



HAL
open science

Le microbiote intestinal: un “ organe ” méconnu

Jérôme Simon

► **To cite this version:**

Jérôme Simon. Le microbiote intestinal: un “ organe ” méconnu. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. dumas-01758719

HAL Id: dumas-01758719

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01758719v1>

Submitted on 24 Oct 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
FACULTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

THÈSE EN VUE DU
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par

Jérôme SIMON

né le 03 Juin 1989 à PONTIVY

Intitulé de la thèse :

**Le microbiote
intestinal :
« Un organe » méconnu**

**Thèse soutenue à Rennes
Le 8 Janvier 2016**

Devant le jury composé de :

- Pr. Vincent LAGENTE
 - Président du jury
- Pr. Ahmad FAILI
 - Directeur de thèse
- Pr. Samer KAYAL
 - Rapporteur
- Dr. Jean-Michel PASCO
 - Rapporteur
- Dr. Pascal VINCENT
 - Rapporteur

ANNEE 2015-2016**Listes des enseignants-chercheurs de la Faculté des Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques****PROFESSEURS**

1. BOUSTIE Joël
2. BURGOT Gwenola
3. DONNIO Pierre Yves
4. FAILI Ahmad
5. FARDEL Olivier
6. FELDEN Brice
7. GAMBAROTA Giulio
8. GOUGEON Anne
9. LAGENTE Vincent
10. LE CORRE Pascal
11. LORANT (BOICHOT) Elisabeth
12. MOREL Isabelle
13. SERGENT Odile
14. SPARFEL-BERLIVET Lydie
15. TOMASI Sophie
16. URIAC Philippe
17. VAN DE WEGHE Pierre
18. VERNHET Laurent

PROFESSEURS ASSOCIES

1. BUREAU Loïc
2. DAVOUST Noëlle

PROFESSEURS EMERITES

1. CILLARD Josiane

MAITRES DE CONFERENCES

1. ABASQ-PAOFI Marie-Laurence
2. ANINAT Caroline
3. AUGAGNEUR Yoann
4. BEGRICHE Karima
5. BOUSARGHIN Latifa
6. BRANDHONNEUR Nolwenn
7. BRUYERE Arnaud
8. BUNETEL Laurence
9. CHOLLET-KRUGLER Marylène
10. COLLIN Xavier
11. CORBEL Jean-Charles

12. DAVID Michèle
13. DELALANDE Olivier
14. DELMAIL David
15. DION Sarah (*nouvelle MCF en cours de formation*)
16. DOLLO Gilles
17. GILOT David
18. GOUAULT Nicolas
19. HITTI Eric
20. JEAN Mickaël
21. LECUREUR Valérie
22. LE FERREC Eric
23. LE PABIC Hélène
24. LEGOUIN-GARGADENNEC Béatrice
25. LOHEZIC-LE DEVEHAT Françoise
26. MARTIN-CHOULY Corinne
27. MINET Jacques
28. MOURET-PLEIBER Liza
29. NOURY Fanny
30. PINEL-MARIE Marie-Laure
31. PODECHARD Normand
32. POTIN Sophie
33. RENAULT Jacques
34. ROUILLON Astrid

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE (AHU)

1. GICQUEL Thomas

ATER

1. SMIDA Imen
2. PASCREAU Gaëtan
3. SAVARY Camille
4. *en attente de nomination*

TABLE DES MATIÈRES

Table des matières.....	4
Table des illustrations.....	8
Table des tableaux.....	8
Remerciements.....	9
Glossaire.....	10
Introduction.....	14
PARTIE 1 – Rappels anatomiques et présentation du microbiote intestinal.....	16
I. Physiologie et anatomie de l'intestin grêle.....	17
1 - Présentation générale.....	17
2 - Les jonctions étanches.....	19
3 - Les cellules de l'intestin grêle.....	21
II. Généralités sur le microbiote.....	22
1 - Composition.....	22
2 - Les entérotypes.....	24
3 - Variations.....	24
A) En fonction de la localisation.....	24
B) Selon leurs différentes fonctions.....	28
4 - Mise en place et évolution.....	29
A) Naissance.....	29
B) Lactation.....	30
C) Après 70 ans.....	30
D) Facteurs influençant le microbiote.....	31
a) L'allaitement.....	32
b) L'environnement.....	32
c) La prématurité.....	32
III. Méthodes d'études du microbiote.....	33
1 - La culture microbienne.....	33
2 - Étude de l'ARN (Acide Ribonucléique) 16S.....	34

3 - La métagénomique.....	34
4 - La métatranscriptomique.....	34
5 - Autres méthodes.....	35
IV. Rôles.....	36
1 - Synthèse.....	36
A) Le métabolisme des glucides.....	36
B) Le métabolisme des protéines.....	37
C) Le métabolisme des lipides.....	37
D) Autres.....	37
2 - Rôle de barrière.....	38
3 - Développement anatomique.....	38
4 - Pathologies.....	38
5 - Rôle inflammatoire.....	39
A) Introduction.....	39
B) Maturation des lymphocytes T et tolérance du soi.....	40
C) Tolérance périphérique.....	42
V. Généralités sur l'impact du microbiote sur le diabète et l'obésité.....	45
1 - Épidémiologie.....	45
A) Diabète.....	45
B) Obésité.....	46
2 - Importance du microbiote intestinal dans le développement du diabète et de l'obésité.....	47
3 - Définitions et causes.....	50
A) Définitions et causes du diabète.....	50
B) Définition et causes de l'obésité.....	51
4 - Conséquences pour la santé.....	53
A) Du diabète.....	53
B) De l'obésité.....	54
5 - Des changements dans le microbiote.....	55
 PARTIE 2 – Les différents mécanismes avancés pour expliquer l'impact du microbiote intestinal.....	 59
I. Importance de l'état inflammatoire.....	60
II. Perméabilité intestinale.....	62
III. Fonctionnement normal et dysfonctionnement de la sensibilité à l'insuline.....	63
IV. Le mimétisme moléculaire.....	64

V. Le LPS (Lipopolysaccharide).....	65
1 - Généralités.....	65
2 - Définition du LPS.....	66
3 - LPS et système endocannabinoïde.....	67
4 - Une alimentation trop riche.....	69
5 - Augmentation de la perméabilité par l'altération des TLR-2.....	70
6 - Le transport cellulaire.....	70
7 - Conséquences.....	72
A) Activité via le TLR.....	72
a) Mécanismes via le complexe CD-14/TLR-4.....	72
b) Mécanismes via le complexe MD-2/TLR-4.....	73
c) Autres mécanismes.....	73
d) Conséquences de la stimulation du TLR-4.....	75
B) Impact via les récepteurs NOD-1 et NOD-2.....	80
a) Présentation des récepteurs.....	80
b) Fonctionnement.....	80
c) Conséquences sur le diabète.....	80
VI. SCFA.....	81
1 - Introduction.....	81
2 - Définition.....	82
3 - Rôles.....	83
A) Rôle énergétique.....	83
B) Impact sur le microbiote intestinal.....	83
C) Rôle sur le fonctionnement de l'intestin et sur la barrière intestinale.....	84
D) Rôle dans le métabolisme.....	85
4 - Études.....	87
5 - Fonctionnement.....	87
VII. Activité via le facteur Fiaf.....	90
1 - Introduction.....	90
2 - Mécanisme.....	92
3 - Impact du facteur ChREBP.....	93
PARTIE 3 – Probiotiques et prébiotiques.....	96
I. Probiotiques.....	97
1 - Définitions.....	97

2 - Historique :.....	99
3 - Modes d'actions :.....	101
4 - Problèmes des probiotiques :.....	103
5 - Etudes sur les probiotiques.....	105
A) cas de Bifidobacterium breve B-3.....	105
a)Introduction.....	105
b)Les sujets d'étude.....	105
c)Les critères d'exclusion.....	105
d)Déroulement de l'étude.....	106
e)Exclusion lors de l'étude.....	108
f)Résultats.....	109
g)Conclusions.....	110
B) Autres résultats d'études menées sur les probiotiques et leurs liens avec le diabète et l'obésité.....	110
II. Les prébiotiques.....	112
1 - Définitions.....	112
2 - Modes d'actions.....	113
3 - Effets indésirables des prébiotiques.....	114
4 - Quelques utilisations.....	115
CONCLUSION.....	116
Annexes.....	117
BIBLIOGRAPHIE.....	119
RÉSUMÉ.....	128

TABLE DES ILLUSTRATIONS

<i>Illustration 1 : Les « plis » intestinaux augmentant les surfaces.....</i>	<i>18</i>
<i>Illustration 2: Structure d'une villosité intestinale.....</i>	<i>19</i>
<i>Illustration 3: Structure d'une jonction étanche.....</i>	<i>20</i>
<i>Illustration 4: Composition du microbiote intestinal humain.....</i>	<i>23</i>
<i>Illustration 5: Composition des différents microbiotes humains.....</i>	<i>25</i>
<i>Illustration 6: Variations du microbiote le long du tube digestif.....</i>	<i>27</i>
<i>Illustration 7: Variations du microbiote intestinal avec l'âge.....</i>	<i>31</i>
<i>Illustration 8: La double sélection des lymphocytes T.....</i>	<i>41</i>
<i>Illustration 9: Les différentes conséquences de l'obésité.....</i>	<i>49</i>
<i>Illustration 10: Les facteurs de changement du microbiote et ses conséquences.....</i>	<i>57</i>
<i>Illustration 11: La pénétration du LPS dans la circulation sanguine.....</i>	<i>71</i>
<i>Illustration 12: Représentation de l'état dimérisé du complexe LPS:MD-2:TLR-4.....</i>	<i>75</i>
<i>Illustration 13: Mode de fonctionnement du récepteur TLR-4.....</i>	<i>76</i>
<i>Illustration 14: Conséquences de l'augmentation de la concentration du LPS.....</i>	<i>77</i>
<i>Illustration 15: Mode de fonctionnement des récepteurs TLR-4 et TLR-2.....</i>	<i>79</i>
<i>Illustration 16: Conséquences de la stimulation du récepteur GPR43.....</i>	<i>89</i>
<i>Illustration 17: Conséquences de la stimulation du récepteur GPR41.....</i>	<i>90</i>
<i>Illustration 18: Action du microbiote intestinal sur le stockage des lipides</i>	<i>94</i>
<i>Illustration 19: Mode d'activation du facteur ChREBP.....</i>	<i>95</i>
<i>Illustration 20: Protocole avant la libération d'une souche bactérienne</i>	<i>98</i>
<i>Illustration 21: Photo d'Elie Metchnikoff.....</i>	<i>100</i>
<i>Illustration 22: Chronologie retraçant l'histoire des probiotiques.....</i>	<i>101</i>
<i>Illustration 23: Exclusions lors de l'étude de Bifidobacterium breve B-3.....</i>	<i>108</i>

TABLE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1: Les différentes méthodes d'étude du microbiote.....</i>	<i>35</i>
<i>Tableau 2: Rôles des principaux groupes bactériens dans le microbiote intestinal.....</i>	<i>44</i>
<i>Tableau 3: Impacts du système endocannabinoïde.....</i>	<i>69</i>
<i>Tableau 4: Caractéristiques principales des différents participants à l'étude.....</i>	<i>107</i>

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en premier lieu le Professeur Ahmad Faili pour m'avoir permis de réaliser cette thèse et surtout pour sa patience et sa disponibilité.

Je remercie également le Professeur Vincent Lagente pour avoir accepté de présider mon jury de thèse.

Je témoigne toute ma reconnaissance au Professeur Samer Kayal et au Docteur Pascal Vincent qui ont accepté d'assumer la tâche de rapporteur.

Merci à Jean- Michel pour avoir accepté, avec Jean-Jacques, de me laisser commettre toutes mes erreurs à mes débuts et d'être toujours aussi accueillants.

Merci à Sandrine de me supporter chaque jour malgré mes humeurs, de garder toujours son sourire et sa bonne humeur. Merci pour ton aide technique lors de la rédaction de ce document.

Merci à ma mère sans qui je pense que je n'aurais jamais pu en arriver là. Elle m'a toujours encouragé et invité à persévérer.

Merci à mon père pour avoir toujours été d'une patience infinie pendant toutes ces années qui n'ont pas toujours été faciles ainsi que d'être toujours présent quoi qu'il arrive.

Merci à mes grands-parents pour m'avoir toujours encouragé et défendu.

Merci à Mariannick pour avoir été comme une seconde mère.

Merci enfin à mes amis Edouard, Audrey, Flo, Yoann et tous les autres pour tous les bons moments passés.

Je m'excuse auprès de tous ceux que j'ai pu oublié et sans qui tout cela n'aurait pas pu être possible.

GLOSSAIRE

0-9

2-AG : 2-Arachidonylglycérol

A

ACC : Acetyl-CoA Carboxylase

ACCC : Acides Carboxyliques à Chaîne Courte

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AICD : Activation-Induced Cell Death

Akt : Protéine Kinase B

ALD : Affection Longue Durée

AMPK : Adenosine Monophosphate-activated Pattern molecules

Protein Kinase

Angptl4 : Angiopoietin-like 4

AP2 : Adipocyte Protein 2

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique messenger

ASC : Apoptosis-associated Speck-like protein containing a CARD

ATP : Adenosine Triphosphate

AVK : Anti-vitaminique K

C

C/EBP : CCAAT-Enhancer-Binding Protein

CAZymes : Carbohydrate-Active enZymes

CB : Cannabinoids

CD : Cluster of Differentiation

CD14 : Cluster of Differentiation 14

Cellules M : Cellules Microfold

ChoRE : Carbohydrate Response Element

ChREBP : Carbohydrate-Response Element

Binding Protein

CLA : Conjugated Linoleic Acid

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CoA : Coenzyme A

CpG : Cytosines phosphate Guanine

CPT1 : Carnitine Palmitoyltransferase 1

CREB : C-AMP Response Element-Binding protein

D

DAG : Diacylglycérol

DAMP : Damage-Associated Molecular

E

ERK : Extracellular signal-Regulated Kinases

F

FAAH : Fatty Acid Amide Hydrolase

FAS : Fatty Acid Synthase

FetA : Fetuin-A

FFAR : Free Fatty Acid Receptor

Fiaf : Fasting-induced adipocyte factor

FOS : Fructo-Oligosaccharides

G

G6P : Glucose-6-Phosphate

GALT : Gut Associated Lymphoid Tissue

GIP : Gastric Inhibitory Polypeptide

GK : Glucokinase

GLP-1 : Glucagon-Like Peptide-1

GLUT4 : Glucose Transporter type 4

GPR : G Protein-coupled Receptors

H

Hcl : Acide chlorhydrique

hCRP : high-sensitivity C-Reactive Protein

HGPO : Hyper Glycémie Per Os

HLA : Human Leukocyte Antigen

HMGB1 : High-Mobility Group Box 1

I

ICAM : InterCellular Adhesion Molecule

IgA : Immunoglobuline A

IKKB/IKK- β : Inhibitor of nuclear factor

Kappa-B Kinase subunit Beta

IKK/I κ B : Complexe Inhibitor of kappaB

Il : Interleukine

IMC : Indice de Masse Corporelle

INF- γ : Interféron γ

iNOS : Inducible Nitric Oxide Synthase

INR : International Normalized Ratio

IP3 : Inositol Triphosphate

IR : Insulin Receptor

IRAK : Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase

IRS : Insulin Receptor Substrate

J

JAM : Junctional Adhesion Molecule

JNK : c-Jun N-terminal Protein Kinase

JNK-AP1 : c-Jun N-Terminal Kinase-Activator Protein 1

K

KO : Knock Out

KRV : Kilham's Rat Virus

L

LBP : Lipopolysaccharide Binding Protein

LFA-3 : Lymphocyte Function-Associated Antigen 3

LID: Low Glucose Inhibitory Domain

LPL : Lipoprotéine Lipase

LPS : Lipopolysaccharide

LRR : Leucine-Rich-Repeat

M

MAMPs : Microbial-Associated Molecular Patterns

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase

MCP-1 : Monocyte Chemotactic Protein-1

MD-2 : Myeloid Differentiation factor-2

MDA5 : Melanoma Differentiation-Associated protein 5

Mg : Magnésium

MGL : Monoacylglycerol Lipase

Mlx : Max-like protein X

mTOR : mammalian Target Of Rapamycin

MUC-2 / Mucin 2 : Oligomeric Mucus Gel-Forming

MyD88 : Myeloid Differentiation primary response gene 88

N

NAPE-PLD : N-acyl

Phosphatidylethanolamine-Specific

Phospholipase D

NF- κ B/NF-B : Nuclear Factor-kappa B (NFKB)

NFAT : Nuclear Factor of Activated T-cells

NK : Natural Killer

NLRP3 : NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3

NO : Monoxyde d'Azote

NOD : Nucleotide-binding Oligomerization Domain

NOD-1 (ou 2) : Nucleotide-binding

Oligomerization Domain containing 1 (ou 2)

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P

P70S6K : Protéine Kinase Ribosomale p70 S6

PAMP : Pathogen-Associated Molecular Pattern

PC5/6 : Proprotein Convertase 5/6

PCSK3 : Poprotein Convertase Subtilisin/Kexin type3

pH : Potentiel hydrogène

PI3K : Phosphatidylinositol 3-Kinase

PIP2 : Phosphatidylinositol-4,5-Diphosphate

PIP3 : Phosphatidylinositol Triphosphate

Poly I-C : Acide Polyinosinique-Polycytidylrique

PPAR- γ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma

PRR : Pattern Recognition Receptor

PYY : Peptide YY

R

RcT : Récepteur de Cellule T

RIP3 : Receptor-Interacting Protein Kinase 3

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

ROS : Reactive Oxygen Species

RYGB : Roux-en-Y Gastric Bypass

S

S : Svedberg p 35

SCFA : Short-Chain Fatty Acid

SIIK : Serine/Threonine Innate Immunity Kinases

SREBP-1c : Sterol Regulatory Element-Binding Proteins (SREBPs) 1C

T

T CD4+ : Lymphocytes T Auxiliaires (cluster de différenciation 4)

T CD8+ : Lymphocyte T Cytotoxique (cluster de différenciation 8)

TAK-1 : Transforming Growth Factor β Activated Kinase 1

TAP : Transporter Associated with Antigen Processing

TCR : T-Cell Receptor

TGF- β : Transforming Growth Factor beta

Th : T helper cell

TIR : Translocated Intimin Receptor

TIRAP : Toll/IL-1R domain-containing Adaptor Protein

TLR : Toll-Like Receptor

TNF : Tumor Necrosis Factors

TRAF : TNF Receptor Associated Factor

TRAM : TRIF-Related Adaptor Molecule

Treg : Lymphocytes T régulateurs

TRIF : TIR-Domain-Containing Adapter-Inducing Interferon- β

TXNIP : Thioredoxin-Interacting Protein

U

UCP-1 : Uncoupling Protein 1

UFC : Unité Formant Colonie

X

X5P : Xylulose 5-Phosphate

Z

ZO : Zonula Occludens

!

γ -GTP : Gamma-Glutamyltranspeptidase

INTRODUCTION

Avec dix fois plus de bactéries que de cellules, le corps humain est quasi intégralement colonisé par des micro-organismes, aussi bien bactériens que viraux, fongiques ou protozoaires. L'ensemble de ces éléments constitue le microbiote et pèse près de deux kilogrammes. [1], [2] Il représente jusqu'à 40% du poids de nos selles. [3]

La grande majorité de ce microbiote se trouve dans le tractus gastro-intestinal où on peut retrouver entre cent et mille espèces différentes de bactéries. Cela fait de l'intestin le lieu privilégié d'échanges entre les bactéries et leur hôte. [4]

Le nombre important d'organismes microbiens et leur capacité à réguler un nombre non moins important de fonctions chez leur hôte a poussé certains chercheurs à le décrire comme un « organe virtuel ». Le terme « organe » reste impropre puisque le microbiote intestinal n'est pas différencié et ne possède pas d'unité fonctionnelle mais il remplit néanmoins des fonctions que l'on peut attendre d'un organe. [5] De plus, le microbiote intestinal est beaucoup plus sensible aux conditions environnementales que ne le sont les autres organes. [5]

Alors que nous possédons tous un génome plus ou moins constant d'un individu à l'autre, le microbiote intestinal, quant à lui, a un génome variant bien entendu selon les espèces et donc selon les individus. [6] Son génome est par ailleurs beaucoup plus étendu que celui de son hôte avec près de 8 millions de gènes soit 150 fois plus que l'Homme. [7] On estime que l'être humain obtient son microbiote intestinal définitif avant ses deux ans. Sa composition est fonction de la mère ainsi que de l'environnement. [5]

Par ailleurs, le fait que nous possédions tous une composition différente en bactéries dans nos intestins avec néanmoins une constance dans leurs fonctions a fait apparaître l'hypothèse selon laquelle le microbiote intestinal pourrait intervenir dans certains mécanismes physiologiques voir même dans le développement de certaines pathologies. [8]

Nous nous intéresserons principalement ici à l'impact des bactéries composant le microbiote intestinal en laissant quelque peu de côté ses autres composants. Néanmoins, pour en dire quelques mots, les archées les plus représentées appartiennent au phylotype comprenant *Methanobrevibacter smithii* et *Methanobacter stadtmanae*. [2],[9] On retrouve notamment des espèces des genres *Methanobrevibacter sp* et *Nitrososphaera sp*. Concernant le règne fongique, les principaux genres rencontrés sont les *Saccharomyces*, les *Candida* et les *Cladosporium*. [10]

Nous aborderons dans un premier temps quelques points sur la composition du microbiote intestinal et son étude ainsi que quelques rappels sur le diabète et l'obésité. Par la suite, on expliquera certains des mécanismes par lesquels le microbiote intestinal peut avoir un impact sur ces pathologies. Nous terminerons par un aperçu du potentiel des probiotiques et des prébiotiques comme complément dans le traitement de ces maladies.

**PARTIE 1 – Rappels anatomiques et
présentation du microbiote intestinal**

I. Physiologie et anatomie de l'intestin grêle

1 - Présentation générale

L'intestin grêle est traditionnellement découpé en trois segments : le duodénum qui fait suite à l'estomac et qui est la portion la plus courte des trois puis le jéjunum et l'iléon. En regroupant ces trois parties, l'intestin grêle atteint une taille comprise entre 5 et 6 mètres. Il n'existe pas de différences majeures entre le jéjunum et l'iléon et c'est par convention qu'on définit les deux-tiers proximaux comme étant le jéjunum et le dernier tiers ou tiers distal comme étant l'iléon. [11] & [13]

Le duodénum s'étend donc du pylore jusqu'à l'angle de Treitz sur une longueur de 30 centimètres. Le jéjunum arrive ensuite avec ses 3 à 4 mètres puis enfin l'iléon mesurant 1 mètre et qui se termine par la valvule iléo-cæcale. Chacune de ces parties a différentes fonctions : le duodénum permet notamment le mélange du contenu gastrique avec les sécrétions biliaires et pancréatiques. Le jéjunum pour sa part, assure l'essentiel de l'absorption intestinale. Au niveau de l'iléon se déroule principalement des absorptions sélectives telle que celle de la vitamine B12 ou la réabsorption des sels biliaires. [14]

L'ensemble de l'intestin grêle possède une forme telle que les 5 à 6 mètres de cet organe correspondent à une superficie de 200m² alors que sans cette disposition particulière, on serait à une surface de l'ordre de 0,33m². Cela est dû à plusieurs déformations à commencer par les valvules conniventes qui correspondent à de simples replis de la muqueuse intestinale sur une hauteur de 1 à 2 centimètres. A leur tour, ces valvules présentent des villosités intestinales qui sont des plis muqueux également mais d'une hauteur de 1 millimètre. De plus, chaque cellule de l'intestin grêle va présenter sur son pôle apical des microvillosités qui, avec le glycocalyx, vont constituer la bordure en brosse. [14]

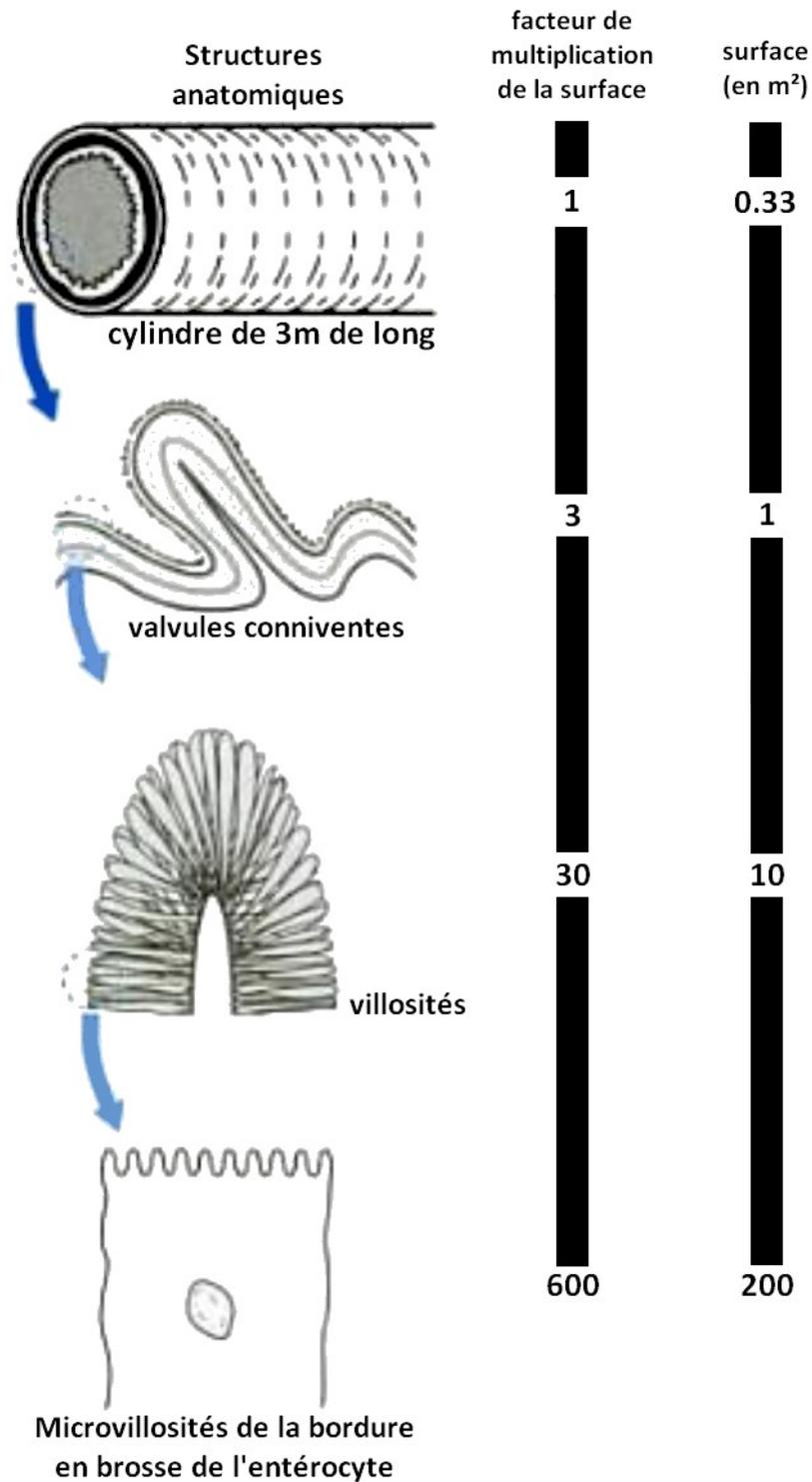


Illustration 1: Les « plis » intestinaux augmentant les surfaces. (d'après : *Physiologie humaine*. Wolters Kluwer France, 2001)

En prenant comme référence l'intestin dans sa globalité, avec un facteur de multiplication de la surface de 1, on obtient grâce aux différentes ramifications une surface qui est multipliée par un facteur 600. Cette dernière passe en effet d'environ 0,33m² à 200m² lorsque l'ensemble des sinuosités est prise en compte. Grâce à cette forme, la capacité d'absorption de l'intestin est fortement augmentée.

