette F, Vors C, Géoën A, Chauvin M-A, Soulage C, Lambert-Porcheron S, et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J Nutr Biochem*. janv 2011;22(1):53-9.
  165. Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. oct 2007;47(4):571-9.
  166. Heno-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature*. 9 févr 2012;482(7384):179-85.
  167. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 21 déc 2006;444(7122):1027-131.
  168. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 16 janv

- 2007;104(3):979-84.
169. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2 nov 2004;101(44):15718-23.
  170. Blomstrand R. Observations of the formation of ethanol in the intestinal tract in man. *Life Sci Pt 2 Biochem Gen Mol Biol*. 22 mai 1971;10(10):575-82.
  171. Cope K, Risby T, Diehl AM. Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: Implications for fatty liver disease pathogenesis. *Gastroenterology*. nov 2000;119(5):1340-7.
  172. Baker SS, Baker RD, Liu W, Nowak NJ, Zhu L. Role of alcohol metabolism in non-alcoholic steatohepatitis. *PloS One*. 2010;5(3):e9570.
  173. Zhu L, Baker RD, Baker SS. Gut microbiome and nonalcoholic fatty liver diseases. *Pediatr Res*. janv 2015;77(1-2):245-51.
  174. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, DuGar B, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*. 7 avr 2011;472(7341):57-63.
  175. Chen Y, Liu Y, Zhou R, Chen X, Wang C, Tan X, et al. Associations of gut-flora-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide, betaine and choline with non-alcoholic fatty liver disease in adults. *Sci Rep*. 8 janv 2016;6:19076.
  176. Corbin KD, Zeisel SH. Choline metabolism provides novel insights into nonalcoholic fatty liver disease and its progression: *Curr Opin Gastroenterol*. mars 2012;28(2):159-65.
  177. Guerrerio AL, Colvin RM, Schwartz AK, Molleston JP, Murray KF, Diehl A, et al. Choline intake in a large cohort of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr*. 1 avr 2012;95(4):892-900.
  178. Ierardi E, Sorrentino C, Principi M, Giorgio F, Losurdo G, Di Leo A. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine: a novel insight in the cardiovascular risk scenario. *Hepatobiliary Surg Nutr*. août 2015;4(4):289-92.
  179. Dumas M-E, Barton RH, Toye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, et al. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 août 2006;103(33):12511-6.
  180. Sayin SI, Wahlström A, Felin J, Jäntti S, Marschall H-U, Bamberg K, et al. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab*. 5 févr 2013;17(2):225-35.
  181. Li F, Jiang C, Krausz KW, Li Y, Albert I, Hao H, et al. Microbiome remodelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor signalling and decreased obesity. *Nat Commun [Internet]*. 24 sept 2013 [cité 11 avr 2016];4. Disponible sur: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ncomms3384>

182. Jiang C, Xie C, Li F, Zhang L, Nichols RG, Krausz KW, et al. Intestinal farnesoid X receptor signaling promotes nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. janv 2015;125(1):386-402.
183. Muccioli GG, Naslain D, Bäckhed F, Reigstad CS, Lambert DM, Delzenne NM, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol* [Internet]. 27 juill 2010 [cité 29 mars 2016];6. Disponible sur: <http://msb.embopress.org/cgi/doi/10.1038/msb.2010.46>
184. Venance L, Maldonado R, Manzoni O. Le système endocannabinoïde central. *médecine/sciences*. janv 2004;20(1):45-53.
185. Geurts L, Lazarevic V, Derrien M, Everard A, Van Roye M, Knauf C, et al. Altered Gut Microbiota and Endocannabinoid System Tone in Obese and Diabetic Leptin-Resistant Mice: Impact on Apelin Regulation in Adipose Tissue. *Front Microbiol* [Internet]. 13 juill 2011 [cité 30 mars 2016];2. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3139240/>
186. La stéato-hépatite non alcoolique. Influence de la nutrition, de la physiopathologie au traitement [Internet]. FMC-HGE. 2011 [cité 30 mars 2016]. Disponible sur: <http://www.fmcgastro.org/postu-main/archives/postu-2011-paris/textes-postu-2011-paris/la-steato-hepatite-non-alcoolique-influence-de-la-nutrition-de-la-physiopathologie-au-traitement/>
187. Cani PD. Crosstalk between the gut microbiota and the endocannabinoid system: impact on the gut barrier function and the adipose tissue. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. juill 2012;18 Suppl 4:50-3.
188. Promrat K, Kleiner DE, Niemeier HM, Jackvony E, Kearns M, Wands JR, et al. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 1 janv 2010;51(1):121-9.
189. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. août 2015;149(2):367-78.e5; quiz e14-5.
190. Haufe S, Engeli S, Kast P, Böhnke J, Utz W, Haas V, et al. Randomized comparison of reduced fat and reduced carbohydrate hypocaloric diets on intrahepatic fat in overweight and obese human subjects. *Hepatology*. mai 2011;53(5):1504-14.
191. ANSES. Les acides gras oméga 3 [Internet]. ANSES - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. 2013 [cité 7 avr 2016]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/les-acides-gras-oméga-3>
192. Byrne CD, Olufadi R, Bruce KD, Cagampang FR, Ahmed MH. Metabolic disturbances in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci Lond Engl* 1979. avr 2009;116(7):539-64.
193. Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT, George J. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. avr 2012;56(4):944-51.

194. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Yerian L, Hawkins C, Sargent R, et al. Double-blind randomized placebo-controlled clinical trial of omega 3 fatty acids for the treatment of diabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol.* févr 2015;49(2):137-44.
195. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology.* juin 2012;55(6):2005-23.
196. Johnson NA, Sachinwalla T, Walton DW, Smith K, Armstrong A, Thompson MW, et al. Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss. *Hepatology.* oct 2009;50(4):1105-12.
197. Ratziu V, de Ledinghen V, Oberti F, Mathurin P, Wartelle-Bladou C, Renou C, et al. A randomized controlled trial of high-dose ursodeoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* mai 2011;54(5):1011-9.
198. Xiang Z, Chen Y, Ma K, Ye Y, Zheng L, Yang Y, et al. The role of ursodeoxycholic acid in non-alcoholic steatohepatitis: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2013;13:140.
199. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology.* mars 2004;39(3):770-8.
200. Leuschner UFH, Lindenthal B, Herrmann G, Arnold JC, Rössle M, Cordes H-J, et al. High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology.* août 2010;52(2):472-9.
201. Méndez-Sánchez N, González V, Chávez-Tapia N, Ramos MH, Uribe M. Weight reduction and ursodeoxycholic acid in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Hepatol.* sept 2004;3(3):108-12.
202. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 6 mai 2010;362(18):1675-85.
203. Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med.* 4 janv 2005;142(1):37-46.
204. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol.* nov 2003;98(11):2485-90.
205. Athyros VG, Tziomalos K, Gossios TD, Griva T, Anagnostis P, Kargiotis K, et al. Safety and efficacy of long-term statin treatment for cardiovascular events in patients with coronary heart disease and abnormal liver tests in the Greek Atorvastatin and Coronary Heart Disease Evaluation (GREACE) Study: a post-hoc analysis. *Lancet Lond Engl.* 4 déc

- 2010;376(9756):1916-22.
206. Lewis JH, Mortensen ME, Zweig S, Fusco MJ, Medoff JR, Belder R, et al. Efficacy and safety of high-dose pravastatin in hypercholesterolemic patients with well-compensated chronic liver disease: Results of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Hepatology* Baltim Md. nov 2007;46(5):1453-63.
  207. Eslami L, Merat S, Malekzadeh R, Nasser-Moghaddam S, Aramin H. Statins for non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;12:CD008623.
  208. Fernández-Miranda C, Pérez-Carreras M, Colina F, López-Alonso G, Vargas C, Solís-Herruzo JA. A pilot trial of fenofibrate for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. mars 2008;40(3):200-5.
  209. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 26 nov 2005;366(9500):1849-61.
  210. Musso G, Cassader M, Rosina F, Gambino R. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia*. avr 2012;55(4):885-904.
  211. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults: Systematic review: epidemiology of NAFLD and NASH. *Aliment Pharmacol Ther*. août 2011;34(3):274-85.
  212. Ratziu V, Caldwell S, Neuschwander-Tetri BA. Therapeutic trials in nonalcoholic steatohepatitis: insulin sensitizers and related methodological issues. *Hepatology* Baltim Md. déc 2010;52(6):2206-15.
  213. Argo CK, Lezzoni JC, Al-Osaimi AMS, Caldwell SH. Thiazolidinediones for the treatment in NASH: sustained benefit after drug discontinuation? *J Clin Gastroenterol*. juill 2009;43(6):565-8.
  214. Ratziu V, Giral P, Jacqueminet S, Charlotte F, Hartemann-Heurtier A, Serfaty L, et al. Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology*. juill 2008;135(1):100-10.
  215. Lincoff AM, Wolski K, Nicholls SJ, Nissen SE. Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA*. 12 sept 2007;298(10):1180-8.
  216. HAS. Surpoids et obésité de l'adulte: Prise en charge médicale de premier recours [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2011 [cité 7 avr 2016]. Disponible sur: [http://www.has-](http://www.has-santé.fr/)

sante.fr/portail/jcms/c\_964938/fr/surpoids-et-obesite-de-l-adulte-prise-en-charge-medicale-de-premier-recours

217. Zelber-Sagi S, Kessler A, Brazowsky E, Webb M, Lurie Y, Santo M, et al. A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial of Orlistat for the Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. mai 2006;4(5):639-44.
218. Harrison SA, Fecht W, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA. Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, prospective trial. *Hepatology*. janv 2009;49(1):80-6.
219. HAS. Obésité: Prise en charge chirurgicale chez l'adulte [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2009 [cité 4 avr 2016]. Disponible sur: [http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c\\_765529/fr/obesite-prise-en-charge-chirurgicale-chez-l-adulte](http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_765529/fr/obesite-prise-en-charge-chirurgicale-chez-l-adulte)
220. Chavez-Tapia NC, Tellez-Avila FI, Barrientos-Gutierrez T, Mendez-Sanchez N, Lizardi-Cervera J, Uribe M. Bariatric surgery for non-alcoholic steatohepatitis in obese patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(1):CD007340.
221. Mathurin P, Hollebecque A, Arnalsteen L, Buob D, Leteurtre E, Caiazzo R, et al. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology*. août 2009;137(2):532-40.
222. Membrez M, Blancher F, Jaquet M, Bibiloni R, Cani PD, Burcelin RG, et al. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. juill 2008;22(7):2416-26.
223. Gangarapu V, Ince AT, Baysal B, Kayar Y, Kılıç U, Gök Ö, et al. Efficacy of rifaximin on circulating endotoxins and cytokines in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. juill 2015;27(7):840-5.
224. Mencin A, Kluwe J, Schwabe RF. Toll-like receptors as targets in chronic liver diseases. *Gut*. mai 2009;58(5):704-20.
225. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. nov 2007;50(11):2374-83.
226. Parnell JA, Reimer RA. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr*. juin 2009;89(6):1751-9.
227. Kellow NJ, Coughlan MT, Reid CM. Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: a systematic review of randomised controlled trials. *Br J Nutr*. 14 avr 2014;111(7):1147-61.
228. Esposito E, Iacono A, Bianco G, Autore G, Cuzzocrea S, Vajro P, et al. Probiotics reduce the inflammatory response induced by a high-fat diet in the liver of young rats. *J Nutr*. mai 2009;139(5):905-11.