2 - Les jonctions étanches

L'ensemble de l'intestin grêle est donc couvert de villosités à raison de 20 à 40 par millimètre carré. Elles sont composées notamment d'une couche épithéliale unique de cellules cylindriques. Ces cellules sont liées les unes aux autres par des jonctions étanches (ou tight-junctions). [11] & [13]

Les villosités mesurent dans les 0,5mm de haut et possèdent en leur sein, en plus d'un réseau lymphatique, un réseau veineux et artériel. Par ailleurs, les villosités sont capables de mouvements et le font de manière régulière et coordonnée de manière à limiter la stagnation de l'eau à sa surface.

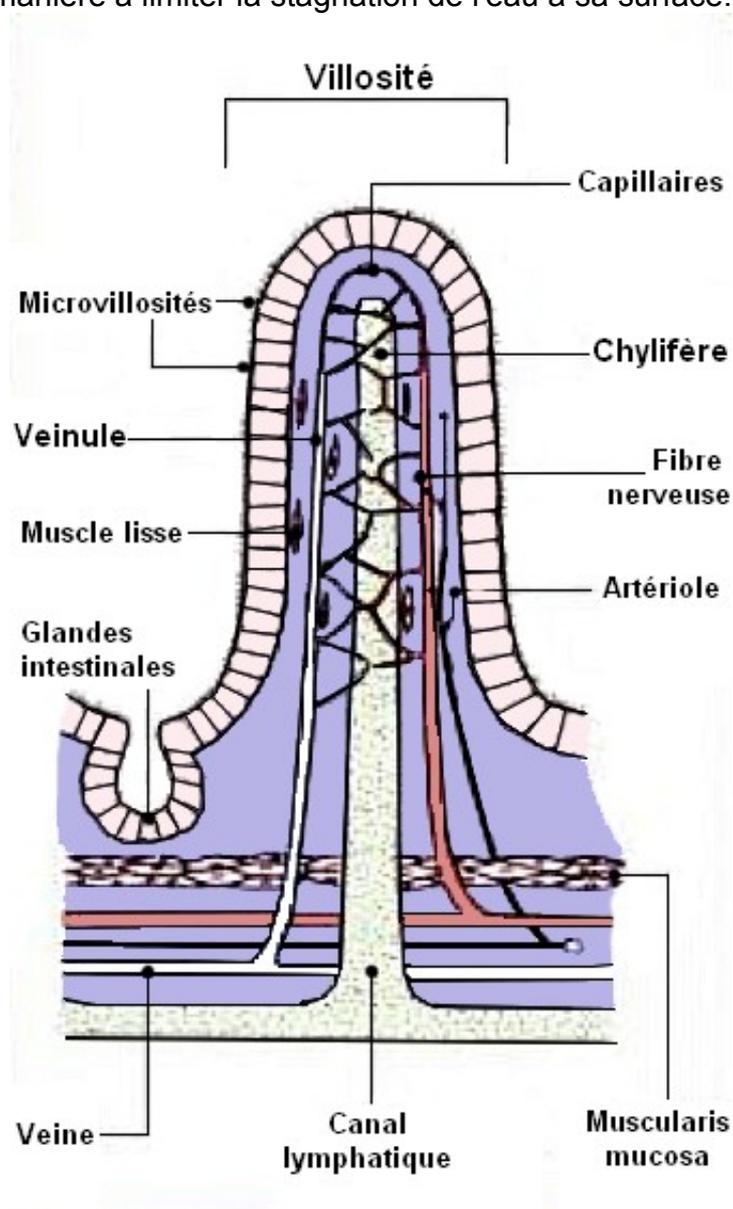


Illustration 2: Structure d'une villosité intestinale. (d'après S. H. Nguyen and R. Bourouina, Manuel d'anatomie et de physiologie. Wolters Kluwer France, 2008)

Elle est composée d'un axe formé d'un vaisseau chylifère (qui est un vaisseau lymphatique) permettant de récupérer les graisses alimentaires une fois absorbées. [16] Elle présente également de nombreux vaisseaux sanguins.

Les villosités sont composées d'entérocytes liés par des jonctions étanches.

Les jonctions étanches sont généralement situées au dessous de la surface apicale des cellules de l'intestin grêle. Elles ont pour rôle d'empêcher la diffusion de macromolécules mais aussi de limiter le passage de certaines molécules plus petites au niveau des espaces intercellulaires. Elles ont également d'autres rôles comme le maintien de la polarité des cellules. Elles sont composées de protéines qui encerclent la totalité de la cellule et entrent en contact avec ces mêmes protéines présentes sur les cellules adjacentes. Les principales protéines retrouvées sont l'occludine et la claudine possédant chacune quatre hélices alpha transmembranaires. [17]

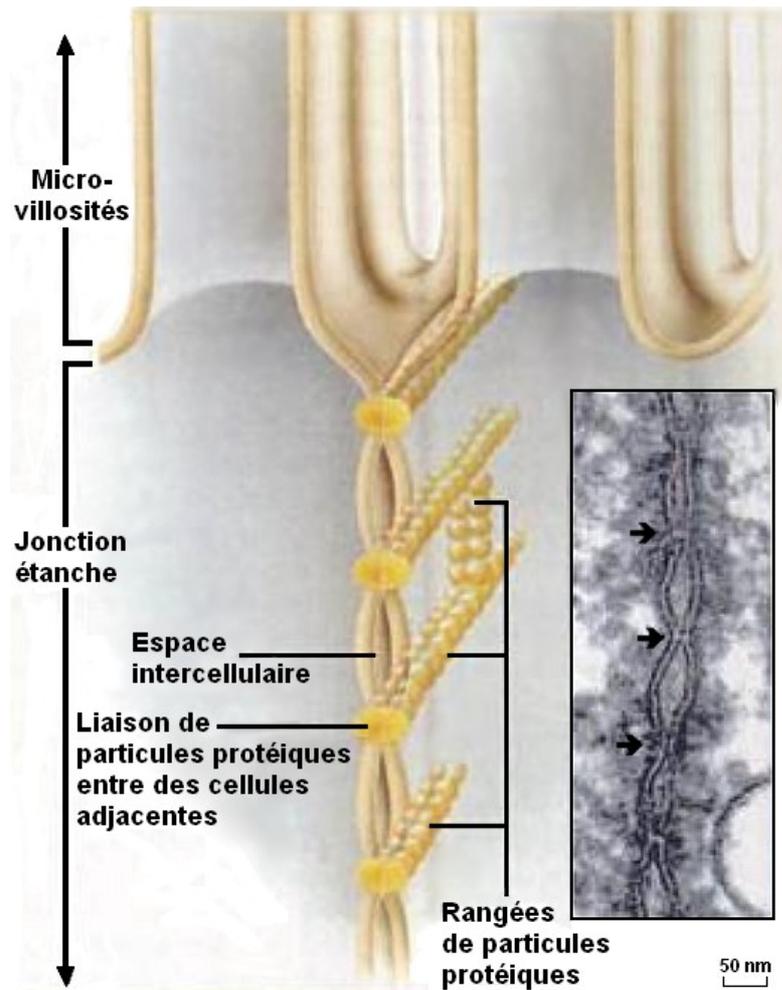


Illustration 3: Structure représentant une jonction étanche et vue microscopique de celle-ci. (d'après : M. H. Lodish, M. A. Berk, P. Matsudaira, and J. Darnell, *Biologie moléculaire de la cellule*. De Boeck Supérieur, 2005)

Elles assurent l'étanchéité des épithéliums et permettent le maintien de la polarité des entérocytes.

Ces jonctions sont retrouvées de manière régulière tout autour de la cellule intestinale. En plus des claudines et de l'occludine, on retrouve également les JAM (Junctional Adhesion Molecule) et les Crumbs. Les protéines JAM sont des immunoglobulines impliqués dans le mécanisme de diapédèse alors que les protéines Crumbs jouent entre autre un rôle dans la polarité cellulaire. [18], [19] Les claudines quant à elles, sont à l'origine de la formation de ces jonctions et permettent avec l'occludine l'interaction avec les cellules voisines grâce à leurs domaines extra-cellulaires. Les claudines sont aussi responsables de la formation de pores dans la cellule grâce à leur polymérisation. De ce fait, elles permettent l'entrée de certains ions et de certaines molécules dans la cellule. [20]

3 - Les cellules de l'intestin grêle

On retrouve donc un certain nombre de cellules au niveau intestinal. Ainsi, mis à part les cellules à bordure en brosse, on peut rencontrer des cellules caliciformes présentes tout au long des voies digestives. Leur rôle est de produire du mucus permettant entre autre de protéger la muqueuse des irritations. Ensuite, on retrouve les cellules entéroendocrines qui vont être responsables de la libération de plusieurs hormones comme la sérotonine ou la sécrétine mais aussi d'autres protéines telles que le GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1), le peptide YY ou la ghréline qui jouent un rôle important dans la régulation de la satiété. On retrouve pour finir des cellules lymphoïdes comme celles composant les plaques de Peyer ou les cellules M. Un des rôles de ces derniers acteurs va être de différencier les pathogènes externes de la flore commensale de l'intestin. [21]

II. Généralités sur le microbiote

1 - Composition

On divise traditionnellement le microbiote intestinal en trois phyla bactériens majeurs : les Actinobactéries, les Firmicutes et les Bacteroidetes. Le plus imposant est le phylum des Firmicutes avec plus de 200 genres différents parmi lesquels on retrouve les genres *Lactobacillus*, *Mycoplasma*, *Bacillus* et *Clostridium* [22] ainsi que les *Enterococcus* et les *Ruminococcus*. [23], [24] Le phylotype des Clostridia reste le plus abondant et constitue 95% de ce phyla. [2] Les Bacteroidetes constituent, quant à eux, le deuxième phyla du microbiote intestinal le plus important. A eux deux, ces deux phyla constituent 90% des bactéries intestinales. [4] Parmi les Bacteroidetes, on retrouve par exemple les genres *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas* mais on retrouve également les Actinobactéries (*Bifidobacterium* notamment). [25], [26]

Les Actinobactéries représentent moins de 10% des bactéries totales. [27]

Par ailleurs, même si ils sont nettement moins représentés, on dénombre une cinquantaine de phyla différents comme les Protéobacteria (*Helicobacter*, *Escherichia*), les Verrucomicrobia, les Fusobacteria ou les Cyanobacteria pour en citer quelques uns. [28]

Les Bactéroïdètes sont des bactéries à Gram négatif, anaérobies ne pouvant pas former de spores tandis que les Firmicutes sont des bactéries à Gram positif, anaérobies également mais capables de former des spores. [5]

Au final, malgré les quelques 1000 espèces bactériennes différentes présentes, une quarantaine d'espèces représentent à elles seules 99% de la population bactérienne du microbiote. [29] Les trois principaux phylas cités précédemment incluent pour leur part, 80 à 90% des espèces bactériennes présentes. [3]

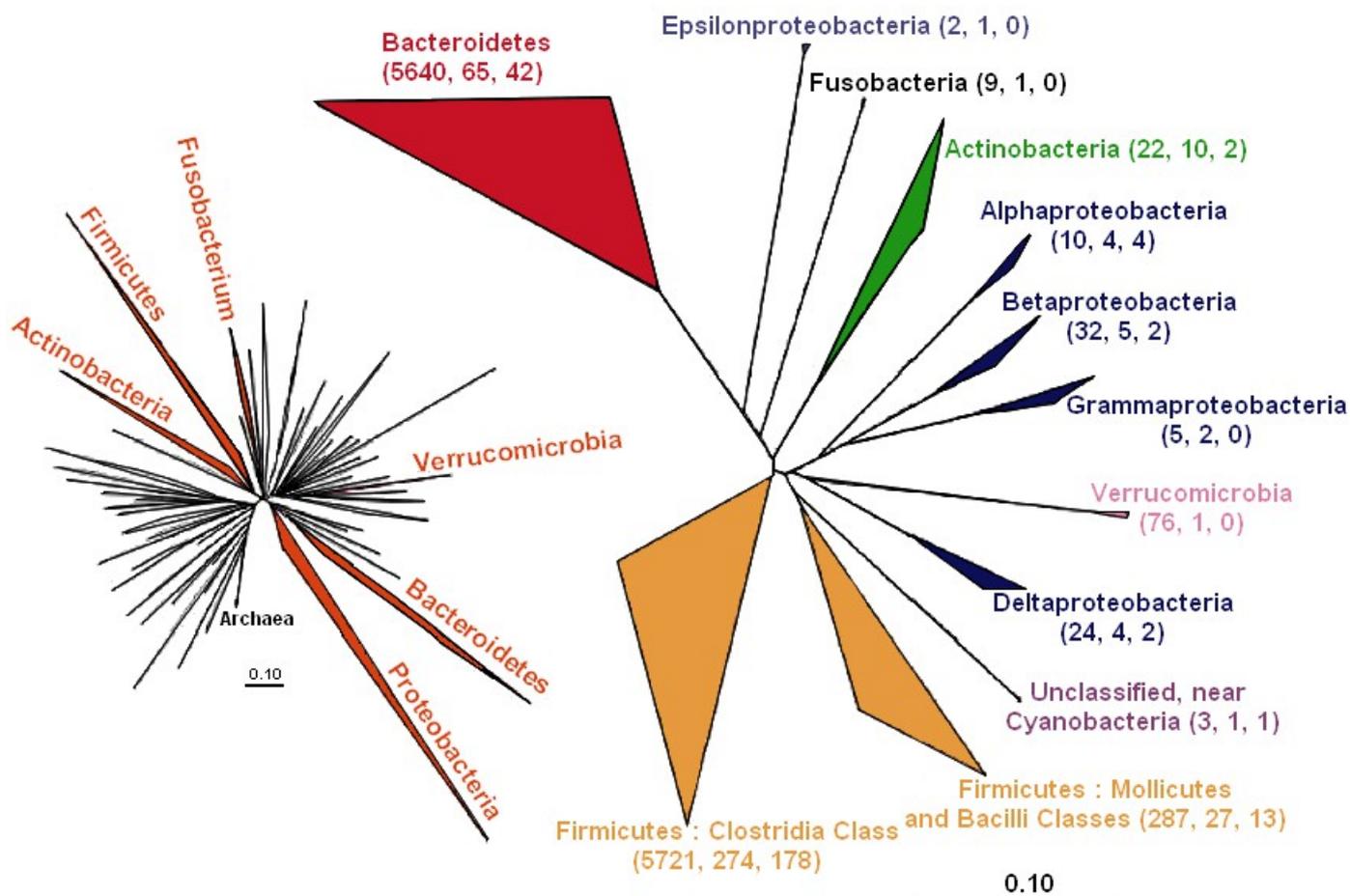


Illustration 4: Schéma représentant les proportions des principaux phylas bactériens composant le microbiote intestinal humain. (d'après : "Service médico-scientifique PLeJe, Le microbiote intestinal dans tous ses états")

On retrouve ici les principaux phylas impliqués dans les variations du microbiote intestinal en cas de diabète ou d'obésité à savoir les Firmicutes et les Bactéroidetes. Ces deux phylas représentent une importante proportion de la quantité totale de bactéries présentes.

On remarque rapidement la très grande proportion en Bactéroidetes, en Firmicutes et, dans une moindre mesure en Actinobactéries. Ils représentent en effet les trois phylas principaux. Parmi les Bactéroidetes, on retrouve principalement le genre Bactéroides. Chez les Firmicutes le genre Bifidobacterium est le mieux représenté.

2 - Les entérotypes

On référence trois entérotypes distincts en fonction des espèces majoritairement présentes dans l'intestin d'un individu, et bien que l'alimentation n'ait un impact qu'à très long terme sur la composition bactérienne, on associe l'entérotype *Bacteroides* à la consommation de viande, de protéine et de matière grasse alors que *Prevotella* est associée à une alimentation riche en fibres et en glucides complexes. [30] Le dernier est l'entérotype *Ruminococcus* et semble être le plus fréquemment rencontré. [30] L'entérotype *Bacteroides* tire principalement son énergie de la fermentation des sucres tandis que les deux autres entérotypes tirent leur énergie de la biodégradation des glycoprotéines de mucines qui protègent les muqueuses. [2]

Il existe bien évidemment des variations dans les proportions exactes de ces différents phyla mais il semble néanmoins qu'il y ait une certaine constance. Ainsi, 1/3 des espèces bactériennes serait commune d'un individu à l'autre.

3 - Variations

A) En fonction de la localisation

Le tube digestif n'est pas le seul organe à posséder un microbiote qui lui est propre. Ainsi, chaque organe en contact avec le milieu extérieur est colonisé par un ensemble de micro-organismes participant au fonctionnement correct de l'organe en question.

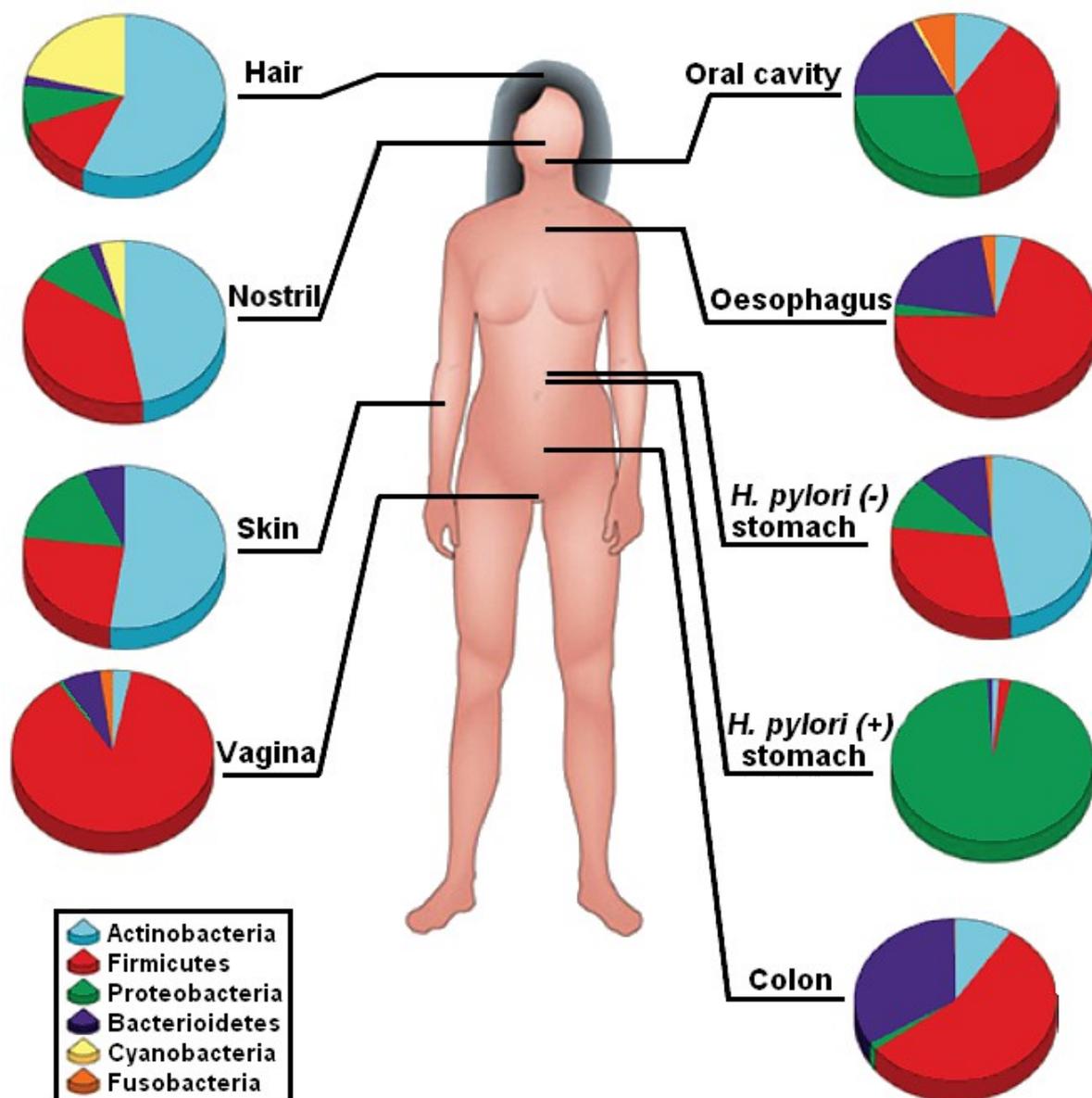


Illustration 5: Schéma présentant les proportions des différents phylas bactériens rencontrés tout au long du tube digestif mais également au niveau d'autres organes. (d'après : "Workshop Overview - Microbial Ecology in States of Health and Disease - NCBI Bookshelf")

Nombre de nos organes ont leur microbiote propre qui diffère selon la localisation de l'organe considéré. Ce microbiote, loin d'être nocif, est vital pour un fonctionnement optimal de notre organisme par exemple comme protection contre des infections par des germes opportunistes.

On remarque rapidement que les différents organes ne sont pas colonisés par les mêmes bactéries. Ainsi, les narines et la peau possèdent principalement des Actinobactéries et des Firmicutes alors que l'oesophage et le colon présentent plutôt des bactéries appartenant aux Firmicutes et aux Bacteroidetes.

Par ailleurs, comme nous l'avons évoqué précédemment, la composition du microbiote est éminemment variable d'un individu à l'autre mais même au sein d'un même individu, des variations sont également présentes tout au long du tractus digestif. Ainsi, la densité microbienne varie énormément d'un endroit à l'autre : 10^4 UFC (Unité Formant Colonie) dans le jéjunum, 10^7 UFC au niveau de l'extrémité distale de l'iléon et près de 10^{12} UFC au niveau du colon. [29]

La densité microbienne n'est pas la seule à être modifiée, la composition est elle aussi très variable selon les endroits du tube digestif étudiés.

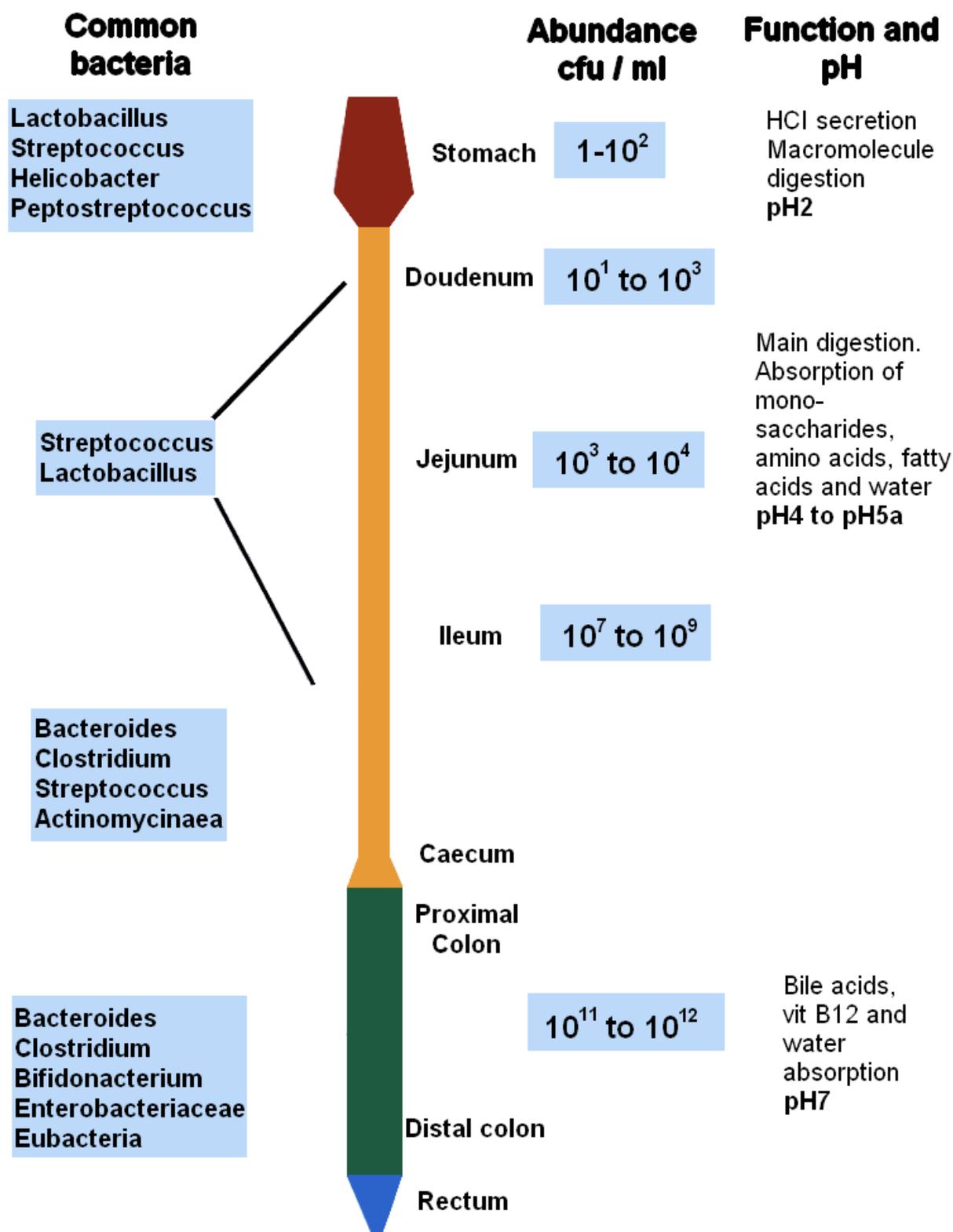


Illustration 6: Schéma présentant les variations dans la composition du microbiote tout au long du tractus digestif et précisant son abondance tout au long de celui-ci. (d'après: «P. Nguyen Van, Le microbiote intestinal, Probiotiv.»)

Le pH (Potentiel Hydrogène) de l'organe est également indiqué ainsi que certaines fonctions de microbiote intestinal. Toutes les fonctions ne sont bien sûr pas indiquées. [2] On remarque facilement les différences de composition en fonction de la localisation dans le tractus digestif.

Ainsi, l'estomac possède relativement peu de bactéries du fait de son acidité. Le duodénum et le jéjunum, quant à eux sont principalement composés de streptocoques. À ce niveau, l'acidité semble moins en cause que le péristaltisme intestinal qui empêche la fixation des bactéries. Ensuite, au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'estomac, on observe une augmentation de la diversité et de l'abondance bactérienne. Par ailleurs, à un même niveau du tractus digestif, certaines bactéries seront plus facilement rencontrées au niveau de la lumière de l'organe ou à l'inverse au niveau de la muqueuse. [3]

La localisation dans le tube digestif n'est pas le seul facteur influençant la composition et la diversité bactérienne. Ainsi, bien que ce dernier soit relativement stable, des régimes peuvent profondément le modifier. [5]

B) Selon leurs différentes fonctions

Alors que les mammifères sont capables d'absorber des sucres simples comme le galactose et le glucose au niveau du jéjunum proximal grâce à des transporteurs spécifiques et bien que certaines de leurs enzymes soient capables d'hydrolyser des disaccharides (sucrose, lactose, maltose), la capacité de l'organisme à extraire l'énergie des polysaccharides (cellulose, xylane, et pectine) est limitée. À l'inverse, les bactéries intestinales possèdent des enzymes capables d'hydrolyser ces polysaccharides : les CAZymes (Carbohydrate-Active enZymes), une variété d'enzymes comprenant entre autre des glycosides hydrolases, des carbohydrates esterase, des glycosyls transferases, et des polysaccharides lyases. Ainsi, la composition du microbiote intestinal va varier en fonction de leur capacité à assimiler ces sucres. Les Bactéroidetes ont montré une grande capacité à les utiliser. C'est aussi pourquoi, lorsque l'alimentation vient à être modifiée et qu'une absence de sucres se fait sentir, ces bactéries vont hydrolyser la mucine qui compose la couche de mucus protégeant l'épithélium intestinal. Le genre *Bifidobacterium* peut quant à lui, grâce à ses enzymes, obtenir des nutriments provenant de dérivés du glycanne de l'hôte. Ainsi, selon le régime alimentaire, les bactéries présentes pourront varier ce qui pourra entraîner des modifications pour l'hôte. Par exemple, l'augmentation de la présence de bifidobactéries dont la croissance est augmentée par les oligosaccharides du lait humain stabilisent la formation des tight-junctions et augmente la sécrétion de l'IL-10 (Interleukine 10), une

cytokine anti-inflammatoire.

Les bifidobactéries semblent également capables de produire des Conjugated Linoleic Acid (CLA) capables de moduler la composition en acides gras dans le foie et dans les tissus adipeux.

Parmi les autres facteurs pouvant interférer avec le microbiote, une chirurgie visant à poser un bypass (Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB)) a montré une diminution des Bacteroidetes et des Firmicutes et une augmentation des Proteobactéries. Par ailleurs, la présence de *Faecalibacterium prausnitzii*, une bactérie responsable de la synthèse de butyrate, est inversement proportionnelle à la présence de marqueurs pro-inflammatoires. [32]

Quels que soient les variations qui peuvent intervenir chez un individu, ce dernier semble posséder un « noyau » qui reste stable et qui est composé d'une quarantaine d'espèces. Ce noyau peut fortement varier en terme quantitatif mais reste stable d'un point de vue qualitatif. [2]

4 - Mise en place et évolution

A) Naissance

L'établissement du microbiote intestinal débute dès la naissance et on estime qu'un nourrisson naît avec une absence de bactéries dans son tractus intestinal ou, tout du moins avec un nombre limité de ceux-ci. [10], [12] En effet, au contact des micro-organismes environnementaux, l'intestin est rapidement colonisé, notamment par les microbes de la peau ou du vagin de leur mère. [22] Ainsi, une similitude a été retrouvée entre les deux microbiotes des deux individus. [28] Les premières bactéries colonisant le tractus intestinal sont des aéro-anaérobies facultatives (en particulier des entérobactéries, des staphylocoques et des entérocoques). Lorsque ces dernières croissent, elles consomment de l'oxygène et génère un milieu anaérobie favorisant l'apparition des anaérobies stricts (bifidobactéries, clostridium, Bacteroides ssp et les streptocoques anaérobies) dès le troisième jour de vie. [3],

[17] On estime que pendant la première année de vie, le microbiote intestinal subit de grandes variations et il faut attendre la fin de ce laps de temps pour observer une certaine stabilisation. [28] Ainsi, c'est vers l'âge de deux ans que l'on retrouve une colonisation bactérienne de l'intestin similaire à celle de l'adulte. [26]

Une autre hypothèse fait part que le fœtus serait colonisé à partir du troisième trimestre de grossesse suite à la colonisation du liquide amniotique par des bactéries provenant du vagin. Leur présence pourrait même parfois expliquer certaines naissances prématurées. [34]

Mais, si la colonisation du nouveau-né peut se faire par le microbiote vaginal de la mère lors de sa naissance, il faut également parler d'un mode de naissance de plus en plus répandu qu'est la césarienne. En effet, dans ce cas là, le microbiote intestinal du bébé ne ressemble pas au microbiote vaginal de sa mère mais au microbiote cutané de celle-ci. Ainsi, alors que pendant la première semaine de vie, le nouveau-né présente une majorité de Bacteroides, le bébé ayant subi une césarienne présente une grande proportion de Proteobacteria. [34]

B) Lactation

Une grande variabilité interindividuelle est très nettement marquée chez l'enfant et a donc tendance à s'homogénéiser en vieillissant. [4] Cette grande variation se traduit par exemple par une forte proportion de Bifidobactéries chez les enfants allaités a priori due à la présence de certains facteurs de croissance dans le lait. Ils possèdent également moins d'*Escherichia coli*, de *Clostridium difficile* et de *Bacteroides fragilis* que les enfants ne tétant pas le sein de leur mère. Ces modifications se normalisent après l'incorporation d'une alimentation variée. [35]

C) Après 70 ans

Par contre, en vieillissant, notre microbiote se modifie également. Ainsi, passé 70 ans, on observe une augmentation dans la présence des clostridies, des entérobactéries et des entérocoques mais également une diminution des bifidobactéries. Mais dans l'ensemble, avec l'âge, la diversité bactérienne de l'intestin a tendance à s'accroître. [3]

En vieillissant, un certain nombre de modifications ont lieu. Ainsi, on a observé un moins grand nombre de bactéries anaérobies, de Bifidobacteria et de Bacteroides et une augmentation des Clostridium. La composition qualitative par contre, elle, était modifiée. [2]

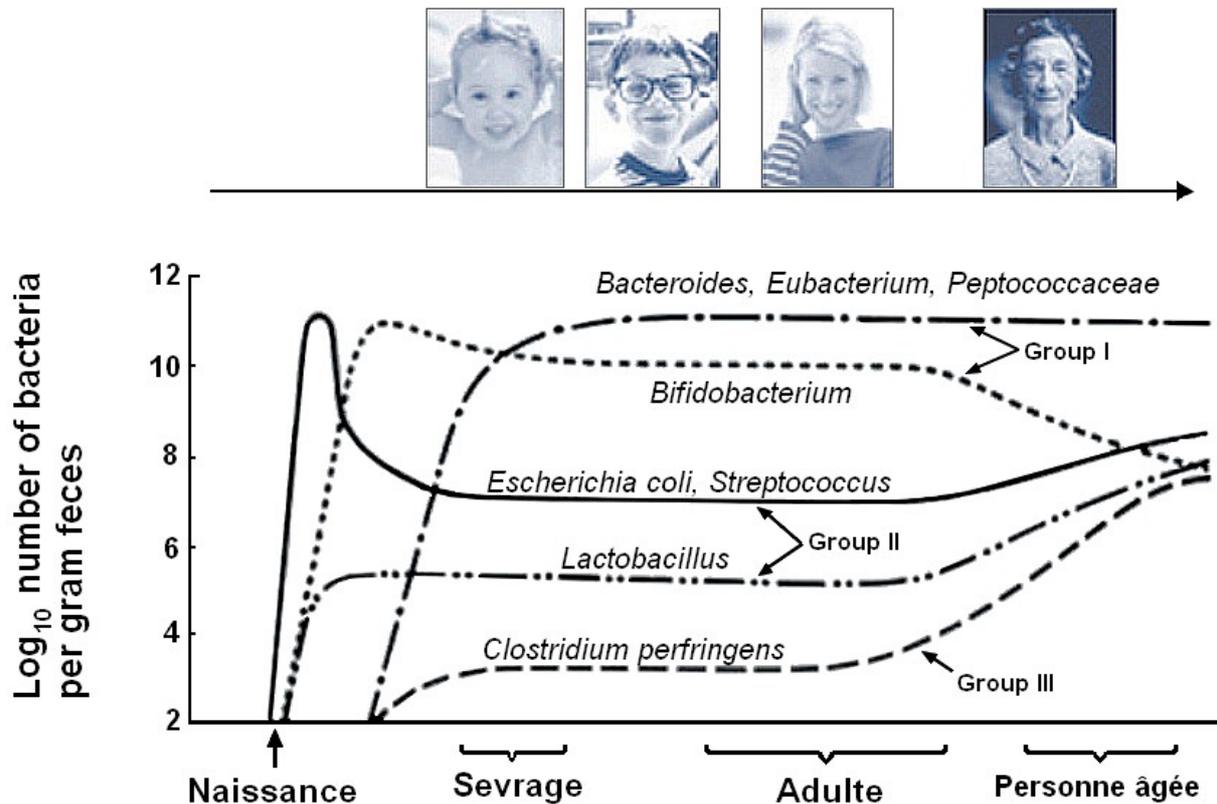


Illustration 7: Variations du microbiote intestinal avec l'âge. (d'après :« Service médico-scientifique PiLeJe, Le microbiote intestinal dans tous ses états »)

Ce graphique présente les variations des genres et des espèces bactériennes en fonction de l'âge.

On observe dès la naissance une prolifération des aéro-anaérobies facultatives comme *E. coli* ou *Streptococcus*. En consommant l'oxygène elles permettent le développement de germes anaérobies strictes comme les bactéries du genre *Bifidobacterium* ou *Lactobacillus* puis, un peu plus tard les bactéries de genre *Bacteroides* et les Firmicutes.

D) Facteurs influençant le microbiote

Outre l'alimentation, on référence un certain nombre de facteurs capables d'influer sur la composition bactérienne : des facteurs intrinsèques (génétique, âge, sexe) et des facteurs extrinsèques (médicaments comme les antibiotiques, chirurgie). [30]

Ces facteurs pourraient avoir de telles conséquences qu'on avance l'hypothèse selon laquelle des modifications dans le microbiote intestinal durant l'enfance pourraient être à l'origine du développement d'une obésité, d'un diabète de type II ou de troubles cardiovasculaires. En effet, lors de leur croissance, les bactéries se créent un environnement qui leur est profitable tout en limitant le développement d'autres micro-organismes. C'est pourquoi lorsque des modifications du microbiote apparaissent alors que ce dernier n'est pas complètement formé et stable, on peut observer l'apparition d'autres cellules bactériennes qui vont pouvoir croître, créer leur environnement et par la suite éventuellement entraîner l'apparition de certaines pathologies. [35] Plusieurs facteurs sont à prendre en compte.

a) L'allaitement

L'allaitement permet d'augmenter l'implantation du germe *Bifidobacterium* chez le nouveau-né tétant sa mère par rapport à l'enfant prenant du lait de vache. Ce développement serait dû à la présence d'oligosaccharides particuliers dans le lait maternel voir même la présence de Bifidobactéries. [36]

b) L'environnement

On observe un retard dans l'établissement du microbiote intestinal dans les pays industrialisés à cause d'une hygiène périnatale beaucoup plus stricte et donc exempte de bactéries par opposition aux pays en voie de développement. [36]

c) La prématurité

Chez le prématuré, on peut observer également un retard dans l'établissement de son microbiote intestinal avec un déséquilibre entre le microbiote anaérobie stricte (normalement dominant) et le microbiote aérobie. Les genres *Bacteroides* et *Bifidobacterium* sont particulièrement touchés. En plus de ce déséquilibre, on remarque une colonisation par des entérobactéries autres qu'*Escherichia coli* en particulier *Enterobacter cloacae* ou *Serratia*. Se rajoute à cela un développement du genre *Staphylococcus* qui se fait plus tôt avec majoritairement des espèces à coagulase négative.

Ce retard dans le développement du microbiote peut être imputé à plusieurs facteurs tels que le mode d'accouchement qui se fait plus souvent par césarienne chez le prématuré mais aussi à la séparation rapide d'avec la mère pour la mise en soins intensifs dans des endroits aseptisés voir même une antibiothérapie à large spectre. [36]

III. Méthodes d'études du microbiote

1 - La culture microbienne

Pendant longtemps, la seule étude possible des micro-organismes passait par la culture microbienne. Malheureusement, la plupart des composants du microbiote intestinal ne sont pas cultivables d'où les difficultés rencontrées pour les étudier notamment à cause du fait que leur survie dépend parfois des autres micro-organismes présents voir des cellules de l'hôte ou que, comme c'est souvent le cas, la méthode de culture n'est pas connue. [8], [13] De ce fait, cette méthode ne fonctionne que pour les germes faciles à cultiver. [37] Une fois développées, on pourra caractériser les bactéries isolées par l'observation macroscopique des colonies, l'observation microscopique des bactéries et un certain nombre de réactions biochimiques. [26] Malgré ces limites, la culture microbienne a connu un important développement. En effet, pendant longtemps on a pensé que 80% des bactéries étaient impossibles à cultiver. [38] Or, en couplant un spectromètre de masse à un laser ionisant après dégradation des bactéries et obtention des protéines, on obtient un profil protéique caractéristique d'une espèce bactérienne. [39] On parle de culturomics microbienne. [38] Cette méthode a l'avantage sur les méthodes qui suivent, de pouvoir caractériser des bactéries à un taux inférieur à 10^5 bactéries par millilitre après avoir supprimé les germes faciles à cultiver grâce à des filtrations, des antibiotiques ou des bactériophages. Cette méthode a pu se développer également grâce à l'amélioration des techniques de culture bactérienne. [38]

2 - Étude de l'ARN (Acide Ribonucléique) 16S

Une autre méthode utilisée est le séquençage à haut débit. Cette étude peut se faire de différentes manières mais concerne très souvent l'ARN ribosomal 16S puisqu'il est présent chez tous les procaryotes et a la particularité d'être très variable et permet ainsi de différencier les espèces. [26] On retrouve ainsi des méthodes comme des plateformes de pyroséquençage de Roche 454, ainsi que l'Illumina sequencing ou le SoLid system. [37] Par contre, l'étude de l'ARN (Acide Ribonucléique) 16S ne donne aucune information sur le rôle de chaque espèce bactérienne. [37]

3 - La métagénomique

L'étude de l'ARN 16S ne permet pas non plus de déterminer leur stabilité dans le tractus intestinal. C'est pourquoi on utilise la métagénomique qui permet de caractériser un ensemble de gènes d'une communauté mais cela ne permet toujours pas de déterminer la fonction des différents gènes présents. [26]

La métagénomique permet un séquençage direct de l'ADN (Acide Désoxyribonucléique) microbien extrait d'un milieu donné. [40] Contrairement à l'étude de l'ARN 16S, la métagénomique ne nécessite pas d'amplification de gène. Cette méthode a également des limites puisque bien que l'on puisse déterminer quels gènes sont présents, on ne peut savoir si ceux-ci sont exprimés ou non.

4 - La métatranscriptomique

Ce dernier inconvénient a permis à une autre méthode de se développer pour contourner ce problème. Il s'agit de la métatranscriptomique. [40] Elle permet de déterminer l'activité microbienne en analysant l'expression des gènes. [37] Là encore, cette méthode a ses propres limites. En effet, l'instabilité de l'ARNm (Acide Ribonucléique messenger) rend difficile son étude et son extraction est elle aussi compliquée. [40]

5 - Autres méthodes

D'autres méthodes sont également utilisées comme la métagénomique ou la métabolomique. La métagénomique permet l'étude de composants plus stable que l'ARN que sont les protéines et utilise une chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse. La métabolomique quant à elle, utilise la RMN (Résonance Magnétique Nucléaire). [37]

Technique	Characteristic	Limit
Target gene sequencing	Using 16S ribosomal RNA gene Observe bacterial composition Detect disease specific bacteria	Obtain only taxonomic information Amplification based approach Chimera production and PCR bias
Metagenomics	Using fragmented metagenome Observe microbial composition without amplification Detect gene contents of complex microbiota Compare functional gene contents between samples	Limited information of active bacteria and expressed gene contents Bioinformatic bottleneck
Metatranscriptomics	Using enriched mRNA or synthesized cDNA from total RNA Observe alive microbial composition in samples Detect gene expression profiles Compare functional gene expressions between samples	Difficult to handle RNA sample Hard to extract RNA from environmental sample Multiple purification steps needed
Metaproteomics	Using crude proteins or peptides Observe microbial composition producing proteins Detect protein profiles Compare protein productions between samples	Insufficient information of proteins in database Difficult to extract total protein from environmental sample
Métabolomiques	Using liquid including complex metabolites Observe metabolic profiles Compare metabolites between samples	Insufficient information of metabolites in database Mixed information of host and microbial metabolites No unique protocol

Tableau 1: Les différentes méthodes d'étude du microbiote. (d'après : B.-S. Kim, Y.-S. Jeon, and J. Chun, "Current Status and Future Promise of the Human Microbiome," *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, vol. 16, no. 2, pp. 71–79, Jun. 2013)

Tableau présentant les principales caractéristiques et les principales limites des différentes techniques d'études du microbiote.

Les principales limites qu'on peut rencontrer concernent des difficultés techniques par exemple pour manipuler un ARN simple brin ou pour l'extraire de son environnement.

Ces différentes techniques ont permis d'être de plus en plus précis dans la composition du microbiote intestinal.

IV. Rôles

Malgré la grande variabilité du microbiote, un certain nombre de bactéries sont retrouvées chez tous les individus de manière à assurer l'ensemble des fonctions remplies par le microbiote. [30] Parmi ces différentes tâches, certaines n'apparaissent qu'à partir de l'âge de deux ans suggérant ainsi le rôle central du microbiote intestinal dans leur exécution. [3]

1 - Synthèse

En effet, le microbiote intestinal est impliqué en particulier dans la régulation de voies cataboliques et anaboliques ainsi que dans le métabolisme des nutriments lipidiques et protéiques et régule également de nombreuses activités chez l'hôte comme le métabolisme de la bile ou la régulation de certaines fonctions endocrines ou même immunitaires. [5], [26], [30]

A) Le métabolisme des glucides

Lorsque les glucides fermentescibles parviennent dans le colon, leur quantité varie de 10 à 60 grammes par jour selon les habitudes alimentaires. Les premières bactéries à intervenir sont les bactéries hydrolytiques qui vont dégrader les polymères en oligosaccharides plus petits. Cette étape est possible grâce à la présence de nombreuses enzymes telles que des hydrolases que l'hôte est

incapable de produire. On retrouve principalement parmi ces bactéries les genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia*.

Par la suite, quasi l'ensemble du microbiote est capable d'utiliser les glucides pour produire notamment du pyruvate par glycolyse. Cette molécule est à l'origine d'acides gras à chaîne courte comme l'acétate, le propionate et le butyrate qui seront par la suite utilisés de différentes manières par notre organisme. [41]

B) Le métabolisme des protéines

De la même façon que pour les sucres, une certaine quantité de protéines, estimée entre 6 et 18 grammes par jour, parvient jusqu'au colon. La protéolyse est réalisée par des bactéries appartenant aux genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*. Cette protéolyse peut être à l'origine de la production de métabolites toxiques pour l'organisme de l'hôte comme des indoles et des phénols qui proviennent de la dégradation des acides aminés aromatiques et qui ont un rôle dans le développement du cancer du colon. [41]

C) Le métabolisme des lipides

Pour terminer, les lipides parvenant au colon, à raison de 5 à 8 grammes par jour, vont subir l'action de nombreuses bactéries possédant des lipases. Certaines bactéries vont ainsi pouvoir hydrolyser des triglycérides à longues chaînes. Certains microbiotes sont même capables de diminuer l'absorption du cholestérol en le transformant en coprostanol non absorbable qui sera donc éliminé dans les fèces, diminuant de ce fait le risque de maladies cardiovasculaires. [41]

D) Autres

Le microbiote intestinal produit par ailleurs un grand nombre de vitamines, notamment celles du groupe B et est capable de synthétiser des acides aminés.

2 - Rôle de barrière

Le microbiote intestinal forme également une barrière physique empêchant la colonisation de l'intestin par d'autres germes dits opportunistes. [3] Il va permettre d'éviter le développement de bactéries pouvant être présentes dans l'alimentation par exemple. Cet effet de barrière est obtenu sans qu'on puisse préciser quelles espèces en sont responsables. [42] Il parvient à cet effet en produisant notamment des composés antimicrobiens ce qui va également permettre de limiter l'impact du LPS (Lipopolysaccharide) et du peptidoglycane sur les cellules de l'intestin. [43] Pour y parvenir, le microbiote intestinal peut agir de deux façons : soit en diminuant leur synthèse soit en améliorant la sensibilité des entérocytes à ces toxines et ce même sans modifier la colonisation de la bactérie productrice. [42] Il régule également la formation de mucine qui permet de limiter l'effet pro-inflammatoire de certains composés et de limiter la capture d'antigènes. [43]

3 - Développement anatomique

Le microbiote intestinal participe par ailleurs au développement de la physiologie du tube digestif en particulier de l'intestin en agissant sur l'épaisseur de la muqueuse et sur la taille des villosités et des bordures en brosse via le développement de l'angiogénèse au niveau intestinal. [3] Par ce biais, il permet également de stimuler le développement et la croissance des cellules de l'intestin et même leur différenciation. [43] En effet, les souris axéniques voient diminuer l'épaisseur de la muqueuse intestinale, la taille de leurs villosités et de leurs bordures en brosse. Le renouvellement épithélial colique est également ralenti ce qui entraîne une diminution du nombre de cellules par crypte. [41]

4 - Pathologies

Il semblerait que le microbiote intestinal joue également un rôle important dans le développement de certaines pathologies comme le diabète et l'obésité mais est aussi impliqué dans celui des entéropathies ou des maladies cœliaques. [44]

Le microbiote intestinal a également une fonction importante à jouer dans le catabolisme des toxines et des composés carcinogènes apportés par l'alimentation ainsi que dans la synthèse de micronutriments, la fermentation d'aliments non digestibles et dans l'aide à l'absorption de minéraux et d'électrolytes. [32]

On a par ailleurs déjà évoqué l'impact potentiel du microbiote intestinal dans le cancer du colon.

5 - Rôle inflammatoire

A) Introduction

Un des principal rôle du microbiote intestinal est de participer au développement du système immunitaire inné notamment en modulant l'expression des TLRs (Toll-Like Receptors) en agissant comme un sélecteur thymique. [45], [46] Le système immunitaire acquis est également fonction de ce microbiote puisque ce dernier va permettre de maintenir une tolérance du système immunitaire envers des antigènes présents naturellement dans l'organisme ou envers de la nourriture. [45]

On a d'ailleurs remarqué que les organismes exempts de microbiote intestinal possédaient un taux de cellules dendritiques plus bas que les autres. [47] En plus de cela, les souris axéniques présentaient un système immunitaire immature et possédaient un nombre moindre de lymphocytes intraépithéliaux associé à une baisse de la production d'immunoglobulines sériques et de cytokines. Par ailleurs, la rate et les ganglions lymphatiques n'étaient pas structurés et présentaient des zones lymphocytaires atrophiées. Le rôle du microbiote intestinal dans le développement du système immunitaire se confirme d'ailleurs lorsqu'on inocule un microbiote provenant d'une souris normale à une souris axénique. Il ne suffit en effet que de quelques semaines pour que les souris axéniques retrouvent un système immunitaire efficace. [41]

Le microbiote intestinal joue donc un rôle à la fois au niveau thymique et périphérique.