229. Mencarelli A, Cipriani S, Renga B, Bruno A, D'Amore C, Distrutti E, et al. VSL#3 Resets Insulin Signaling and Protects against NASH and Atherosclerosis in a Model of Genetic Dyslipidemia and Intestinal Inflammation. Sanz Y, éditeur. PLoS ONE. 21 sept 2012;7(9):e45425.
230. Velayudham A, Dolganiuc A, Ellis M, Petrasek J, Kodys K, Mandrekar P, et al. VSL#3 probiotic treatment attenuates fibrosis without changes in steatohepatitis in a diet-induced nonalcoholic steatohepatitis model in mice. Hepatol Baltim Md. mars 2009;49(3):989-97.
231. Vajro P, Mandato C, Licenziati MR, Franzese A, Vitale DF, Lenta S, et al. Effects of Lactobacillus rhamnosus strain GG in pediatric obesity-related liver disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. juin 2011;52(6):740-3.
232. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. Eur Rev Med Pharmacol Sci. sept 2011;15(9):1090-5.
233. Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, Giordano M, Chisari G, Acquaviva R, et al. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. Dig Dis Sci. févr 2012;57(2):545-53.
234. Wong VW-S, Won GL-H, Chim AM-L, Chu WC-W, Yeung DK-W, Li KC-T, et al. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with probiotics. A proof-of-concept study. Ann Hepatol. avr 2013;12(2):256-62.
235. Aronsson L, Huang Y, Parini P, Korach-André M, Håkansson J, Gustafsson J-Å, et al. Decreased Fat Storage by Lactobacillus Paracasei Is Associated with Increased Levels of Angiopoietin-Like 4 Protein (ANGPTL4). PLoS ONE [Internet]. 30 sept 2010 [cité 9 avr 2016];5(9). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2948012/>
236. Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhah M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. Am J Clin Nutr. mars 2014;99(3):535-42.
237. Raso GM, Simeoli R, Iacono A, Santoro A, Amero P, Paciello O, et al. Effects of a Lactobacillus paracasei B21060 based synbiotic on steatosis, insulin signaling and toll-like receptor expression in rats fed a high-fat diet. J Nutr Biochem. janv 2014;25(1):81-90.

|  |  |    |
|--|--|----|
| U.F.R. DE <i>PHARMACIE</i> DE RENNES   |  | N° |
| <b>RAVACHE, Fanny.- Rôle du microbiote dans les pathologies hépatiques : une révolution pour la prise en charge des patients ?</b>   |  |    |
| 130 feuilles., 46 illustrations., 6 tableaux., 30 cm.- Thèse : Pharmacie; Rennes 1; 2016 ; N° .  |  |    |
| Résumé   |  |    |
| <p>La bonne santé du corps humain est assurée par un assemblage complexe de signaux moléculaires, cellulaires et tissulaires dans tous les organes. Les avancées technologiques récentes et les découvertes scientifiques qui en découlent ont permis de démontrer l'importance d'un « nouvel » organe : le microbiote intestinal. Son étude a permis de montrer son influence sur de nombreuses voies métaboliques et sa capacité à modifier un état de bonne santé ou un état pathologique. Son influence ne se limite pas au niveau intestinal, mais a des répercussions sur de nombreuses fonctions physio-pathologiques comme c'est le cas dans les pathologies hépatiques alcooliques et non alcooliques. Il semble en conséquence possible d'intégrer aujourd'hui la modification du microbiote dans les stratégies thérapeutiques de ces maladies.</p> <p>Cette thèse bibliographique porte dans une première partie sur la description du microbiote intestinal, l'évolution de sa composition au cours de la vie chez l'Homme, mais aussi sur les fonctions métaboliques, immunitaires et protectrices contre les organismes pathogènes que le microbiote apporte à son hôte.</p> <p>Puis, la deuxième partie, présente des études récentes où la dysbiose est mise en cause dans la survenue des pathologies hépatiques alcooliques et non alcooliques. En perspective, l'exploration des effets thérapeutiques de prébiotiques, probiotiques et antibiotiques est exposée.</p> |  |    |
| Rubrique de classement :   |  |    |
| Mots-clés :<br>Microbiote intestinal – Pathologies hépatiques alcooliques et non alcooliques – Bactéries – Prébiotiques – Probiotiques – Antibiotiques   |  |    |
| <p style="text-align: center;">Président : Madame BOICHOT-LORANT Elisabeth</p> <p>JURY :           Assesseurs : Madame BOICHOT-LORANT Elisabeth [directeur de thèse]</p> <p style="text-align: center;">Monsieur LAGENTE Vincent</p> <p style="text-align: center;">Madame CHEMIN Marie-Pierre</p>   |  |    |
|  |  |    |