La tolérance du soi est en effet « apprise » par notre système immunitaire notamment au niveau du thymus mais malgré cet apprentissage, certains lymphocytes sont défectueux c'est pourquoi notre organisme a également mis au point une tolérance dite périphérique pour moduler l'activité des lymphocytes imparfaits. [48]

B) Maturation des lymphocytes T et tolérance du soi

Pour fonctionner correctement, le système immunitaire doit être capable de différencier les antigènes du soi de ceux du non-soi. Cela débute dès la vie fœtale mais se poursuit après la naissance où le système immunitaire rencontre pour la première fois des bactéries, qu'elles soient pathogènes ou non.

Lors de la production des lymphocytes T, ces derniers expriment rapidement la molécule CD2 (Cluster of Differentiation 2) à leur surface. Elle peut se lier à la molécule CD58 (Lymphocyte Function-Associated Antigen 3 (LFA-3)) présente sur l'ensemble des cellules présentatrices d'antigènes du thymus (cellules corticales et dendritiques). Cette liaison permet de stabiliser l'interaction entre les lymphocytes T et les cellules présentatrices d'antigènes. Ensuite, le récepteur pour l'antigène de la cellule T (RcT) interagit avec un fragment peptidique d'antigène présenté par le HLA (Human Leukocyte Antigen) de la cellule présentatrice d'antigènes. D'autres protéines interviennent comme le CD3 qui permet la transduction de signaux d'activation dans les lymphocytes T. CD4 et CD8, eux, interagissent avec le récepteur HLA pour augmenter l'affinité de l'interaction entre les deux cellules. CD18, comme CD2 avec CD58, va se lier à ICAM (InterCellular Adhesion Molecule) 1 et 2 pour encore renforcer cette interaction.

Les précurseurs des lymphocytes T sont formés initialement dans le foie fœtal puis dans la moëlle osseuse. Ils migrent ensuite vers le thymus où ils se différencient en pro-thymocytes puis en thymocytes. Après leur maturation, les lymphocytes T matures migrent vers les organes lymphoïdes périphériques. Mais, pour permettre cette maturation, il est nécessaire que le RcT (Récepteur de Cellule T) ait une liaison de faible affinité avec la molécule HLA présente sur les cellules épithéliales thymiques. Cette première étape a pour but de permettre uniquement le développement des lymphocytes T capables de reconnaître les CMH (Complexe

Majeur d'Histocompatibilité) autologues : on parle de sélection positive. Il s'en suit une sélection négative des cellules T ayant des RcT avec une trop forte affinité pour les CMH autologues. Cette étape permet de supprimer les cellules T pouvant induire des réactions auto-immunes.[49] Cette double sélection permet de développer la tolérance centrale. [50]

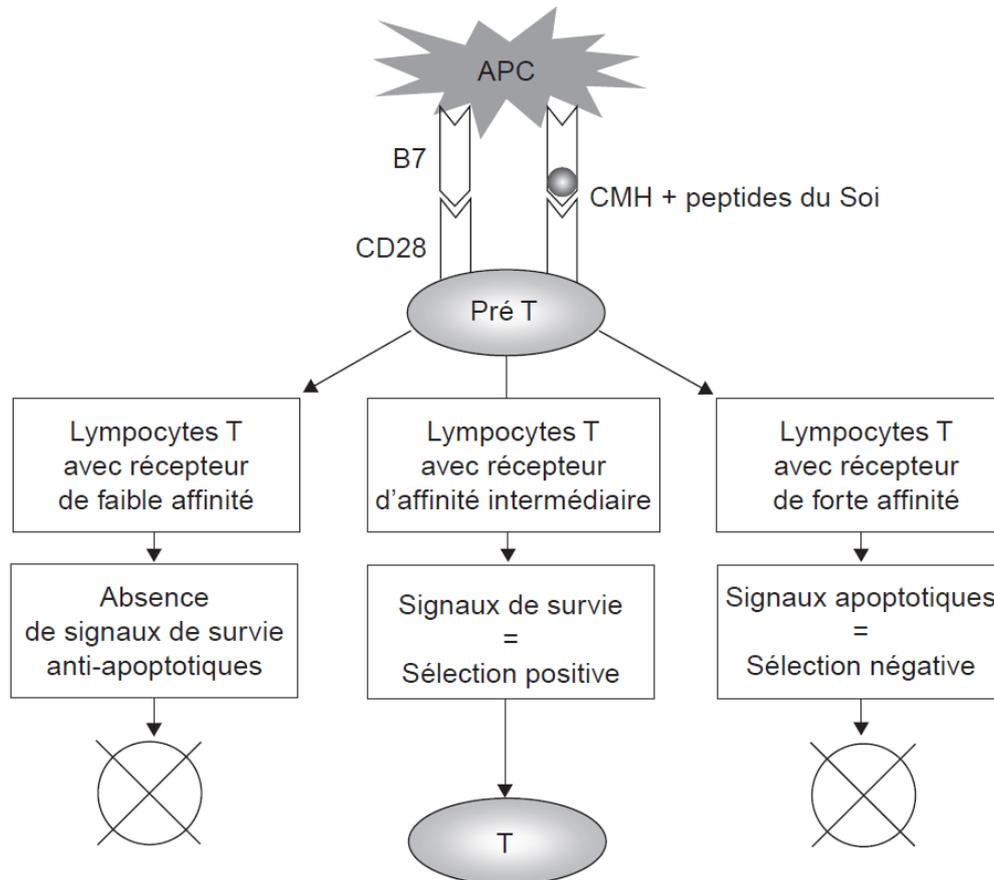


Illustration 8: La double sélection des lymphocytes T (d'après : Lebranchu Y., "Tolérance, aspects théoriques et cliniques : implications pour la transplantation")

La double sélection dans le thymus aboutit à la formation des lymphocytes T matures. [51] L'interaction entre B7 et CD 28 correspond à une co-stimulation nécessaire à l'expansion clonale du lymphocyte T. [52] Cette double sélection permet d'éviter un développement anarchique des lymphocytes T.

C) Tolérance périphérique

Du fait du partage de mêmes motifs capables de produire une réaction inflammatoire pour l'intestin, le système immunitaire développe une tolérance vis-à-vis du microbiote intestinal tout en gardant une efficacité contre d'éventuels pathogènes. Néanmoins, lorsque la barrière intestinale se rompt, le système immunitaire perd cette tolérance. [53]

Parmi les cellules présentatrices d'antigène, il existe un sous-ensemble de cellules dendritiques se trouvant dans la lamina propria et qui sont capables d'échantillonner un certain nombre de bactéries présentes à la surface apicale des cellules épithéliales de manière à les surveiller. Les cellules dendritiques sont capables de moduler leur comportement en fonction des signaux de l'environnement ce qui peut permettre de limiter l'activation des lymphocytes T effecteurs même contre les bactéries du microbiote intestinal. [54]

Le GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) est le tissu lymphoïde du tube digestif. Grâce à la mise en place de cette tolérance, le GALT parvient à diminuer la réponse immunitaire contre les éléments inoffensifs. A la naissance, la fonction des lymphocytes Th2 (T helper cell) prime sur la fonction des Th1. Les Th2 étant responsables des phénomènes allergiques via la production de cytokines qui conduisent à la production d'anticorps. D'où l'importance de l'exposition antigénique qui permet de stimuler le développement des Th1 pour établir un équilibre entre Th2 et Th1 pour permettre une tolérance. [46]

La résistance périphérique est composée de plusieurs facteurs différents : l'ignorance, l'anergie, la délétion clonale périphérique et les lymphocytes Treg (Lymphocytes T régulateurs) périphériques. [50]

L'ignorance immunologique s'applique lors de la présentation d'antigènes qui ne sont présents qu'au niveau périphérique et ne sont pas présentés aux lymphocytes au niveau central. Les lymphocytes ne circulant que dans le sang, la rate ou les ganglions, si ils n'y rencontrent pas d'antigènes connus, ne réagiront pas.

L'anergie dépend quant à elle, des signaux entre le lymphocyte T et la cellule présentatrice d'antigènes. Pour que les lymphocytes T s'activent, il est nécessaire que le CMH et l'antigène interagissent avec le R_cT mais il faut également une interaction de molécules de co-stimulation présentes sur les deux cellules. En l'absence de cette seconde interaction, le lymphocyte T entre dans un état d'anergie où ce dernier ne réagit pas à la présence de l'antigène.

La délétion clonale périphérique intervient lorsqu'un lymphocyte T réagit avec un auto-antigène non encore rencontré au niveau des organes lymphoïdes centraux ou lors d'un dysfonctionnement dans la sélection centrale. Ce mécanisme fonctionne en libérant l'auto-antigène concerné en grande quantité. Cela va avoir pour conséquence d'activer tous les précurseurs lymphoïdes spécifiques de cet antigène et ensuite d'entraîner leur apoptose via le mécanisme d'AICD (Activation-Induced Cell Death). [50] Ce phénomène permet l'apoptose des lymphocytes T qui ont été au préalable activés. La présence de l'interleukine 2 est également nécessaire pour permettre cette apoptose. [55] L'AICD ne peut entraîner l'apoptose que chez les lymphocytes T ayant déjà été stimulé. Cette seconde stimulation du TCR (T-Cell Receptor) ne se fait qu'après le pic de réponse immunitaire. [55]

Enfin, la tolérance périphérique est beaucoup influencée par les lymphocytes Treg qui sont capables d'inactiver les lymphocytes T auto-réactifs. [50] Ces cellules, à la différence des lymphocytes T classiques, ne se multiplient pas après l'activation de leur TCR sauf en présence d'interleukine 2. [56] Ces cellules sont des lymphocytes T CD4⁺ (Lymphocytes T Auxiliaires (cluster de différenciation 4)) auxiliaires synthétisés dans le thymus comme les autres lymphocytes mais avec une affinité augmentée pour les CMH du soi. Pour réaliser cette action inhibitrice, les cellules Treg doivent avoir leur TCR activé préalablement par un antigène et doit aller au contact des cellules auto-réactives mais peuvent aussi agir via la sécrétion de cytokines régulant l'immunité comme l'Il 10 (Interleukine) et le TGF- β (Transforming Growth Factor beta). Par contre, une fois leur TCR activé, ces cellules inhibent tous les lymphocytes T quelque soit l'antigène. Les cellules Treg semblent aussi capables de limiter la sécrétion de cytokines, d'inhiber les lymphocytes T CD8⁺ (Lymphocyte T Cytotoxique (cluster de différenciation 8)), les lymphocytes B, les cellules NK (Natural Killer) ainsi que les cellules dendritiques. Les lymphocytes Treg sont principalement produits dans le thymus. [48], [56], [57]

Bactéries intestinales	Rôles	Effet
Bifidobactéries	Digestion/absorption des aliments, Stimule la fonction immunitaire, Synthèse de vitamines	+
Lactobacilles	Digestion/absorption des aliments, Stimule la fonction immunitaire	+
<i>Bacteroides</i>	Synthèse de vitamines, Putréfaction intestinale	+/-
Entérocoques <i>E. coli</i>	Inhibition de bactéries exogènes, Diarrhée/Constipation	+/-
Streptocoques	Stimule la fonction immunitaire, Production de précurseurs cancéreux	+/-
<i>Ps. aeruginosa</i> <i>Proteus sp.</i>	Putréfaction intestinale	-
Staphylocoques <i>Clostridium</i> <i>Veillonellae</i>	Production de précurseurs cancéreux	-

Adapté de Salminen et al. (1998); Guarner (2006).

Tableau 2: Rôles des principaux groupes bactériens dans le microbiote intestinal. (d'après la Thèse de Mélanie Gagnon : « Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactérienne et virale : analyses in vitro et études in vivo chez des modèles murins »)

Toutes les bactéries n'assurent pas les mêmes fonctions. Chaque bactérie, en fonction de ses capacités enzymatiques, agit sur différents aspects que ce soit par exemple sur la synthèse de vitamines ou l'absorption de certains aliments.

V. Généralités sur l'impact du microbiote sur le diabète et l'obésité

1 - Épidémiologie

A) Diabète

La prévalence du diabète en France était de l'ordre de 4,6% en 2011 soit plus de 3 millions de personnes. Ce triste score place le diabète dans les pathologies les plus courantes dans la population globale. [59] Dans d'autres pays, comme aux États-Unis, le diabète de type 2 touche 26 millions de personnes. [60] Malgré cela, la prévalence ne cesse d'augmenter ce qui explique qu'entre 2000 et 2011, celle-ci a augmentée de +5,4% par an en moyenne. La majorité des personnes présentant cette pathologie se trouve dans la tranche d'âge comprise entre 75 et 79 ans. Néanmoins, un important nombre d'autres facteurs fait varier également cette prévalence tels que le niveau socio-économique ou la catégorie socioprofessionnelle de la population considérée. Bien entendu, la prévalence n'est pas la seule à augmenter et en 2006, c'est 178000 personnes qui ont obtenu une ALD (Affection Longue Durée) pour un diabète ce qui correspond à une augmentation de +32% entre 2000 et 2006. Pour en terminer avec la France, on estime par ailleurs que 13 à 30% de la population diabétique ne serait pas diagnostiquée. [59]

Même si l'impact du diabète semble être très important dans les pays développés, 80% des décès causés par le diabète le sont dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. [61] Et, tous niveaux de développement confondus, les diabètes touchent, de part le monde, près de 347 millions de personnes. [5] Toujours au niveau mondial, on estime que 3,4 millions de décès ont eu lieu en 2004 des suites d'une hyperglycémie à jeun. [61] Le développement de cette maladie n'est pas près de régresser puisque l'incidence du diabète de type 1 augmente de 3 à 5% par an et touche particulièrement les enfants même lorsqu'aucune prédisposition génétique n'a été détectée. [4]

Les conséquences graves du diabète pourraient encore s'aggraver puisque l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) estime qu'en 2030, le diabète sera, dans

le monde, la septième cause de décès. [61] Différentes explications sont avancées pour expliquer cette recrudescence de patients diabétiques notamment le vieillissement de la population mais aussi et surtout les modifications du mode de vie entraînant l'augmentation de la prévalence de l'obésité. [59]

B) Obésité

Or, avec une augmentation moyenne de l'Indice de Masse Corporelle (IMC) de 0,4 à 0,5 kg/m² par décennie aux États-Unis, la prévalence de l'obésité ne vas pas cesser d'augmenter tout de suite. [16], [27] On observe même une augmentation de l'IMC de 1.4 kg/m² chez les hommes et de 1.9 kg/m² chez les femmes, par décennie dans certaines régions . [60]

Mais les États-Unis ne sont bien sur pas les seuls touchés. En effet, depuis 1992, l'IMC moyen ne cesse d'augmenter en France et ce indépendamment de l'âge de la population étudiée avec une augmentation entre 1992 et 2003 de la prévalence de l'obésité. Ce score était passé de 5 à 10% chez les hommes et de 6 à 10% chez les femmes. La quantité de la population française touchée par un surpoids suit la même évolution avec 35% des hommes et 21% des femmes atteints en 2003. [62]

Des estimations apportent un nombre d'adultes en surpoids ou obèses proche d'1,5 milliards dans le monde et, comme le diabète, cette pathologie n'épargne pas les enfants avec 42 millions d'enfants atteints de surpoids ou d'obésité. [44] Ainsi, en 2012, 3,5% des enfants présentaient une obésité et 4,5% un surpoids. [62]

De même que le diabète, la prévalence de l'obésité varie selon la catégorie de population étudiée et notamment en fonction des catégories socioprofessionnelles et socio-économiques. [62]

Malheureusement, l'obésité n'a pas que des conséquences sanitaires mais a également des conséquences économiques avec près de 7% des budgets alloués à la santé de consacrés à l'obésité, dans certains pays. [60]

2 - Importance du microbiote intestinal dans le développement du diabète et de l'obésité

Un certain nombre d'études ont été réalisées pour mettre en évidence l'importance et le mode d'action du microbiote intestinal dans le développement du diabète et de l'obésité. En voici quelques exemples.

Les souris axéniques (nées et élevées en condition stérile stricte, et exemptes de tout micro-organisme colonisateur) semblent protégées de l'obésité induite par un régime riche en graisse ainsi que contre les complications métaboliques qui en découlent telle que l'intolérance au glucose. Mais du fait que selon le régime suivi, la souris axénique puisse tout de même développer une obésité tend à faire penser que la pathologie est surtout le fait de l'interaction entre l'alimentation et le microbiote. [9] & [14]

La preuve de l'implication du microbiote intestinal dans le développement de l'obésité peut être remarquée chez des patients ayant subi une chirurgie bariatrique. En effet, lors de cette intervention, on court-circuite souvent le duodénum et au moins une partie du jéjunum entraînant une restriction alimentaire et une malabsorption. Chez ces patients, on observe alors une diminution des symptômes composant le syndrome métabolique.

De plus, le traitement d'enfants par des antibiotiques augmente très souvent leur poids.

Par ailleurs, l'éradication d'*Helicobacter pylori* par des antibiotiques dans une population africaine entraîne une diminution des niveaux de cholestérol alors que le même traitement dans une population américaine a entraîné une prise de poids et une absence de modification du taux de cholestérol. [44] Or, la principale différence réside dans leur microbiote.

Le transfert du microbiote d'une souris présentant une obésité génétique (ob/ob, présentant une déficience en leptine) ou nutritionnelle vers une souris axénique, transfère également la maladie d'où la conclusion que le microbiote joue un rôle important dans le métabolisme énergétique.

On observe en effet, après le transfert, une augmentation du stockage des nutriments et non leur oxydation. Des études sur des rongeurs, notamment sur des souris diabétiques non obèses, ont montré qu'une absence de bactéries dans l'intestin augmente l'incidence du diabète de type 1 tandis que la présence d'infections et de composants bactériens diminuait celle-ci. [30]

D'autres études, toujours réalisées sur des patients obèses, ayant subi la pose d'un by-pass gastrique montre que le rapport *Bacteroides/Prevotella* est plus faible chez les patients obèses que chez les patients avec un poids normal et était proportionnel à la corpulence. L'hypothèse selon laquelle l'effet anti-inflammatoire de la chirurgie était due à la présence de *Faecalibacterium prausnitzii* a aussi été avancée. En effet, leur nombre était très bas chez les patients souffrant d'un diabète de type 2 associé à une obésité et augmentait après chirurgie. [30] Ces bactéries, ainsi que *Roseburia intestinalis* et *Bacteroides uniformis* sont capables de produire du butyrate. [26] Les Bifidobactéries semblent également diminuées chez le nourrisson qui souffrira, par la suite, lors de son adolescence, d'obésité. [30]

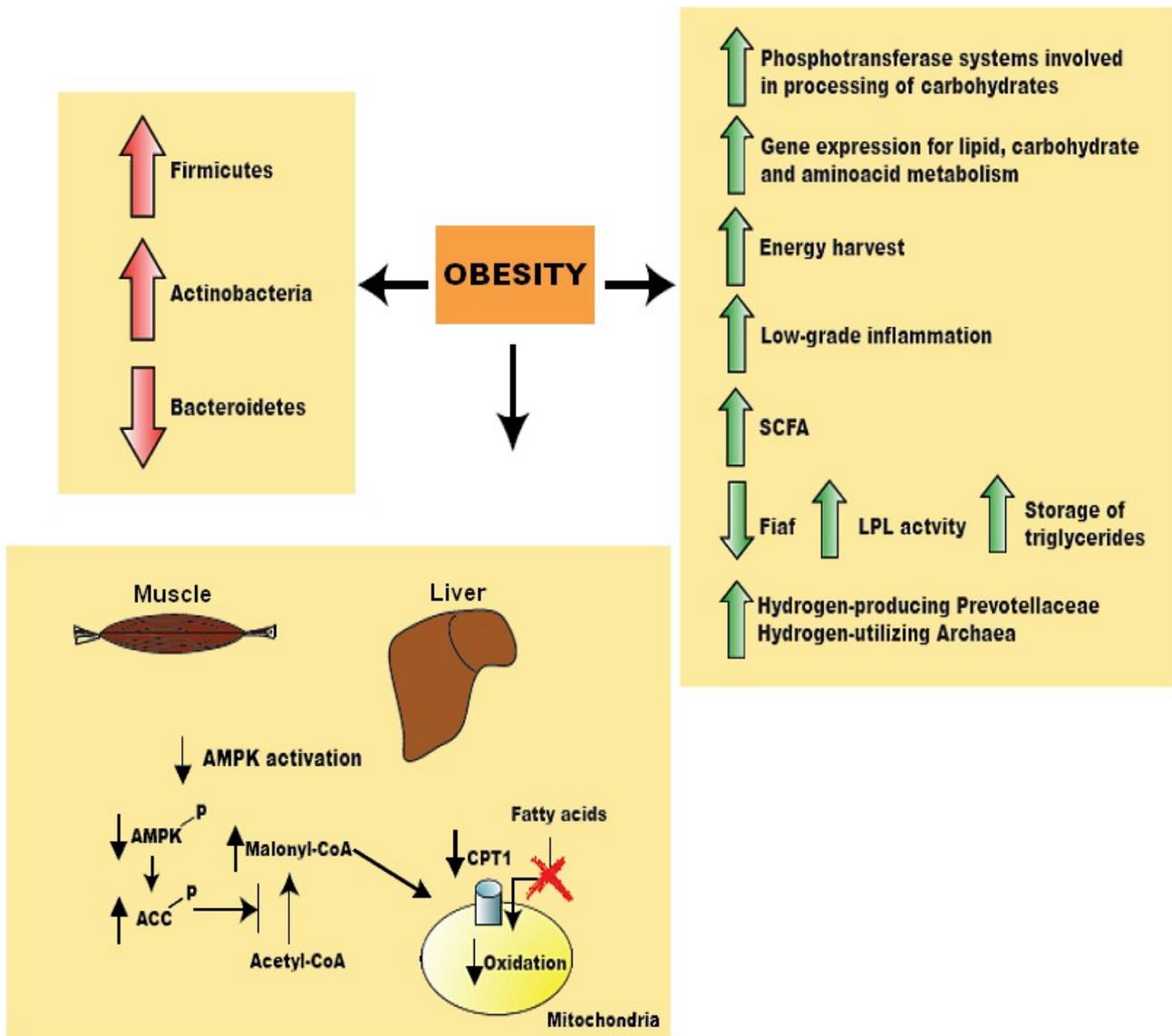


Illustration 9: Les différentes conséquences de l'obésité. (d'après :A. Caricilli and M. Saad, "11-The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance," *Nutrients*, vol. 5, no. 3, pp. 829–851, Mar. 2013)

L'obésité modifie la composition du microbiote intestinal avec l'augmentation des Firmicutes et des Actinobactéries associée à une diminution des Bacteroidetes. Ces modifications se traduisent par une inflammation de bas grade, des modifications dans le fonctionnement de plusieurs enzymes et dans l'expression de certains gènes conduisant à une augmentation du stockage des graisses mais aussi du rendement énergétique.

3 - Définitions et causes

A) Définitions et causes du diabète

Le diabète, quelque soit son type, est défini comme une augmentation de la concentration en sucre dans le sang. [61] Son diagnostic est en effet posé devant une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l (soit 7 mmol/l) lors de deux prélèvements distincts ou par une glycémie supérieure à 2 g/l (soit 11,1 mmol/l) à n'importe quel moment de la journée ou suite à une HGPO (Hyper Glycémie Per Os). [63]

Cette pathologie peut survenir lorsque le pancréas ne synthétise plus suffisamment d'insuline ou lorsque l'organisme ne parvient pas à utiliser correctement l'insuline. [61]

Les deux principaux types de diabètes sont le diabète de type 1 et celui de type 2.

Le diabète de type 1 (appelé également diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile) fait suite à une production insuffisante d'insuline à cause de la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas. [4], [61] Les premiers signes apparaissent lorsque près de 80% des cellules bêta des îlots de Langerhans ont été détruits. [64]

Le diabète de type 2 (connu également sous le nom de diabète non insulino-dépendant ou de diabète adulte) résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. [61] Du fait de ce mauvais usage, les cellules bêta des îlots de Langerhans augmentent leur production d'insuline et lorsque cette augmentation ne suffit plus à réguler le niveau de la glycémie, apparaît la résistance à l'insuline et ensuite le diabète de type 2. [65] Le diabète de type 2 est le plus courant et représente 90% des diabètes de part le monde. Ce diabète fait souvent suite à de mauvaises habitudes hygiéno-diététiques. [61] D'ailleurs, l'obésité semblerait être la première cause de diabète de type 2. [65]

Le diabète de type 1 a un début brutal et est caractérisé par une polyurie, une polydipsie ainsi qu'une fatigue et une polyphagie. Il touche principalement des sujets jeunes (d'où son nom de diabète juvénile), maigres et sans antécédents familiaux de diabète.

À l'inverse, le diabète de type 2, bien que pouvant présenter les mêmes signes, est un diabète touchant préférentiellement des sujets plus âgés, avec de mauvaises habitudes alimentaires et une sédentarité importante. Par ailleurs, son diagnostic est plus tardif puisque l'évolution de la maladie est plus lente et insidieuse avec des symptômes beaucoup moins marqués. Malgré son ancien nom de diabète adulte, il est de plus en plus rencontré chez des sujets jeunes. À l'opposé du diabète de type 1, le diabète de type 2 est fréquemment rencontré chez plusieurs membres d'une même famille. [4], [61], [66]

Cette destruction (dans le diabète de type 1) a une origine inflammatoire et bien que l'origine de cette maladie ne soit pas encore parfaitement connue, il semblerait qu'en plus d'être liée à des facteurs génétiques et environnementaux, cette pathologie puisse également être liée à l'intervention de bactéries notamment lors d'infections. Le microbiote intestinal interviendrait notamment en lésant l'épithélium intestinal. [4]

B) Définition et causes de l'obésité

Le surpoids et l'obésité sont caractérisés par l'OMS comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui peut nuire à la santé. Pour pouvoir mesurer ce paramètre, on utilise l'IMC qui correspond au rapport du poids en kilogrammes sur la taille au carré en mètres. Grâce à cet indice, l'OMS a défini des seuils pour pouvoir évaluer le surpoids et l'obésité. Ainsi, un IMC égal ou supérieur à 25 correspond à un surpoids et un IMC égal ou supérieur à 30 correspond à une obésité. [67] D'autres précisions concernant l'IMC viennent détailler ces valeurs. La valeur cible de l'IMC est entre 18,5 et 25. Entre 16,5 et 18,5, le patient se trouve dans un état de maigreur et en dénutrition lorsque l'IMC atteint une valeur inférieure à 16,5. Différentes gravités dans l'obésité sont également définis. Ainsi, entre 30 et 35, le patient se trouve dans un état d'obésité modérée. Entre 35 et 40, il a une obésité sévère et au delà de 40, il a une obésité massive. [68] Cette mesure

relativement simple n'est pas la seule pouvant être utilisée pour évaluer l'excès de poids mais elle a l'avantage de se calculer de la même manière quelque soit le sexe ou l'âge et ne demande que des valeurs que l'on peut facilement obtenir d'un patient. Par contre, elle ne prend pas en compte la différence de la masse musculaire d'un individu à l'autre donc, pour un même IMC, le degré d'adiposité n'est pas forcément le même. [67]

Une autre possibilité pour évaluer l'obésité est de mesurer le tour de taille. Indépendamment de l'IMC, une augmentation de cette valeur augmente le risque pour le patient de développer un diabète ou d'avoir des complications cardiovasculaires. [68] La mesure du tour de taille permet surtout d'évaluer l'obésité abdominale. Les valeurs définissant cette dernière varient selon les différentes ethnies. Ainsi, chez les Caucasiens, on parle d'obésité abdominale chez l'homme pour des valeurs supérieures ou égales à 102 centimètres et chez la femme à partir de 88 centimètres. [69]

On peut par ailleurs également évaluer le niveau de masse grasse présente par la mesure de l'épaisseur des plis cutanés, par l'impédancemétrie ou par le rapport entre le tour de taille et le tour de hanche. [69]

L'obésité est rarement isolée et est souvent associée au développement d'un syndrome métabolique avec une résistance à l'insuline, un diabète de type 2, une augmentation des taux sériques en lipides, ainsi que des maladies hépatiques, de l'athérosclérose et de l'hypertension. Les principales causes restent néanmoins l'alimentation trop riche et la trop faible activité physique. [44]

L'obésité est caractérisée par une inflammation chronique de faible intensité qui a des effets sur l'activité de l'insuline et le métabolisme des tissus aboutissant à des dérèglements de l'homéostasie du glucose. [60]

Les causes de l'obésité sont principalement liées à une modification du mode de vie alliant notamment une mauvaise alimentation et une sédentarité. En effet, on observe dans la population générale une augmentation de la consommation d'aliments riches en graisses et un manque d'activité physique en partie dû à une sédentarité de plus en plus importante en particulier au travail mais aussi à cause du

développement de nouvelles technologies comme par exemple les modes de transport. Cela entraîne un déséquilibre énergétique entre les calories consommées et celles dépensées.

4 - Conséquences pour la santé

A) Du diabète

Au fur et à mesure que la maladie diabétique se développe, un certain nombre de complications apparaissent.

Le diabète, via l'augmentation de la glycémie, aggrave ainsi le risque cardiovasculaire en favorisant la formation des plaques d'athérome au niveau des parois internes des artères. [70] Le risque qui s'en suit est le développement d'une cardiopathie ou d'un accident vasculaire cérébral. On estime d'ailleurs que 50% des patients diabétiques décèdent des suites d'une maladie cardiovasculaire. [61]

La neuropathie diabétique est une des principales conséquences du diabète. L'hyperglycémie permanente entraîne une altération de la conduction nerveuse dont les symptômes peuvent varier en fonction du nerf touché. Il peut être observé des diarrhées ou une constipation, un mauvais contrôle de la vessie et de la miction, des troubles du rythme cardiaque et de la pression artérielle accompagnés d'hypotension orthostatique mais également des troubles de l'érection et une impuissance. [70] On estime par exemple que 10 à 15% de la population masculine souffre de dysfonctions érectiles et parmi ceux-ci, 30 à 50% seraient diabétiques et ce trouble, en plus de l'impact que peut avoir à elle seule une pathologie chronique telle que le diabète, augmente le risque de développer une dépression. [70]

Néanmoins, un des signes les plus fréquemment rencontré, touche les pieds du patient. Cette atteinte augmente le risque d'ulcères et d'infections qui, si ils ne sont pas pris en charge à temps, peuvent nécessiter une amputation. [61] Ces ulcérations portent le nom de mal perforant plantaire. [70] Par ailleurs, l'artérite touchant les vaisseaux au niveau du pied va entraîner une ischémie qui va être à l'origine d'un ralentissement dans la cicatrisation des plaies. [70]

Malheureusement, dans un certain nombre de cas, l'évolution de la neuropathie diabétique est silencieuse puisqu'en altérant la conduction nerveuse, elle peut diminuer la sensibilité à la douleur ou au contraire fortement l'augmenter. [70]

On estime que 10% des diabétiques courent le risque de se faire amputer. Chaque année en France, 10000 amputations sont imputées à une neuropathie diabétique. [70]

Une des autres complication fréquente du diabète est la rétinopathie diabétique. L'hyperglycémie fragilise la paroi des capillaires situés au niveau de la rétine et, au fur et à mesure du développement de cette rétinopathie, de moins en moins de cellules de la rétine sont oxygénées jusqu'à finalement atteindre la macula où va alors se produire un œdème maculaire à l'origine d'une baisse de l'acuité visuelle. [70] La rétinopathie diabétique est responsable de 1% des cécités de par le monde. [61] En plus de pouvoir entraîner des troubles visuels pouvant aller jusqu'à la cécité, la rétinopathie diabétique augmente le risque de survenue d'autres affections ophtalmiques potentiellement graves tels que glaucomes et cataractes. [70]

Ensuite, le diabète est une des principales cause d'insuffisance rénale avec une détérioration de la fonction rénale pouvant aller jusqu'à la dialyse. [28], [36]

Enfin, par l'augmentation des concentrations sériques en glucose, le sujet diabétique est d'avantage sujet aux infections bactériennes que le sujet sain aussi bien au niveau du pied (gangrène) qu'au niveau génital ou buccal avec un nombre plus important de caries dentaires, de gingivites et de parodontites. [70]

B) De l'obésité

L'obésité, pour sa part, est également une importante cause de troubles pour l'organisme. Outre le fait qu'elle participe au développement de maladies cardiovasculaires (cardiopathies et accidents vasculaires cérébraux) et du diabète, elle joue également un rôle important dans l'apparition de certaines atteintes musculo-squelettiques comme l'arthrose et certains cancers. [67]

L'explication la plus évidente est que l'obésité, par l'augmentation du poids corporel, entraîne une destruction cartilagineuse et ligamentaire. [71]

L'obésité se retrouve dans une population de plus en plus jeune et peut avoir de graves conséquences chez l'enfant comme des difficultés respiratoires et également des troubles psychologiques. [67] Parmi ces troubles, on notera une augmentation de l'incidence d'une anxiété mais aussi de dépression avec risque suicidaire. [72]

5 - Des changements dans le microbiote

Les patients présentant un diabète de type 2 ont dans leur microbiote une augmentation de certains germes opportunistes tels que *Clostridium* spp. mais aussi de bactéries naturellement présentes comme *Akkermansia muciniphilia*, *Bacteroides* spp. et *Desulfovibrio* spp. [26]

Même chez les enfants, on observe des différences entre ceux touchés par le diabète et ceux qui ne le sont pas. En effet, les enfants diabétiques montrent une augmentation des Firmicutes et une diminution des Bactéroïdètes par rapport à leurs homologues sains. En y regardant de plus près, plus de 20% de la différence chez les Bactéroïdètes provient de *Bacteroides ovatus* alors que chez les Firmicutes, la variation vient principalement de l'ordre des Clostridiales notamment la souche bactérienne C019. [4] Dans certaines expériences menées chez le rat, on observait également une diminution des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. [73] Une autre variation observée est l'augmentation des Actinobactéries. [26]

De plus, un traitement antibiotique chez des patients diabétiques entraîne des changements dans la composition du microbiote intestinal et améliore la pathologie. [73]

En plus de ces variations dans les proportions des différents phylas, les personnes diabétiques ont une plus faible diversité bactérienne que les personnes saines. Cette diminution du nombre d'espèces bactériennes expliquerait également

l'augmentation de la perméabilité de la muqueuse intestinale et l'altération de la réponse immunitaire intestinale propices au développement du diabète. On observe également chez ces patients d'avantage de bactéries opportunistes. [5]

Chez les patients obèses, on observe une concordance de plusieurs étiologies en particulier génétiques et environnementales. On retrouve néanmoins les mêmes signes que chez les diabétiques concernant le microbiote intestinal à savoir l'augmentation de la proportion des Firmicutes et par voie de conséquence la diminution de celle des Bactéroïdètes qui est associée à une augmentation de l'extraction énergétique de l'alimentation.[32]

L'état inflammatoire que peut entraîner ces pathologies modifie la composition du microbiote intestinal et ce dernier stimule l'inflammation. Ainsi, chez les rats infectés par le virus KRV (Kilham's Rat Virus), on observe une augmentation du genre *Clostridium*. Ces variations seraient liées à l'effet pro-inflammatoire du virus au niveau des plaques de Peyer et des autres organes lymphoïdes. Par contre, lorsqu'on traite les rats par les antibiotiques triméthoprime et sulfaméthoxazole la destruction des îlots de Langerhans n'a pas lieu. [4]

Ces variations, observées initialement chez la souris, ont été confirmées chez l'Homme par la suite. Ainsi, lors d'un régime strict, mené pendant au moins un an, un taux de Firmicutes comparable à celui retrouvé chez la personne mince est obtenu. [8]

Néanmoins, rien n'est irréversible et des modifications dans le microbiote pourraient être positives dans l'évolution de la maladie même chez les personnes touchées par le diabète ou l'obésité. Ainsi, chez des rats présentant une forme de diabète de type 1, ceux-ci présentent dans leur fèces des *Lactobacillus* tels que *L. johnsonii* et *L. reuteri* qui sont négativement corrélés avec la progression de la pathologie, éventuellement via la modulation des protéines de la muqueuse intestinale et via un stress oxydatif entraînant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que l'INF- γ (Interféron γ (gamma)). [32]

Néanmoins, la solution ne réside pas dans l'éradication de tout microbiote intestinal mais bien dans sa modulation.

En effet des rongeurs ne possédant aucun microbiote intestinal doivent augmenter de 30% leur consommation alimentaire pour pouvoir maintenir leur IMC par rapport aux mêmes rongeurs pourvus de microbiote.

Les changements dans le microbiote intestinal après un régime sont la conséquence de la perte de poids et non de la diminution calorique de l'alimentation. [74]

C'est pourquoi après une perte de poids, une augmentation des Bactéroidetes ainsi qu'une diminution des Firmicutes sont observées. [32]

Les souris n'exprimant pas la leptine (ob/ob) ont une augmentation du rapport Firmicutes/Bactéroidetes et on observe en particulier une importante baisse de *Akkermansia muciniphila* chez les souris obèses ou diabétiques et des traitements visant à rétablir leur taux permet de lutter contre le développement de l'obésité et l'apparition d'une hyperglycémie. [44]

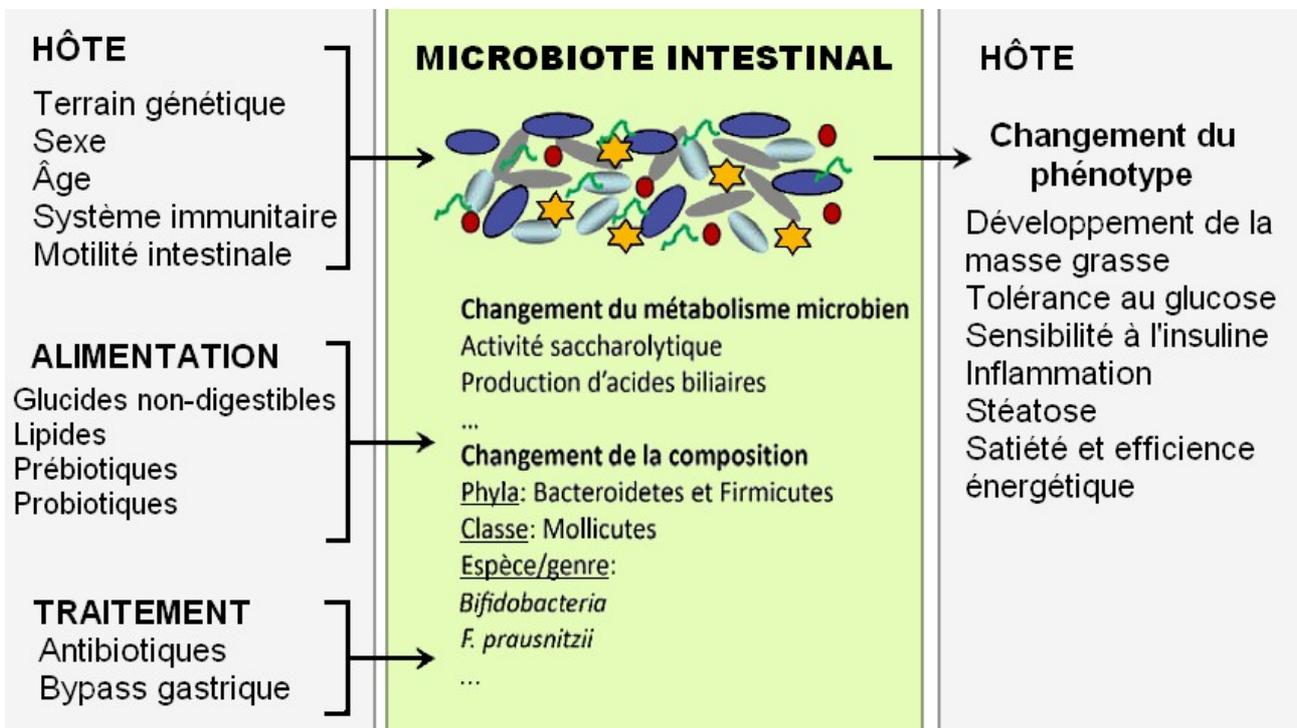


Illustration 10: Les facteurs de changement du microbiote et ses conséquences. (d'après : N. M. Delzenne, A. M. Neyrinck, and P. D. Cani, "Implication du microbiote intestinal dans l'obésité et les pathologies associées: quelles perspectives thérapeutiques et nutritionnelles ?")

Parmi ces facteurs, l'alimentation et les traitements sont ceux qui peuvent être modifiés le plus facilement à l'inverse du terrain de l'hôte.

Les conséquences de ces modifications dans le microbiote intestinal s'expliquent notamment par le fait que les Bacteroidetes ont un plus fort taux de phosphotransférases qui sont impliquées dans le métabolisme des glucides tandis que les Firmicutes sont riches en protéines de transport. Les principaux gènes se trouvant à l'origine de l'obésité semblent provenir des Actinobactéries et des Firmicutes alors que les gènes permettant de maintenir un poids faible proviennent des Bactéroidetes. La plupart de ces gènes étant impliqués dans le métabolisme des sucres, des lipides ou des protéines. Ces modifications dans les différentes proportions entre les phyla sont associées à l'augmentation dans le rendement énergétique et dans le développement d'une inflammation de bas-grade. L'augmentation du rendement énergétique est observée chez des souris possédant d'avantage de Firmicutes et moins de Bactéroidetes à cause de la présence d'enzymes clivant les polysaccharides que l'hôte ne peut pas digérer. Cela entraîne une plus grande production de produits finaux de la fermentation et en particulier les SCFAs (Short-Chain Fatty Acids). [4]

**PARTIE 2 – Les différents mécanismes
avancés pour expliquer l'impact du
microbiote intestinal**

I. Importance de l'état inflammatoire

Des études ont montré que l'emploi d'antibiotiques permettait de prévenir le développement de la résistance à l'insuline et la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans chez des rats où le diabète est induit par un virus. [64] Le virus inoculé est le parvovirus KRV. [4] Le virus KRV agirait en stimulant le système immunitaire inné, en poussant les cellules dendritiques et les lymphocytes B à produire des cytokines pro-inflammatoires via un mécanisme impliquant le TLR-9. [73] Le TLR-9 est retrouvé dans les endosomes et les lysosomes de certaines cellules de l'hôte comme les cellules dendritiques, les macrophages et les cellules épithéliales. Le TLR-9 a la capacité de reconnaître des acides nucléiques de nombreux pathogènes. [75] En effet, l'utilisation de chloroquine, antagoniste du TLR-9, prévient la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans. L'importance du rôle de l'immunité innée se confirme lorsqu'on inocule le virus suite à un court traitement par Acide Polyinosinique-Polycytidylique (poly I:C), un immunostimulant agoniste du TLR-3 et du MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5). La destruction des îlots de Langerhans est alors quasiment systématique. [73] TLR-3 est une glycoprotéine transmembranaire se liant spécifiquement aux fragments d'ARN doubles brins alors que MDA-5 est un récepteur capable de reconnaître les ARN viraux. [76], [77]

Néanmoins, le système immunitaire ne peut pas être seul responsable de cette destruction puisque lorsque l'immunostimulant est administré seul, c'est-à-dire, sans le virus, aucune destruction n'est constatée. De plus, il semblerait qu'une administration de poly I:C à des doses cent fois inférieures aux doses utilisées précédemment ait des propriétés préventives vis-a-vis du développement du diabète en interférant avec la fabrication de l'insuline. [4]

Par ailleurs, les patients diabétiques semblent avoir une plus grande proportion de lymphocytes T CD4+ et CD8+. [64] Classiquement, l'activation des lymphocytes T CD8+ passe par la présentation à ces derniers d'un antigène par des cellules présentatrices d'antigènes via un CMH de classe I. Pour ce faire, on a internalisation d'antigènes qui correspondent à des peptides grâce à des

phagocytoses ou des pinocytoses. Ces peptides vont subir une poly-ubiquitinylation c'est-à-dire la formation d'au moins quatre liaisons covalentes entre l'ubiquitine et des résidus lysine présents sur l'antigène. Ces derniers vont ensuite être reconnus puis dégradés par le protéasome. À la sortie de cette protéase, le peptide a été clivé en plusieurs fragments de quelques résidus. Les pompes TAP (Transporter Associated with Antigen Processing), qui sont des hétérodimères trans-membranaires, prennent ensuite en charge ces fragments (d'une longueur comprise en général entre 8 et 16 résidus) et grâce à l'hydrolyse de l'ATP (Adenosine Triphosphate) vont permettre leur fixation sur les CMH de classe I préalablement formés dans le réticulum endoplasmique et fixés aux pompes TAP grâce à une protéine chaperonne qu'est la tapasine. Le CMH I est ensuite amené à la surface de la cellule présentatrice d'antigènes avec son peptide antigénique. [78], [79]

Ensuite, le lymphocyte T CD8+ va se lier au CMH I via un récepteur qu'est le TCR. Cette interaction va activer des tyrosines kinases qui vont phosphoryler des enzymes comme la phospholipase C et l'activer. Cette dernière va alors cliver le PIP2 (Phosphatidylinositol-4,5-Diphosphate) en IP3 (Inositol Triphosphate) et DAG (Diacylglycérol). L'IP3 va alors augmenter la concentration intracellulaire en calcium en se fixant au récepteur endoplasmique RIP3 (Receptor-Interacting Protein Kinase 3). Cette variation dans la concentration calcique va être détectée et entraîner notamment une augmentation dans l'entrée de calcium dans la cellule depuis l'extérieur. Cette augmentation va permettre d'activer en particulier la calcineurine à l'origine de la déphosphorylation du facteur NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cells) ce qui va entraîner sa translocation nucléaire et l'activation de gènes. Au final, on va avoir synthèse de perforines qui vont pouvoir former une ouverture dans la cellule cible et introduction de granzymes dans ces orifices pour entraîner la destruction cellulaire. [80]

Cela ne signifie pas que le microbiote intestinal n'est que nocif. En effet, des études réalisées sur des souris dépourvues de microbiote ont montré que ces dernières possédaient des anomalies dans leur système lymphoïde intestinal et dans la production d'anticorps. De plus, elles ont des lymphocytes Treg CD4+ CD25+ anormaux. [4]

II. Perméabilité intestinale

L'augmentation de la perméabilité intestinale est le principal facteur avancé pour expliquer le lien entre le microbiote intestinal et des pathologies comme le diabète ou l'obésité.

L'alimentation y joue bien sûr un rôle important. Ainsi, les composés à l'origine du diabète ne sont pas que les sucres mais aussi des protéines végétales. Par exemple, la gliadine, présente notamment dans le blé active l'immunité innée et augmente la perméabilité intestinale. [8]

Il semblerait également qu'une modification ou même un dysfonctionnement dans la croissance du microbiote soit propice à perturber la communication entre le microbiote et l'hôte et en conséquence, favorise le développement d'une inflammation chronique de l'intestin. Ainsi, pour éviter ces imprévus, l'organisme a mis au point un certain nombre de mécanismes, notamment en utilisant des PRRs (Pattern Recognition Receptors) comme des TLRs (Toll-like receptors) permettant de reconnaître les MAMPs (Microbial-Associated Molecular Patterns) exprimés par les bactéries. Ces interactions vont permettre la régulation du développement bactérien en stimulant la sécrétion de molécules anti-bactériennes et de chimiokines pouvant recruter par la suite des cellules immunitaires à l'origine de l'immunité innée. Cette augmentation de la perméabilité va permettre l'augmentation de la concentration sérique de LPS mais aussi des phénomènes comme le mimétisme moléculaire.

III. Fonctionnement normal et dysfonctionnement de la sensibilité à l'insuline

Pour fonctionner, l'insuline se lie aux récepteurs présents à la surface des cellules cibles ce qui entraîne la phosphorylation d'une tyrosine sur les substrats des récepteurs à l'insuline IRS-1 (Insulin Receptor Substrate) et IRS-2. Par la suite, ces derniers activent la PI3K (Phosphatidylinositol 3-Kinase) à l'origine de la production de PIP3 (Phosphatidylinositol Triphosphate) qui à son tour active l'Akt (Protéine Kinase B). L'Akt va pouvoir alors phosphoryler AS160 qui va permettre au transporteur du glucose GLUT4 (Glucose Transporter type 4) de migrer vers la membrane cellulaire pour faire entrer dans la cellule le glucose.

À l'inverse, lors d'une inflammation de bas grade qui caractérise les patients obèses et/ou diabétiques, on observe au niveau du tissu adipeux une augmentation de la sécrétion de TNF- α (Tumor Necrosis Factors alpha) mais aussi de MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) qui vont attirer les macrophages dans ce tissu. Une fois là, les macrophages activent la voie IKKB (Inhibitor of nuclear factor Kappa-B Kinase subunit Beta)/NF κ B (Nuclear Factor-kappa B) et JNK-AP1 (c-Jun N-Terminal Kinase-Activator Protein 1) ce qui aboutit à la sécrétion de TNF- α . Ce dernier va avoir également pour effet de diminuer la synthèse et le stockage des triglycérides mais aussi d'augmenter la lipolyse et donc d'augmenter la libération d'acides gras libres.

Les acides gras libérés dans le sang de cette manière ainsi que certaines cytokines vont agir sur d'autres cellules comme les hépatocytes ou les myocytes. Dans ces cellules, les acides gras libres vont être transformés en triglycérides à nouveau ou en céramide et vont alors être capables d'inhiber l'IRS-1 et l'Akt. Cette inhibition se fait par une action des triglycérides sur JNK (c-Jun N-terminal protein Kinase), IKKB, la protéine kinase C, mTORC1 (mammalian target of rapamycin) et P70S6K (Protéine Kinase Ribosomale p70 S6) qui aboutit à la phosphorylation d'IRS-1.

Quand l'ensemble de l'organisme est touché par ce phénomène, les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas sont alors très sollicitées et augmentent leur sécrétion d'insuline tant qu'elles y parviennent. [81]

IV. Le mimétisme moléculaire

La barrière intestinale est normalement composée d'une couche de mucus, de cellules capables de sécréter des IgA (Immunoglobuline A), de peptides antimicrobiens et enfin, d'une barrière épithéliale. [64]

Lorsque la barrière épithéliale tapissant l'intestin est lésée, il a été observé une augmentation des anticorps dirigés contre des antigènes présents dans la lumière du tube intestinal et cette augmentation est prédictive de l'apparition de maladies auto-immunes et inflammatoires. [8] En fait, cette augmentation de la perméabilité va entraîner une augmentation de l'absorption d'antigènes et ces derniers vont pouvoir stimuler des cellules présentatrices d'antigènes ce qui va pouvoir entraîner la production d'auto-anticorps si des antigènes avec une structure proche sont présents dans l'organisme. [6], [31]

On parle alors de « mimétisme moléculaire » c'est-à-dire qu'il existe une similitude entre des auto-antigènes et des antigènes étrangers à l'organisme. [4]

Cette perméabilité accrue a poussé les chercheurs à s'intéresser à son origine et on a alors découvert qu'avant même que le diabète ne se déclare, les patients diabétiques présentaient des anomalies au niveau de leur tight junctions suite à la diminution de l'expression de la zonuline. Ils avaient par ailleurs un espace intercellulaire au niveau de l'épithélium intestinal qui était plus important que des sujets sains. Un des exemple avancés de « mimétisme moléculaire » est la présence dans le lait de vache d'insuline bovine qui va sensibiliser les lymphocytes T à l'origine de la destruction des cellules pancréatiques. [64]

Le mécanisme de « mimétisme moléculaire » n'est pas le seul avancé pour expliquer l'apparition d'un diabète de type I et l'une des autres hypothèses met en avant le stress métabolique des cellules bêta. Depuis peu, cette pathologie est considérée comme la conséquence de troubles dans la réponse du système immunitaire chez des patients ayant des prédispositions génétiques. [8]

V. Le LPS (Lipopolysaccharide)

1 - Généralités

Le diabète de type 2 est classiquement présenté comme la conséquence d'un excès alimentaire chronique associé à une inactivité physique mais, est aussi lié à une inflammation chronique. L'inflammation peut être induite par différents facteurs comme le stress oxydatif, le stress du réticulum endoplasmique et le dépôt de fibres insolubles dans le pancréas ainsi que le dépôt de lipides ectopiques dans les muscles, le pancréas et le foie.

Lors d'une augmentation de la consommation de graisses, des changements dans le microbiote intestinal apparaissent comme une diminution des Bifidobactéries et des Eubactéries. [29] Cela équivaut à une augmentation du nombre de Gram- par rapport aux Gram+. [78]

Lorsqu'on observe cette inflammation chronique de bas grade, on remarque une augmentation des taux de TNF- α , d'Il-18 et d'Il-1 β ainsi que de d'autres cytokines pro-inflammatoires produites par les cellules immunitaires présentes dans le tissu adipeux, les muscles et le foie. En parallèle, l'augmentation de l'absorption de graisses entraîne l'activation du TNF- α et du NF κ B (Nuclear Factor-kappa B) dans l'iléon, même avant le développement de l'obésité ou du diabète. L'inflammation chronique systémique aurait donc une origine intestinale et en particulier liée au microbiote. D'ailleurs, un traitement par antibiotiques améliore les signes du syndrome métabolique. Cela entraîne une diminution du taux d'endotoxine dans le sang et donc une atténuation de l'inflammation qui en résulte normalement suite à une augmentation de la perméabilité intestinale. [44]

Pour confirmer le rôle essentiel du microbiote intestinal dans le développement de cette inflammation chronique, des études ont montré que de nombreuses variations étaient visibles dans le microbiote intestinal des patients diabétiques. Ces patients présentent également des troubles dans le fonctionnement de leurs hormones incrétinomimétiques GLP-1 et GIP (Gastric Inhibitory Polypeptide) qui ont pour rôle de diminuer le taux de glucose dans le sang et, pour la GLP-1, de diminuer la sécrétion de glucagon en plus. [82]

Ces modifications dans le microbiote sont à l'origine d'une augmentation de la concentration sérique en lipopolysaccharides (LPS), composant principal des bactéries à Gram négatif et qui a donc été retrouvé chez des patients obèses et diabétiques. [25] Cette augmentation, en plus d'avoir pour origine les modifications dans la composition du microbiote, est aggravée par une altération de la perméabilité intestinale. [83] Il a d'ailleurs été observé lors d'études ultérieures que lors d'un apport exogène de LPS, il y avait une augmentation de la résistance à l'insuline. [23]

2 - Définition du LPS

Le LPS est une grande molécule formée par un lipide et un polysaccharide. Il entraîne une forte réponse immunitaire destinée à protéger l'organisme des infections bactériennes. [60] Le LPS est composé de trois parties distinctes : le lipide A, le core et la chaîne O. Le lipide A est composé de deux glucosamines phosphorylés reliés par des liaisons bêta 1-6 et liés à des acides gras hydroxylés et non-hydroxylés. [35], [84] Ce composant permet d'ancrer le LPS dans la membrane bactérienne et va faire réagir notre système inflammatoire. Le core, lui, est directement attaché au lipide A et correspond à un oligosaccharide. [35] Il est composé de deux noyaux : le premier est relié au lipide A et est appelé core interne tandis que le second noyau, portant le nom de core externe est connecté à la chaîne O. Bien qu'on retrouve une structure similaire pour le core chez une même espèce, il est très variable entre deux espèces bactériennes différentes. [84] Pour finir, on retrouve l'antigène O qui varie selon les souches bactériennes considérées et joue également un rôle dans la réponse inflammatoire de notre organisme. [35] Il est

constitué de plusieurs motifs qui se répètent et qui possèdent un nombre variable de résidus glycosylés. [84]

Plusieurs possibilités ont été avancées pour expliquer l'augmentation du LPS dans le sang.

3 - LPS et système endocannabinoïde

Une des plus répandue fait état d'une augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale via un dysfonctionnement dans les « jonctions serrées » (ou tight-junctions) et faisant intervenir le système endocannabinoïde. [25] Ces atteintes vont toucher les protéines impliquées dans les « tight-junctions » à savoir l'occludine et la ZO-1 (Zonula Occludens). [29] Ces protéines créent normalement avec les cellules épithéliales une barrière séparant l'intestin et le microbiote intestinal du tissu péritonéal. [60] Il semblerait en effet que le microbiote intestinal soit capable de moduler la transcription de l'ARNm codant pour le récepteur CB1 (Cannabinoids) au niveau du colon. Pour arriver à cette conclusion, on a observé que des souris génétiquement obèses auxquelles on administre des prébiotiques voient leur transcription en ARNm du CB1 diminuer et on remarque également une diminution de l'expression de l'anandamide qui est le ligand naturel du récepteur CB1 par rapport à des souris obèses n'ayant pas subies l'administration de prébiotiques. À l'inverse, la transcription de la FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase), enzyme responsable de la dégradation de ce même ligand, est augmentée. Ces modifications ne touchent que le colon. Par contre, la concentration en 2-arachidonoylglycerol (2-AG), le ligand naturel du récepteur CB2 (Cannabinoids), n'a pas été modifiée malgré l'augmentation de l'expression de l'enzyme responsable de sa dégradation, la Monoacylglycerol Lipase (MGL). Pour confirmer ces observations, on a administré à des souris génétiquement obèses avec une altération de leur barrière intestinale et une inflammation de bas grade déjà présente, un antagoniste du récepteur CB1. Ces souris voyaient dès lors une diminution de la concentration plasmatique en LPS et une diminution de leur perméabilité intestinale. Ce blocage entraînait une modification de la distribution et de la localisation des protéines ZO-1 et occludine composant les « tight-junctions » et donc une augmentation de la

perméabilité intestinale. Des résultats inverses sont observés avec l'emploi d'un agoniste au récepteur CB1. [85]

Par ailleurs, au niveau de leur tissu adipeux, les souris obèses présentent une augmentation dans leur expression en N-acyl Phosphatidylethanolamine-Specific Phospholipase D (NAPE-PLD), une des enzymes impliquée dans la synthèse de l'anandamide donc une augmentation dans la synthèse de cette dernière. Cette même évolution a été également observée pour l'expression du récepteur CB-1. Comme pour confirmer cela, l'expression en FAAH se voyait, elle, diminuée. Lors d'usage de prébiotiques, les mêmes modifications qu'au niveau de l'intestin ont été observées.

Lors de la stimulation du récepteur CB-1, on observe une augmentation de l'expression des gènes codant pour la différenciation des adipocytes à savoir les facteurs PPAR- γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma), AP2 (adipocyte Protein 2) et C/EBP-alpha (CCAAT-Enhancer-Binding Protein) mais aussi ceux codant pour la lipogénèse comme SREBP-1C (Sterol Regulatory Element-Binding Proteins (SREBPs) 1C), ACC (Acetyl-CoA (Coenzyme A) Carboxylase) et FAS (Fatty Acid Synthase). En stimulant l'action du système endocannabinoïde au niveau adipeux, le LPS agirait alors au niveau du tissu adipeux en inhibant la lipogénèse et en diminuant la différenciation adipocytaire. [85] Le LPS agit de différentes façons. Il augmente ainsi la production d'endocannabinoïdes par les monocytes circulants, les macrophages et les cellules dendritiques mais diminue aussi leur dégradation. [86]

Par ailleurs, la stimulation du système endocannabinoïde entraîne au niveau des adipocytes une diminution de l'expression de l'adiponectine et une augmentation de l'expression de la visfatine. [87] L'adiponectine est une protéine de 247 acides aminés sécrétée uniquement par les adipocytes et qui améliore la sensibilité à l'insuline aussi bien au niveau musculaire qu'hépatique. Après fixation sur des récepteurs transmembranaires, elle stimule l'AMPK (Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase) qui va permettre l'augmentation de l'oxydation des acides gras et l'utilisation du glucose. La visfatine a plutôt un effet inverse à l'adiponectine. [88]

Par ailleurs, au niveau central, notamment au niveau de l'hypothalamus, la stimulation du système endocannabinoïde augmente la sensation de faim et l'appétit tout en jouant également sur la motilité intestinale. [87]

Système nerveux central	Tube digestif	Tissu adipeux	Foie
↑ Appétit ↑ Faim	↑ Ghréline ↓ Satiété ↓ Activité intestinale	↓ Adiponectine ↑ Visfatine ↑ Lipogenèse ↓ Lipolyse ↑ Inflammation ↑ Utilisation du glucose	↑ Lipogenèse ↑ Gluconéogenèse ↑ Stéatose

Tableau 3: Impacts du système endocannabinoïde (d'après : Zoltan Pataky, Elisabetta Bobbioni-Harsch, Anne Carpentier, Alain Golay, "Le système endocannabinoïde dans l'obésité")

Le système endocannabinoïde touche notamment le système nerveux central, le tube digestif, le tissu adipeux et le foie.

4 - Une alimentation trop riche

Une autre hypothèse évoque une fuite de LPS au travers des cellules épithéliales liée à une alimentation trop riche en graisse. Ainsi, on observe l'augmentation de la synthèse de chylomicrons lors d'un régime riche en graisse. [24] En effet, l'inhibition de la synthèse de chylomicrons bloque l'augmentation de l'endotoxémie. [60] Une fois internaliser, le LPS est conduit vers le Golgi où sont situés les chylomicrons nouvellement synthétisés avant leur excréation. Le LPS a une grande affinité pour les chylomicrons. Le LPS serait donc par la suite libéré avec les chylomicrons. [89]

5 - Augmentation de la perméabilité par l'altération des TLR-2

Une autre explication part du fait que les tight-junction sont altérées chez les souris obèses. Les tight-junction sont régulées par le TLR-2 dont dépend donc l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale. Une altération du TLR-2 entraîne des troubles de cette barrière liés à une inflammation de la muqueuse et les souris KO (Knock Out) pour le TLR-2 voient leur absorption de LPS augmentée à cause de la diminution de l'expression de la protéine zonula occludens (ZO)-1 au niveau de l'iléon ce qui augmente la perméabilité intestinale. Une augmentation de la présence de *Bifidobacterium* spp. est associée à une diminution de la perméabilité bactérienne avec une augmentation de l'expression des protéines des tight-junctions. D'ailleurs, chez les souris KO pour le TLR-2, on observe également une diminution de ce genre bactérien. Des études ont montré que la diminution de ce genre bactérien était la cause de la diminution de la synthèse des protéines des tight-junctions. Malgré cette augmentation du LPS, celle-ci est inférieure à celle observée en cas de septicémie ou d'infection. Elle est en effet plus basse de 10 à 50 fois par rapport à ces cas là. [4]

6 - Le transport cellulaire

Le LPS pourrait également passer par un transporteur transcellulaire au travers des cellules épithéliales de l'intestin notamment au travers des cellules M. [17] Ces cellules sont en effet perméables aux bactéries et aux macromolécules et ont pour rôle de livrer les pathogènes aux tissus lymphoïdes dans la paroi des intestins. [79]

Par ailleurs, les TLR présents à la surface apicale des entérocytes sont capables de lier puis d'internaliser l'endotoxine purifiée. Les TLR-4 peuvent ainsi internaliser les bactéries à Gram-. Ils servent d'intermédiaire à la phagocytose et à la translocation des bactéries à Gram-.

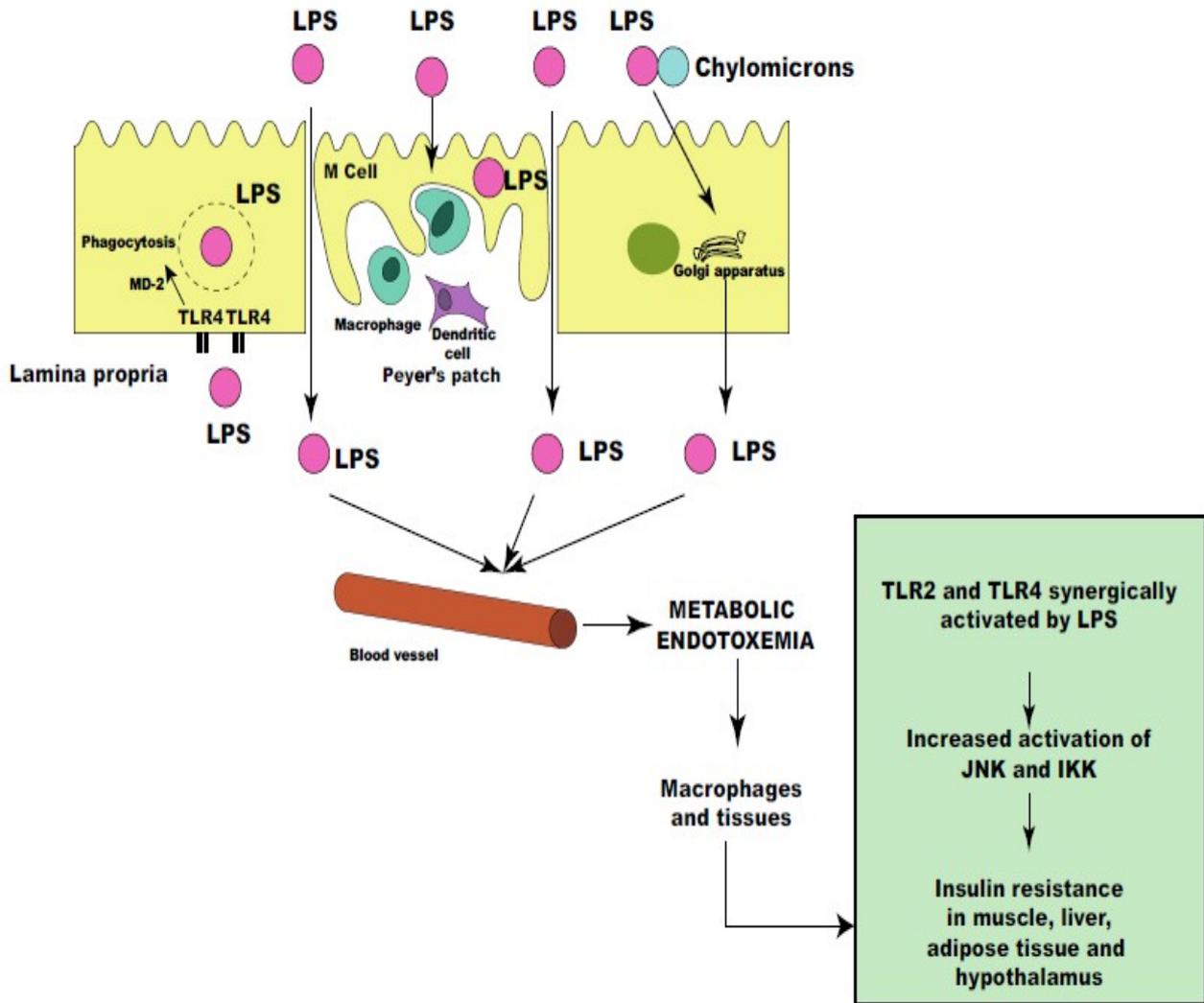


Illustration 11: La pénétration du LPS dans la circulation sanguine. (d'après :A. Caricilli and M. Saad, "The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance," *Nutrients*, vol. 5, no. 3, pp. 829–851, Mar. 2013)

Comme vu précédemment, le LPS peut donc pénétrer dans notre organisme via la phagocytose, en passant par l'espace intercellulaire, via les cellules M (Cellules Microfold) ou encore en étant incorporé dans les chylomicrons. Il est même probable que plusieurs facteurs soient impliqués. Dans tous les cas, cela conduit à une endotoxémie métabolique aboutissant à un état inflammatoire de bas grade avec, à terme, des conséquences sur le métabolisme et l'utilisation de l'insuline mais aussi des modifications au niveau des cellules adipeuses.

7 - Conséquences

A) Activité via le TLR

a) Mécanismes via le complexe CD-14/TLR-4

Dès lors, la perméabilité de l'épithélium intestinal va augmenter et permettre l'augmentation des concentrations en LPS. [29] Cette augmentation du LPS ne serait « que » multipliée par deux d'où le terme d'inflammation de bas grade. [30]

Des études sur des rongeurs auxquels on administre un régime riche en graisse entraîne bien sûr des dyslipidémies et une obésité qui sont associées à une résistance à l'insuline, mais également à une inflammation systémique et selon le rongeur, cela peut aboutir au développement d'un diabète de type 2. Ce régime entraîne au bout de quelques semaines une prolifération épithéliale au niveau de l'intestin entraînant une hypertrophie de l'iléon terminal qui va augmenter l'absorption de graisses et donc de LPS. Par la suite, malgré un retour à une alimentation normale, on observe le maintien de cette capacité d'absorption en graisse supérieure à la normale. Par ailleurs, lorsque la souris est obèse, on peut remarquer un raccourcissement de l'intestin grêle, apparaissant sûrement pour corriger l'obésité. [44]

Le LPS induirait la réponse innée de l'inflammation en se liant au complexe CD14 (Cluster of Differentiation 14)/TLR-4 présent à la surface de certaines cellules de l'immunité innée. [29] Le récepteur TLR-4 est retrouvé sur les macrophages, les cellules dendritiques, les adipocytes, les hépatocytes, les cellules musculaires et au niveau de l'hypothalamus. [83]

En effet, le LPS appartient à la catégorie des PAMP (Pathogen-Associated Molecular Pattern). [60] De ce fait, lors de la pénétration du LPS dans le sang, il se lie à des LBP (Lipopolysaccharide Binding Protein) et ce nouveau complexe formé va pouvoir se fixer sur le CD14. Une liaison s'établit ensuite entre le TLR-4 et le complexe CD14/LBP/LPS au niveau d'une séquence protéique riche en leucine au niveau du CD14. Cela induit à terme la synthèse de cytokines et notamment de TNF-alpha via l'activation du facteur NF-kB. [90]

b) Mécanismes via le complexe MD-2/TLR-4

L'augmentation du LPS pourrait entraîner une autre cascade passant par le Myeloid Differentiation factor-2 (MD-2). Cette protéine est composée de 160 acides aminés et est codée par le chromosome 8q21.11. Elle est présente sous forme libre dans les liquides biologiques et sous forme liée au TLR-4 mais alors, elle ne peut être qu'à l'état monomérique et joue dans ce cas un rôle important de co-facteur dans la réaction au LPS. En effet, le LPS ne se lie pas directement au récepteur TLR-4 mais à la protéine MD-2. Le LPS interagirait avec une poche hydrophobique de MD-2 tandis qu'une liaison hydrophobique se créerait avec TLR-4. [91]

Avant de fixer le LPS, MD-2 se lie avec le TLR-4. Pour cela, MD-2, en forme de coupelle interagit avec deux sites d'une région composées de structures riches en leucine (ou LRR (Leucine-Rich-Repeat)) en forme de fer à cheval. Ensuite seulement le lipide A du LPS peut interagir avec la poche hydrophobe de MD-2 qui va conduire ensuite à sa dimérisation avec des fixations à la fois au niveau de boucles appartenant à MD-2 mais aussi au niveau du TLR-4. [92]

Il a été trouvé dix TLR différents chez l'homme qui sont tous exprimés sous forme homodimériques à l'exception du TLR-2 qui forme des hétérodimères avec TLR-1 ou TLR-6. Le TLR pourra alors recruter via son domaine intracellulaire une molécule intracellulaire. Cette dernière peut varier selon les TLR : MyD88 (Myeloid Differentiation primary response gene 88), TIRAP (Toll/IL-1R domain-containing Adaptor Protein), TRIF (TIR-Domain-Containing Adapter-Inducing Interferon- β) ou TRAM (TRIF-Related Adaptor Molecule). Cette molécule va pouvoir à son tour activer d'autres enzymes et en particulier celles impliquées dans la réponse inflammatoire. [92]

c) Autres mécanismes

La résistance à l'insuline est liée également à deux mécanismes retrouvés au niveau du tissu adipeux. L'activation des TLR-4 par le LPS entraîne une augmentation de l'expression de cytokines, en particulier le TNF- α et l'IL-6 au niveau des préadipocytes, diminuant l'action de l'insuline. Le LPS peut également stimuler la production de iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase) qui peuvent interférer avec

les signaux transmis par l'insuline. L'effet des iNOS est d'ailleurs aggravé par les taux élevés en TNF- α et Il-6. L'augmentation de iNOS augmente également les niveaux d'acides gras circulants à cause de la diminution d'activité de la LPL (Lipoprotéine Lipase) et l'augmentation de la lipolyse. [4]

Le LPS est responsable d'une S-nitrosation/S-nitrosylation où le NO (Monoxyde d'azote) réagit avec des résidus cystéines pour former du S-nitrosothiol pouvant moduler des fonctions protéiques. Cette réaction se produit notamment avec l'insuline (IR (Insulin Receptor), IRS-1, et Akt) ce qui induit une résistance à l'insuline au niveau du foie, des muscles et du tissu adipeux. [60] On observe en effet une augmentation de la capture du glucose par les myocytes qui conduit à cette résistance. [35]

Le TLR-4 peut, en plus d'être activé par le LPS, l'être aussi par des acides gras saturés. Cette activation entraîne une augmentation des messages concourant à stimuler une inflammation et à entraîner une résistance à l'insuline comme par exemple la voie JNK. A l'inverse, l'absence de TLR-4 prévient la résistance à l'insuline. [4]

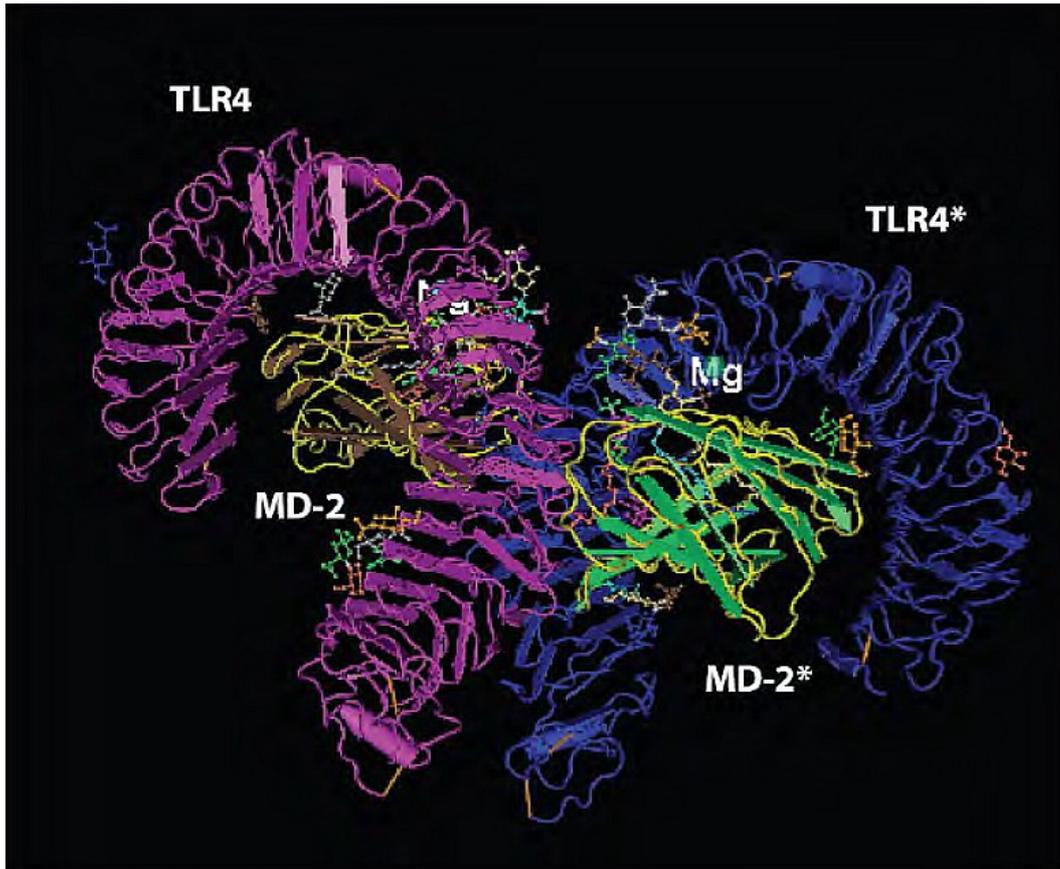


Illustration 12: Représentation de l'état dimérisé du complexe LPS:MD-2:TLR-4. (d'après : P. Tissières, "Rôle et régulation de MD-2, la protéine réceptrice de l'endotoxine bactérienne," University of Geneva, 2009)

d) Conséquences de la stimulation du TLR-4

Suite à la stimulation du TLR-4, on va observer une cascade de kinases qui va avoir pour résultat l'activation de facteurs de transcription et notamment entraîner la synthèse de cytokines pro-inflammatoires mais aussi de ROS (Reactive Oxygen Species). Ces produits appartiennent à la réaction du système immunitaire inné. Le TLR-4 est retrouvé dans de nombreux tissus et de nombreuses cellules comme le foie, le tissu adipeux, le muscle squelettique... Ainsi, l'activation du TLR-4 peut freiner l'action de l'insuline sur de nombreux organes. [93]

Lors de la stimulation du TLR-4 par le LPS, le récepteur active une voie passant par MyD88 et TIRAP qui vont activer les facteurs IKK (Complexe Inhibitor of kappaB), p38, JNK, CREB (C-AMP Response Element-Binding protein), AP2, et NfκB (nuclear factor-kappa B) et conduire à la synthèse de composés pro-inflammatoires. Mais, il peut activer également une autre voie, passant par TRAM et

TRIF amenant à synthétiser l'interféron de type 1 qui va lui aussi stimuler l'immunité innée. D'autres mécanismes peuvent intervenir comme l'inhibition de la phosphorylation d'une sérine sur IRS-1. [93]

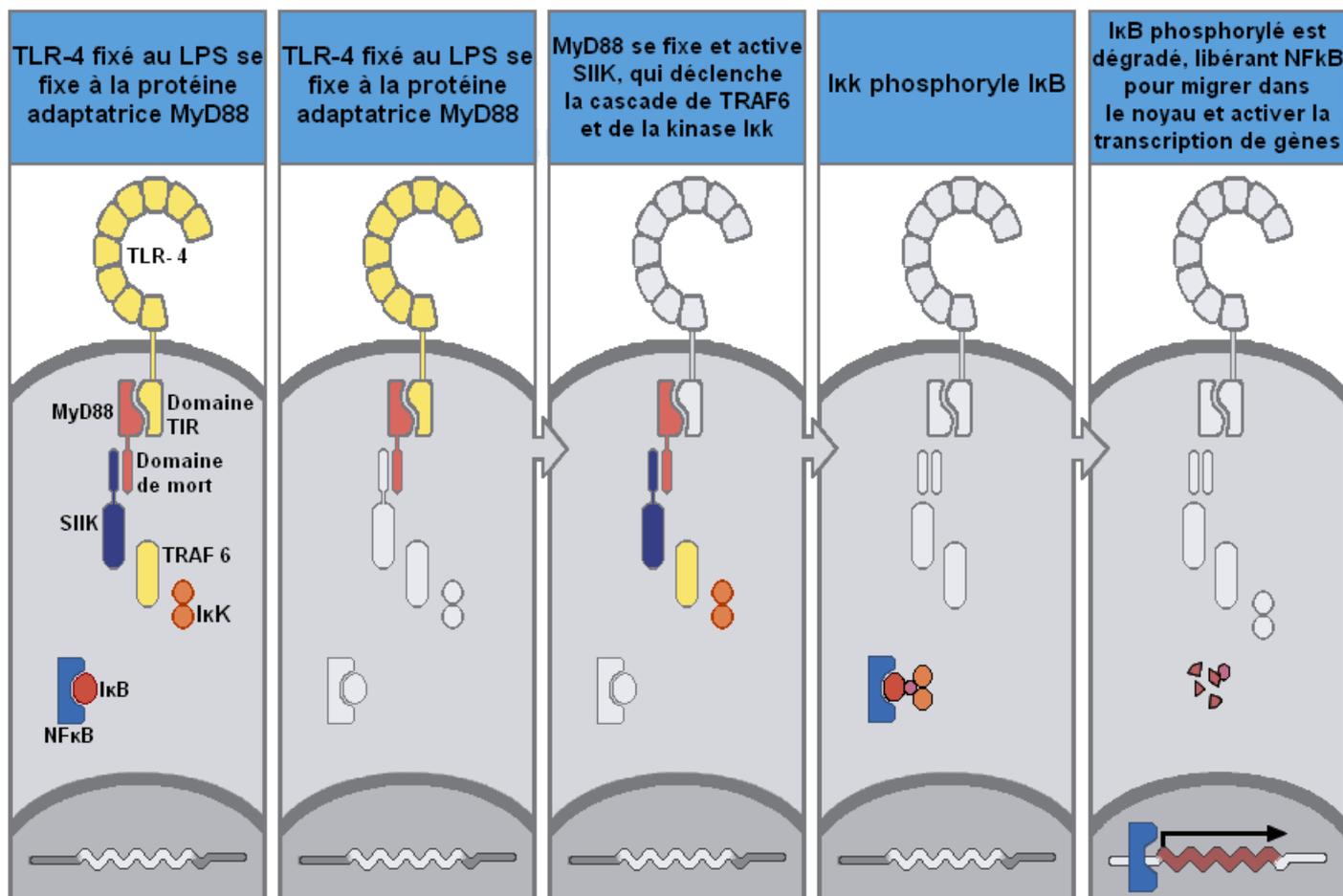


Illustration 13: Mode de fonctionnement du récepteur TLR-4. (d'après : "Obésité et arthrose : quels liens ?" Francis Berenbaum, Jérémie Sellam - Revue du Rhumatisme 75 (2008))

Suite à l'activation du TLR-4, ce dernier va recruter la protéine Myd88 qui va à son tour permettre le rapprochement d'IRAK-4 (Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase). En parallèle, le complexe Tollip/IRAK-1 vient se fixer sur Myd88 via le domaine de mort. A ce moment là, IRAK-4 va pouvoir phosphoryler IRAK-1 et l'activer ce qui va permettre son interaction avec TRAF-6 (TNF Receptor Associated Factor). TRAF-6 et IRAK-1 vont alors interagir avec un complexe membranaire composé de TAK1, TAB1 et TAB2 et vont les phosphoryler. Cette activation va permettre la translocation dans le cytosol de ce complexe avec TRAF-6. C'est à ce niveau que TRAF-6 subit une ubiquitination qui va permettre par la suite d'activer TAK-1 (Transforming Growth Factor β Activated Kinase 1). C'est TAK-1 qui phosphoryle le complexe IKK qui va pouvoir par la suite dégrader l'IκB par sa phosphorylation. Ainsi, NFκB (Nuclear Factor-kappa B), libéré, peut migrer dans le noyau où il interagit avec des promoteurs de gènes. [75]

Par ailleurs, le LPS est également responsable d'interactions avec les acides gras libres, surtout les saturés, ce qui va augmenter leur présence dans la circulation des patients obèses suite à l'augmentation de la lipolyse et à la lipogénèse *de novo* du foie. Les acides gras n'activent pas directement le TLR-4, c'est la protéine hépatique Fetuin-A (FetA) qui est le transporteur majoritaire des acides gras dans la circulation. Elle agit comme un ligand du TLR-4 qui va donc l'activer. [60] Outre le LPS, il semblerait que les acides gras, seuls, puissent également interagir avec le TLR-4 via la fetuin A ou via des DAMPs (Damage-Associated Molecular Pattern molecules) endogènes comme HMGB1 (High-Mobility Group Box 1) ou encore via la production de céramides. [83]

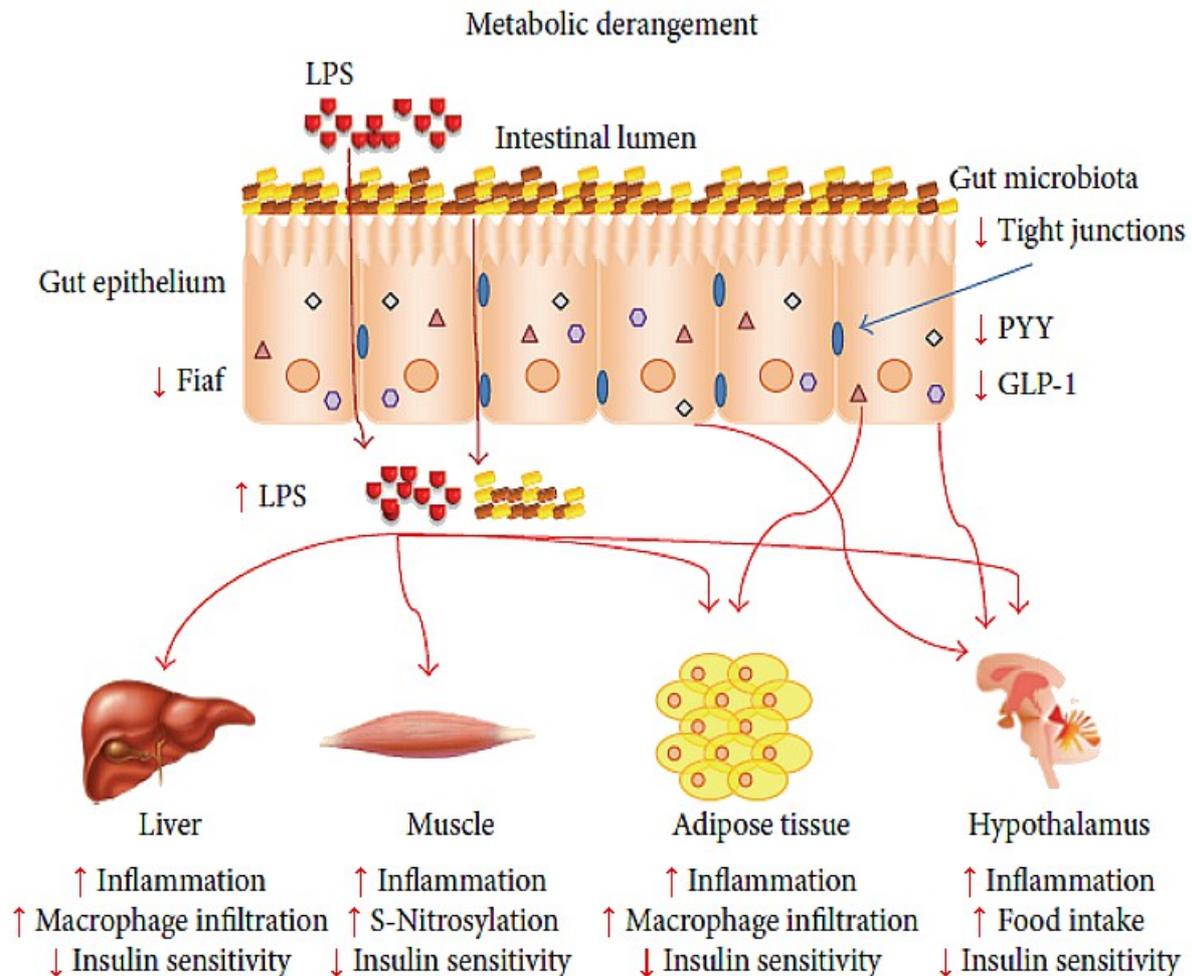


Illustration 14: Conséquences de l'augmentation de la concentration du LPS. (d'après :B. M. Carvalho and M. J. Abdalla Saad, "Influence of Gut Microbiota on Subclinical Inflammation and Insulin Resistance," *Mediators Inflamm*, vol. 2013, 2013)

On retrouve ici de manière plus détaillée les conséquences de l'inflammation de bas grade induite par le LPS. Son action se répercute sur plusieurs organes. On observe globalement une diminution de la sensibilité à l'insuline et une augmentation de l'état inflammatoire. On remarque néanmoins également que cela peut aussi entraîner une augmentation de l'appétit qui peut aggraver une obésité.

D'autres PAMPs mais aussi des Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) comme l'inflammasome interviennent également dans la régulation de l'intégrité intestinale. Leur activation est nécessaire au maintien de la fonction de barrière. L'inflammasome est un groupe de protéines qui reconnaît une large gamme de bactéries. Cela entraîne l'activation de la caspase-1 puis la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et enfin une mort cellulaire. L'inflammasome est également activé dans les macrophages suite à la présentation de LPS. L'activité inflammatoire du macrophage est ensuite régulée par l'activation du TLR et du NF κ B. [60]

La résistance à l'insuline est également aggravée par une sur-expression de facteurs pro-inflammatoires comme les cytokines TNF- α , l'Il-6 et l'Il-1 par les dépôts adipeux. Ainsi, le TNF- α induit la phosphorylation du substrat du récepteur de l'insuline IRS-1 sur des sérines conduisant à l'inactivation de la voie de signalisation de l'insuline. Cette résistance entraîne un hyperinsulinisme et favorise le stockage hépatique et adipocytaire du glucose sous forme de lipides. [74]

Bien que le TLR-4 reste le récepteur principal pour le LPS des entérobactéries, d'autres bactéries peuvent présenter un LPS qui diffère de par la structure de leur lipide A et qui vont donc avoir pour cible le TLR-2. On peut ainsi citer le LPS des bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Chlamidia trachomatis*, *Bacteroides fragilis*, *Legionella pneumophila*, *Leptospira interrogans* ou *Porphyromonas gingivalis*. Le récepteur TLR-2 peut être retrouvé sur certaines cellules de l'immunité mais aussi sur les cellules cibles de l'insuline et sur les îlots de Langerhans. [92]

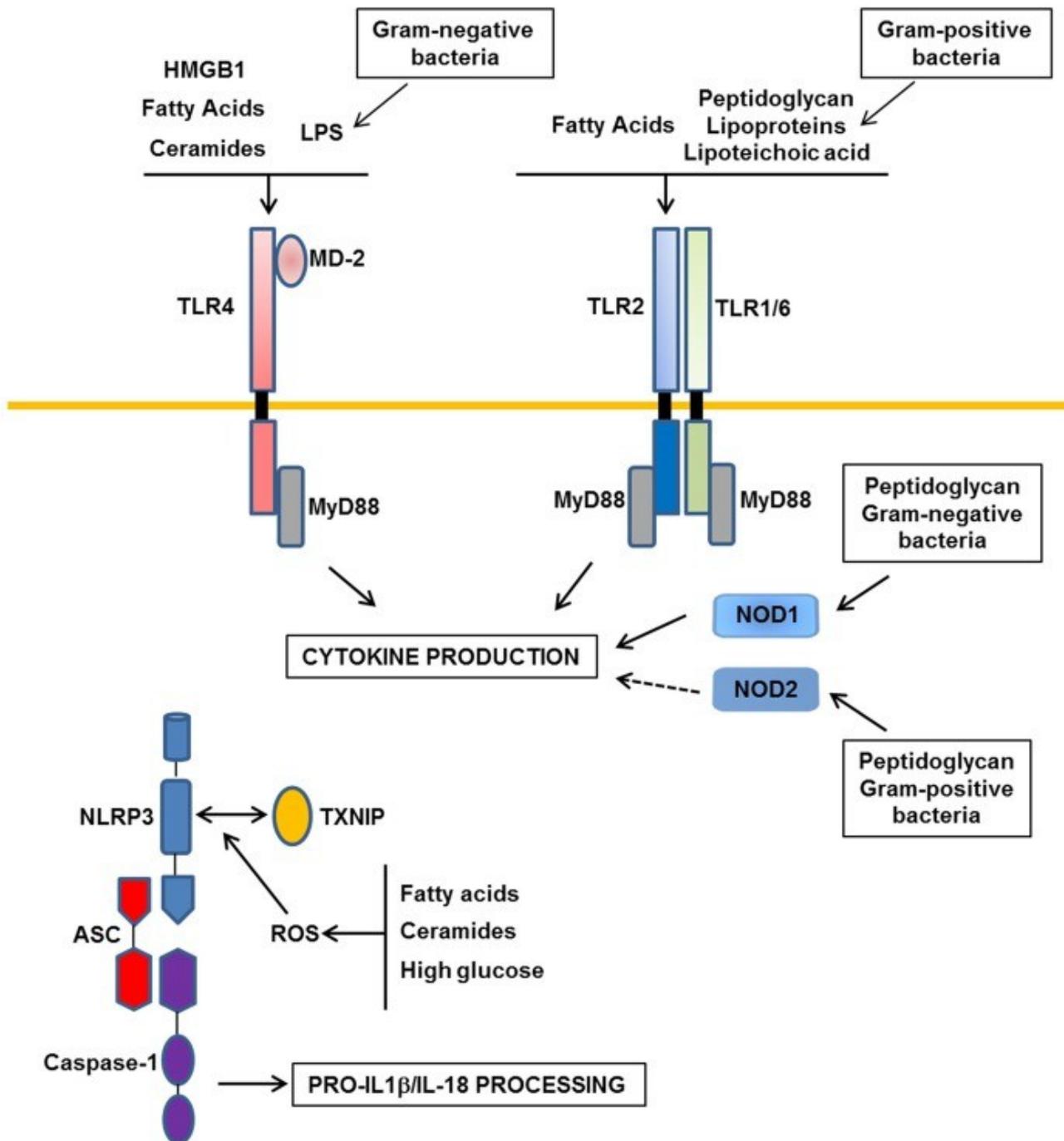


Illustration 15: Mode de fonctionnement des récepteurs TLR-4 et TLR-2. (d'après : J.-F. Tanti, F. Ceppo, J. Jager, and F. Berthou, "Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance")

Le LPS peut stimuler le TLR-4 alors que le TLR-2 et les protéines NOD (Nucleotide-binding Oligomerization Domain) sont principalement stimulés par le peptidoglycane et des lipoprotéines. D'autres ligands provenant de l'alimentation peuvent aussi stimuler le TLR-4. C'est le cas des acides gras saturés et de leurs métabolites comme le céramide. Cette activation via les acides gras peut également passer par la production de DAMPs comme l'HMGB1. Suite à cette stimulation, un certain nombre de gènes sont transcrits pour arriver à la production notamment d'IL1 bêta et d'IL18 dont la forme mature est obtenue par l'inflammasome. [83]

B) Impact via les récepteurs NOD-1 et NOD-2

a) Présentation des récepteurs

Les protéines intracellulaires NOD-1 (Nucleotide-binding Oligomerization Domain containing 1) et NOD-2 jouent également un rôle dans la résistance à l'insuline. Ces protéines appartiennent à la famille des NLR. Ces récepteurs ont une extrémité C-terminale avec des motifs riches en leucine permettant la liaison à leurs ligands. Au niveau central, on retrouve les domaines NOD permettant l'oligomérisation de ces molécules et enfin, à l'extrémité N-terminale, on retrouve un segment nommé CARD qui permet la transduction du signal après la fixation du ligand. [94]

Ce sont des récepteurs reconnaissant des fragments de peptidoglycanes, induisant un stress cellulaire et une inflammation. NOD-1 détecte les peptidoglycanes des bactéries à Gram- alors que NOD-2 reconnaît à la fois ceux des Gram+ et des Gram-. [83], [94] NOD-1 est retrouvé sur l'ensemble des cellules de l'organisme tandis que NOD-2 est plus spécifiquement rencontré sur les monocytes, les macrophages et les neutrophiles ainsi que sur les cellules dendritiques et les cellules épithéliales intestinales. [95]

b) Fonctionnement

Suite à l'interaction avec son ligand, le récepteur subit une oligomérisation sur le domaine NOD. Par la suite, les différents domaines N-terminaux recrutent des protéines effectrices. Dans le cas des récepteurs NOD-1 et NOD-2, il s'agit de la sérine thréonine kinase RICK. Cela aboutit au final à l'activation du facteur NF- κ B et de MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase). [95]

c) Conséquences sur le diabète

Des études ont montré que la stimulation du récepteur NOD-1 au niveau des adipocytes induit une inflammation, perturbe la sensibilité à l'insuline et diminue l'absorption de glucose. On retrouve également une action au niveau hépatique où une suppression de l'activité de l'insuline est observée. La stimulation des récepteurs NOD-2 entraîne plutôt une résistance à l'insuline au niveau des cellules

musculaires. Cette inflammation n'apparaît pas chez les souris ne présentant pas les récepteurs NOD-1 ou CD14 ce qui leur donne un rôle important dans le développement de l'inflammation de bas grade à l'origine de la résistance à l'insuline. [4]

Cette résistance à l'insuline apparaît suite à la production de médiateurs inflammatoires et à l'activation de MAP kinases ce qui diminue l'efficacité de l'IRS-1.

Une autre voie implique le TLR-9 reconnaissant des Cytosines phosphate Guanine (CpG) qui contiennent de l'ADN et va activer l'immunité innée. Son absence entraîne une suppression de l'expression de l'IL-1 β . Le TLR-9 augmente également la sécrétion de TNF- α par le foie. [22]

VI. SCFA

1 - Introduction

Comme vu précédemment, l'un des rôles du microbiote intestinal est de métaboliser un certain nombre de composés que les enzymes de l'hôte sont incapables d'hydrolyser. [96] Via principalement la production de SCFAs, le microbiote intestinal parvient à interagir avec l'hôte. Leur formation est due aux bactéries intestinales anaérobies qui dégradent des polysaccharides non dégradés par les enzymes humaines. Là encore la diversité bactérienne a une importance puisqu'aucun genre bactérien n'est capable d'hydrolyser tous les nutriments ni de produire tous les métabolites retrouvés dans la lumière intestinale. [97]

Ainsi, certains aliments non absorbables par la partie proximale de l'intestin vont permettre de nourrir des bactéries présentes dans la partie distale de celui-ci. À cet endroit, ces bactéries vont pouvoir transformer ces aliments, notamment des sucres simples, en acides gras à chaîne courte (SCFA *small chain fatty acids*) tels que propionate, acétate ou butyrate qui pourront être absorbés dans le colon. [25], [5]

2 - Définition

Les SCFAs (Short-Chain Fatty Acids), aussi nommé ACCC (Acides Carboxyliques à Chaîne Courte), sont des acides gras possédant 1 à 6 atomes de carbone provenant de la fermentation bactérienne de polysaccharides, oligosaccharides, protéines, peptides et glycoprotéines. De manière concomitante à la production de SCFAs, on voit également apparaître lors de cette fermentation, des gaz et de la chaleur voir de l'ammoniac. [98] Cette production est également permise par la fermentation de fibres alimentaires [96] et ce travail est principalement due aux Firmicutes par fermentation anaérobie mettant à disposition une source importante d'énergie pour l'hôte. [5], [96]

Les principaux SCFAs sont l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique. Les différentes proportions entre ces SCFAs varient en fonction de la flore microbienne intestinale. Néanmoins, quelque soit le microbiote, l'acétate reste toujours le SCFA majoritaire. [98] Ces trois SCFAs sont les plus couramment évoqués mais on retrouve également le formate, l'acétate, l'isobutyrate, le valérate, l'isovalérate et les acides caproïques. Néanmoins, ces derniers ne représentent que 5 à 10% des SCFAs retrouvés dans le colon tandis que l'acétate est présent à hauteur d'environ 60%, le propionate à 25% et le butyrate à 15%. [100]

Par la production de SCFAs, une partie de l'énergie « perdue » par l'hôte va pouvoir être restituée. En effet, les colonocytes vont utiliser le butyrate comme source d'énergie. Le propionate et l'acétate jouant le rôle de précurseurs métaboliques (substrat gluconéogénique et lipogénique, respectivement pour le propionate et l'acétate).

Alors qu'ils proviennent de composant dont l'absorption par l'organisme est nulle ou limitée, les SCFAs ont, une fois formés, une absorption qui avoisine les 95%. [100]

Cette absorption est rapide et est possible grâce à deux phénomènes principaux : soit par diffusion sous forme protonée donc non ionique, par gradient de concentration soit sous forme d'ions. [98]

L'absorption sous forme ionique se fait par transport facilité où, couplé à l'entrée des SCFA, on observe l'expulsion de bicarbonate au niveau de la bordure en brosse des cellules des villosités intestinales. [98]

3 - Rôles

A) Rôle énergétique

Ils ont notamment pour rôle de fournir de l'énergie aux différentes cellules qui composent l'épithélium colique en particulier le butyrate via son oxydation comme nous l'avons évoqué précédemment. Mais ce dernier joue également un rôle dans la croissance et la différenciation cellulaire tandis que l'acétate est utilisé comme un précurseur de cholestérol ou d'acides gras. Le propionate, pour sa part, est un substrat de la néoglucogénèse au niveau du foie. [101]

En effet, 70 à 90% du butyrate est utilisé par les colonocytes pour former des corps cétoniques pour assurer leur production d'énergie. Les autres SCFAs sont néanmoins également utilisables par les colonocytes bien que moins employés. La partie des SCFAs non utilisée par les cellules du colon parvient, après absorption, au foie où le propionate est métabolisé car c'est un substrat de la néoglucogénèse hépatique et est capable d'inhiber la synthèse hépatique de cholestérol. Une partie de l'acétate est épargné par le métabolisme du foie et sert de source d'énergie à d'autres tissus (muscles, reins, cœur...)[98]

Le propionate peut également être utilisé pour la synthèse de novo de glucose et la synthèse de lipides et ainsi servir de source d'énergie à l'hôte. [32]

B) Impact sur le microbiote intestinal

Par ailleurs, les SCFAs semblent capables de modifier la flore microbienne. Ils augmenteraient, notamment le butyrate, la croissance des Bifidobactéries et des Lactobacilles. [99]

Ils ont même une action protectrice de l'intestin vis-à-vis de certains pathogènes. Ainsi, ils diminuent la prolifération et/ou l'adhésion de certains germes à la muqueuse colique comme *Salmonella typhimurium* ou *Clostridium difficile*. Ils peuvent aussi, si ils sont en proportion suffisante, acidifier le contenu colique et participer à la croissance des bactéries acido-résistantes qui elles mêmes ont la capacité de produire des ACCC permettant un équilibre de la flore bactérienne intestinale. [98]

C) Rôle sur le fonctionnement de l'intestin et sur la barrière intestinale

L'acétate et le butyrate ont également un rôle important dans la maintenance de la barrière épithéliale puisqu'ils stimulent la production de mucus par les cellules caliciformes ce qui protège l'épithélium par l'augmentation de l'expression de mucine. Le butyrate augmente ainsi fortement l'expression du MUC-2 (Oligomeric Mucus Gel-Forming). [97] Cette protéine est une mucine qui a un rôle important dans la différenciation et la croissance cellulaire de l'épithélium colique avec, entre autre, des propriétés anti-tumorales. [102]

Le butyrate agit également sur les protéines formant les tight-junctions à savoir l'occludine et la zonuline de telle sorte qu'une augmentation de la concentration en SCFAs diminue la perméabilité intestinale. L'acétate a lui aussi un rôle dans la protection de l'épithélium intestinal en activant le GPR43 (G Protein-coupled Receptors 43). [97]

Les ACCC sont parfois responsables de variations dans la vidange gastrique mais aussi dans la motricité colique qui, pour cette dernière est dose-dépendante (on a en effet une augmentation à faible dose et une diminution à forte dose).

L'effet du butyrate est aussi à noter car il permet au niveau de l'épithélium intestinal et colique, d'augmenter le nombre de cellules ainsi que leur hauteur, la surface des villosités et la profondeur des cryptes. [98]

D) Rôle dans le métabolisme

Les ACCC vont pouvoir modifier l'expression de certains gènes en interagissant avec certains facteurs (comme les histones déacétylases) ou en se fixant à certains récepteurs spécifiques (GPR 41 et 43 (G Protein-coupled Receptors 41 et 43)) qui sont des récepteurs couplés à des protéines G. La stimulation de ces récepteurs va impacter sur la sécrétion d'hormones au niveau intestinal par les cellules endocrines de l'intestin mais agit également sur la production de cytokines par les monocytes ou en inhibant la lipolyse adipocytaire. [30]

Par exemple, ces SCFAs peuvent inhiber l'activation du NF- κ B en se liant aux récepteurs GPR43 et GPR41 des cellules immunitaires de l'hôte. Cela entraîne une suppression de la sécrétion du TNF- α et de l'Il6. Le butyrate réduit également l'expression de l'Il2 et augmente celle de l'Il10. Par cette action, ils ont une activité anti-inflammatoire.

Les produits de fermentation du microbiote intestinal augmentent par ailleurs l'oxydation des acides gras et les dépenses énergétiques. Ainsi, la prise d'acétate par des rats modifie l'activité de l'AMPK qui inhibe l'ACC et ainsi favorise l'oxydation des acides gras et les dépenses énergétiques, augmente la sensibilité à l'insuline et diminue donc l'intolérance au glucose. [60] Mais cela entraîne également une augmentation de l'activité de l'AMPK musculaire qui entraîne là encore une augmentation de la production d'énergie se traduisant par l'augmentation de la masse du tissu adipeux brun et l'expression d'UCP-1 (Uncoupling Protein 1). UCP1 est une protéine insérée dans la paroi interne mitochondriale des cellules du tissu adipeux brun et permet que l'énergie issue des substrats ne se transforme plus en ATP mais en chaleur. De là vient son intérêt pour lutter contre l'obésité.

Ces SCFAs notamment le butyrate et le propionate peuvent modifier l'expression du facteur Fiaf (Fasting-induced adipocyte factor) des cellules intestinales via les PPAR γ des cellules du colon ce qui expliquerait le stockage de la graisse. [60]

Le microbiote intestinal semble également pouvoir modifier l'appétit notamment en modifiant la sécrétion de GLP-1 produit par les cellules L du colon

mais également le peptide YY produit par les cellules épithéliales de l'iléon et du colon, quinze minutes après le début d'un repas et jusqu'à plusieurs heures après la fin de ce dernier pour entraîner une satiété. [9], [97] Sa sécrétion est responsable de l'inhibition de la motilité intestinale et de l'accélération du transit. De ce fait, une diminution de la sécrétion du peptide YY augmente l'absorption des graisses. [9] Enfin, la leptine est elle aussi touchée via une action sur le GPR41. Tous ces facteurs ont une activité anorexigène au niveau de l'hypothalamus. Les SCFAs diminueraient donc également l'appétit en induisant au niveau central une satiété. [60]

Via la stimulation de la sécrétion du GLP-1 grâce au récepteur couplé à la protéine G FFAR2 (Free Fatty Acid Receptor 2), les SCFAs parviennent à moduler notamment le métabolisme des sucres. Cette sécrétion de GLP-1 entraîne une diminution voir une suppression de la sécrétion de glucagon et induit la sécrétion d'insuline fonction de la glycémie et de ce fait, parvient à homogénéiser l'homéostasie du glucose.

Alors que des repas riches en graisse supplémentés en butyrate minimisent la résistance à l'insuline, une diminution en sucres spécifiques entraîne une diminution de production de SCFAs.

Le propionate stimule le GPR41 via l'activation de neurones sympathiques [32]

Les SCFAs augmentent la satiété, diminuent la concentration sanguine en glucose ainsi que le niveau du cholestérol mais vont également pouvoir renforcer la barrière intestinale et protéger du cancer colorectal entre autre. Néanmoins, leur présence est fortement liée au substrat présent et donc à l'alimentation. C'est pourquoi un régime riche en graisse ne permet pas une synthèse optimale en SCFAs à l'inverse par exemple de repas riches en fibres fermentables. [100]

4 - Études

Comme nous l'avons vu, certaines bactéries sont capables de produire des SCFAs à partir de polysaccharides ce qui fournit une source très importante d'énergie qui jusque là était indisponible et ce via l'augmentation de l'expression de certains gènes bactériens. Des études ont montré qu'une supplémentation en butyrate (un des SCFAs) est capable de prévenir le développement de l'obésité chez des souris recevant un régime riche en graisse ce qui suggère un effet dose dépendant de ces produits sur le métabolisme de l'hôte.

L'altération de ce microbiote peut également modifier le métabolisme de l'hôte. Ainsi, pendant longtemps, l'utilisation d'antibiotiques à de faibles doses a été employée pour augmenter la taille des animaux en agriculture. Par la suite des études sur des souris ont confirmé ce fait. Les souris voyaient augmenter leur masse grasse sans pour autant diminuer le nombre de bactéries intestinales. On observait alors une augmentation de la capacité de production de SCFAs. [44]

Par ailleurs, des études menées chez des souris diabétiques ont montré que le butyrate était capable de diminuer le niveau plasmatique de glucose et de l'hémoglobine glyquée. [100]

5 - Fonctionnement

Les SCFAs agissent notamment en stimulant les récepteurs GPR43 et GPR41.

Nous possédons en effet des récepteurs endogènes à savoir les récepteurs FFAR2 (Free Fatty Acid Receptor 2 ou GPR43) et les récepteurs FFAR3 (ou GPR41). Ces récepteurs sont retrouvés dans de nombreux tissus notamment dans l'intestin sur les cellules produisant le peptide YY. En effet, les SCFAs semblent permettre de libérer le peptide YY ainsi que la sérotonine (5-hydroxytryptamine). Des études menées chez la souris KO pour le récepteur FFAR3 ont montré une diminution de l'expression du peptide YY et une diminution du rendement

énergétique. Ces FFARs sont également évoqués dans l'intolérance au glucose et donc dans le diabète. On retrouve en effet un grand nombre de récepteurs FFAR3 sur les cellules sécrétant le GLP-1. [5]

Ils pourraient également moduler la production hépatique de glucose. [5]

En fait, le récepteur GPR43 est un récepteur couplé à des protéines Gi/o et Gq. Via la première, il permet d'activer la cascade ERK (Extracellular signal-Regulated Kinases) et par la seconde d'initier la cascade des MAPK. Ce récepteur est présent au niveau des intestins, du tissu adipeux et des cellules du système immunitaire. Au niveau adipeux, l'augmentation de l'expression du GPR43 va entraîner une diminution de la sensibilité à l'insuline et ainsi diminuer l'accumulation d'acides gras. Cette inhibition de l'adipogénèse va permettre une augmentation de la dépense énergétique. Cette diminution de la sensibilité à l'insuline est médiée par les sous-unités bêta et gamma de la protéine Gi/o. Or, cette expression du récepteur est augmentée par l'accroissement de la présence des SCFAs. [96]

Le récepteur GPR43 est également exprimé au niveau de l'intestin, sur les cellules entéroendocrines L sécrétant le peptide YY mais aussi le GLP-1 et le GLP-2. Ces trois hormones sont sécrétées conjointement grâce à la stimulation des récepteurs GPR43. [96]

Le récepteur GPR41, quant à lui, est un récepteur couplé à une protéine Gi/o et est exprimé au niveau du tissu adipeux, de l'intestin et du système nerveux périphérique. La stimulation de ce récepteur entraîne une augmentation de la libération de la leptine par les adipocytes. Au niveau de l'intestin, il joue un rôle dans sa motilité en le ralentissant. Comme pour GPR43, les cellules responsables de la sécrétion du peptide YY et GLP-1 expriment également le récepteur GPR41. Ce récepteur, suite à sa stimulation, stimulerait la production du peptide YY et de GLP-1 et ainsi permettrait de diminuer la motilité intestinale et augmenterait l'absorption de SCFAs. La stimulation du GPR41 au niveau du système nerveux périphérique par les SCFAs améliore la tolérance au glucose en induisant la néoglucogénèse en stimulant la glucose-6-phosphatase responsable de cette transformation. [103]

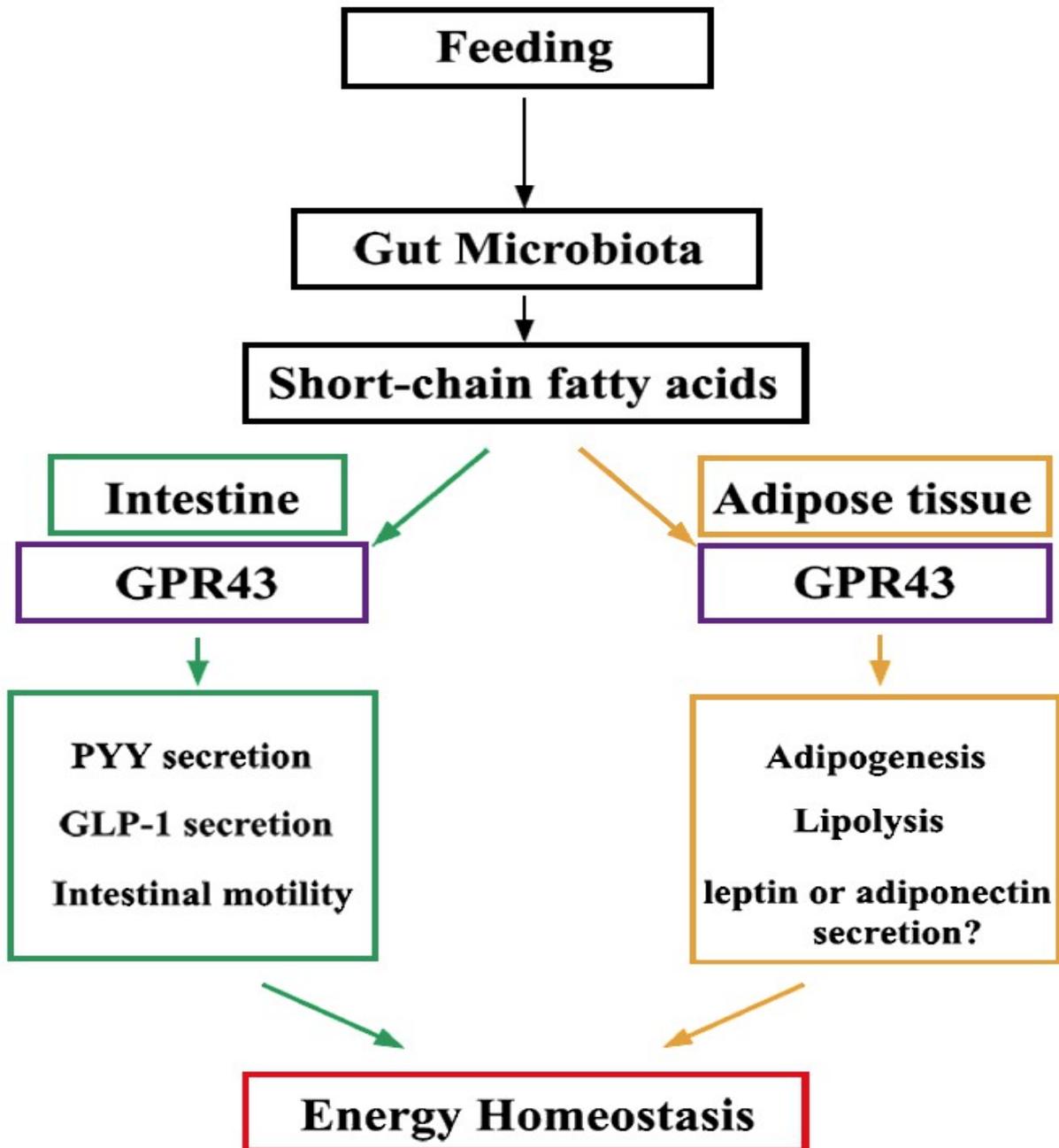


Illustration 16: Conséquences de la stimulation du récepteur GPR43. (d'après : I. Kimura, D. Inoue, K. Hirano, and G. Tsujimoto : «The SCFA Receptor GPR43 and Energy Metabolism »)

Notamment à cause de l'alimentation, des modifications du microbiote peuvent être observées et via cela, une variation dans la production des SCFAs. Ces derniers vont pouvoir se fixer sur le récepteur GPR43 au niveau de l'intestin et du tissu adipeux en particulier et permettre la stimulation de la sécrétion de PYY (Peptide YY) et de GLP-1 mais aussi l'adipogénèse et l'adipolyse.

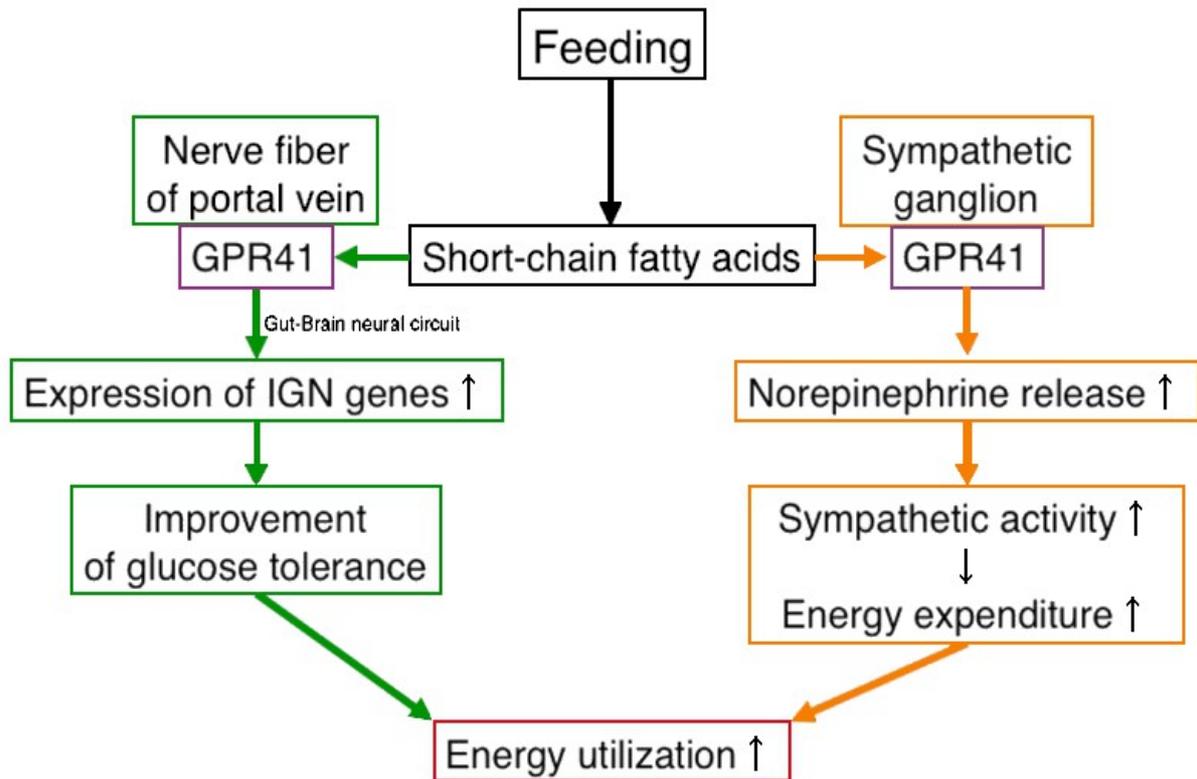


Illustration 17: Conséquences de la stimulation du récepteur GPR41. (d'après : D. Inoue, G. Tsujimoto, and I. Kimura : « Regulation of Energy Homeostasis by GPR41 »)

De la même manière que dans la Illustration précédente, les SCFAs peuvent également interagir avec le récepteur GPR41 qui en augmentant l'expression de certains gènes va pouvoir limiter l'intolérance au glucose et augmenter le fonctionnement du système sympathique. Ces deux facteurs participent à augmenter l'utilisation d'énergie par l'organisme.

VII. Activité via le facteur Fiaf

1 - Introduction

On en a parlé plusieurs fois mais, le mode de vie, le régime et l'absence d'activité physique ont bien sûr une part importante dans le développement de l'obésité mais, en plus de l'action du LPS et des SCFAs, on a remarqué que le microbiote intestinal pouvait aussi augmenter le métabolisme des acides gras via son impact sur le facteur Fiaf. [26]

On observe ainsi que les souris qui ne possèdent pas de microbiote intestinal exprime d'avantage l'Angiopoietin-like 4 (Angptl4 ou Fiaf) qui inhibe la lipoprotéine lipase dans l'intestin. Si son taux diminue, cela entraîne une augmentation de l'activité de la lipoprotéine lipase et donc une augmentation du métabolisme des acides gras dans le foie et le stockage des triglycérides dans les adipocytes. [44]

Des études menées par Jeffrey Gordon sur des souris ne possédant pas de microbiote ont permis de mettre en évidence le rôle important du facteur Fiaf sur l'expression d'un grand nombre de gènes en colonisant ces souris par certaines souches bactériennes intestinales. D'autres études, menées par Backhed et al. étudient le lien entre obésité et microbiote intestinal. En travaillant sur des souris génétiquement obèses, c'est-à-dire avec un défaut de production de leptine (ob/ob), ainsi que sur des souris exemptes de tout microbiote, ils ont montré que l'implantation de bactéries provenant de l'intestin de souris normales chez des souris « stériles » augmentait de l'ordre de 40% leur masse grasse après seulement quelques semaines. Ces résultats s'observaient quelque soit le régime alimentaire prit par les rongeurs.

Lorsque la même expérience est menée mais cette fois-ci en implantant des bactéries provenant de souris obèses, l'augmentation de la masse grasse est encore plus importante que précédemment.

Backhed et al. ont partiellement mis en évidence le phénomène à l'origine de cette constatation. En effet, ils ont montré que la colonisation de souris exemptes de microbiote entraînait la synthèse de novo de graisse associée à une expression plus faible du facteur intestinal Fiaf qui a un rôle dans la régulation de la production de graisse. [8]

Le microbiote intestinal tend à réduire l'expression de ce facteur Fiaf au niveau des cellules intestinales et augmente l'activité de la LPL. Le facteur Fiaf a une activité de suppression de la LPL. Cela va entraîner une augmentation du stockage des triglycérides dans le tissu adipeux. Par ailleurs, la résistance au développement de l'obésité suite à l'administration de régime riche chez les souris ne possédant pas de microbiote est liée à une augmentation de l'activité de l'AMPK du foie et du muscle squelettique. En effet, cela induit l'oxydation des acides gras et

une augmentation des dépenses énergétiques ce qui limite la prise de poids. Cette caractéristique est maintenue chez les souris où on a supprimé l'expression de la protéine Fiaf mais n'est pas retrouvée chez les souris n'ayant jamais exprimé ce gène. La transplantation de microbiote d'une souris obèse à une souris ne possédant initialement pas de microbiote induit chez elle une obésité. Lorsque cette expérience est réalisée entre des souris saines et des souris sans microbiote, on ne retrouve pas cette augmentation de poids ce qui semble prouver que la modification du microbiote est à l'origine de l'obésité et non l'inverse. Cela implique que ces variations dans la population bactérienne entraînent une augmentation dans l'efficacité à produire de l'énergie à partir des nutriments sûrement via une augmentation de certaines enzymes. [60] Ces différentes études manquent néanmoins de standardisation dans les différentes méthodes utilisées (alimentation, ethnie...). [60]

2 - Mécanisme

En fait, le facteur Fiaf, également nommé ANGPTL4 est principalement exprimé au niveau des tissus adipeux (qu'ils soient blancs ou bruns) et du foie et est codé par le gène 19p13.3. On le retrouve néanmoins à d'autres niveaux comme dans le sang, le placenta, le cœur, les muscles et l'intestin grêle. Cette glycoprotéine de 406 acides aminés et faisant 50kDa possède une extrémité N-terminale apte à oligomériser cette protéine lui permettant d'exercer son action inhibitrice sur la LPL. La forme native du facteur Fiaf peut être clivée par des protéases telles que la PCSK3 (Protein Convertase Subtilisin/Kexin type3), la furine et la PC5/6 (Protein Convertase 5/6). Ce clivage n'est pas systématique. Ainsi, le foie réalise ce clivage avant de sécréter le facteur Fiaf tandis que le tissu adipeux sécrète la forme native.

Le facteur Fiaf aurait une activité anorexigène en diminuant la prise de nourriture et le gain de poids ainsi qu'en augmentant les dépenses énergétiques. Cette action semblerait être liée à l'inhibition des AMPK de l'hypothalamus.

Par ailleurs, en inhibant la LPL, elle empêche la suppression des triglycérides circulants en bloquant l'hydrolyse de ces derniers. Cette inactivation se fait en faisant passer cette lipase d'un état dimérique actif en un état monomérique inactif. La diminution de l'activité de la LPL permet de limiter la dégradation des triglycérides et donc de limiter la capture des acides gras par les cellules. En effet, la transcription du facteur Fiaf se fait lorsqu'un excès d'acides gras est détecté par les cellules. [104], [105]

De part l'observation, en l'absence de microbiote, d'une augmentation de l'expression du facteur Fiaf, on a pu déduire que le microbiote intestinal, en inhibant le facteur Fiaf, augmente l'activité de la LPL et donc entraîner une accumulation des triglycérides dans les adipocytes. [106]

3 - Impact du facteur ChREBP

Normalement, une augmentation de l'insuline entraîne une diminution dans l'activité de la LPL, ce qui laisse supposé que le microbiote intestinal est capable d'agir d'une autre manière sur son activité. Le microbiote semble en effet capable de stimuler la production hépatique de triglycérides via la transcription de certains facteurs tels que le ChREBP (Carbohydrate-Response Element Binding Protein) et de stimuler l'incorporation de ces derniers dans les adipocytes en supprimant la transduction du facteur Fiaf. [107]

Le ChREBP est un facteur de transcription se fixant au gène codant pour la L-pyruvate kinase, enzyme avec un rôle important dans la glycolyse. Là encore plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer l'activation de ce facteur ChREBP. L'une d'elle fait intervenir un phénomène de phosphorylation et de déphosphorylation sur deux acides aminés de la protéine. Lors de la phosphorylation, ChREBP passe du noyau vers le cytoplasme et inversement. Plusieurs possibilités parmi les enzymes capables de réaliser cette opération sont proposées. On retrouve la protéine kinase A en présence d'ATP pour la phosphorylation et la protéine phosphatase 2A pour la déphosphorylation. Dans cette hypothèse, le ligand déclencheur est le Xylulose 5-Phosphate (X5P),

intermédiaire de la voie des pentoses phosphates capable d'activer la protéine phosphatase 2A. Un autre métabolite signal est proposée avec le glucose-6-phosphate mais dans ce dernier cas, les enzymes responsables ne sont pas les mêmes que précédemment.

La seconde hypothèse explique l'activation de la protéine ChREBP par des conformations différentes selon le taux de glucose. Une forte concentration le ferait donc passer en conformation active. [108]

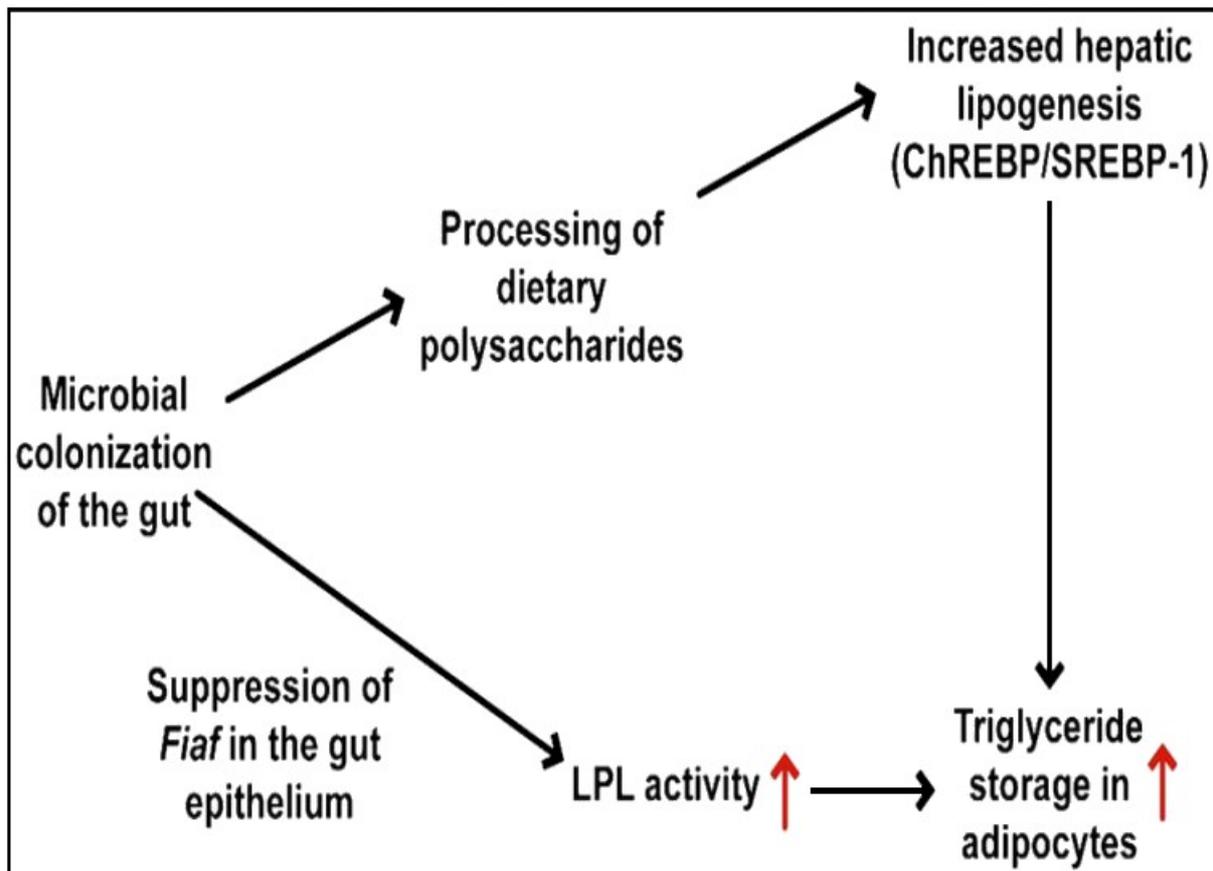


Illustration 18: Action du microbiote intestinal sur le stockage des lipides (d'après : F. Backhed, H. Ding, T. Wang, L. V. Hooper, G. Y. Koh, A. Nagy, C. F. Semenkovich, and J. I. Gordon, "The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage")

Cette augmentation se fait via notamment la suppression de l'expression du facteur Fiaf.

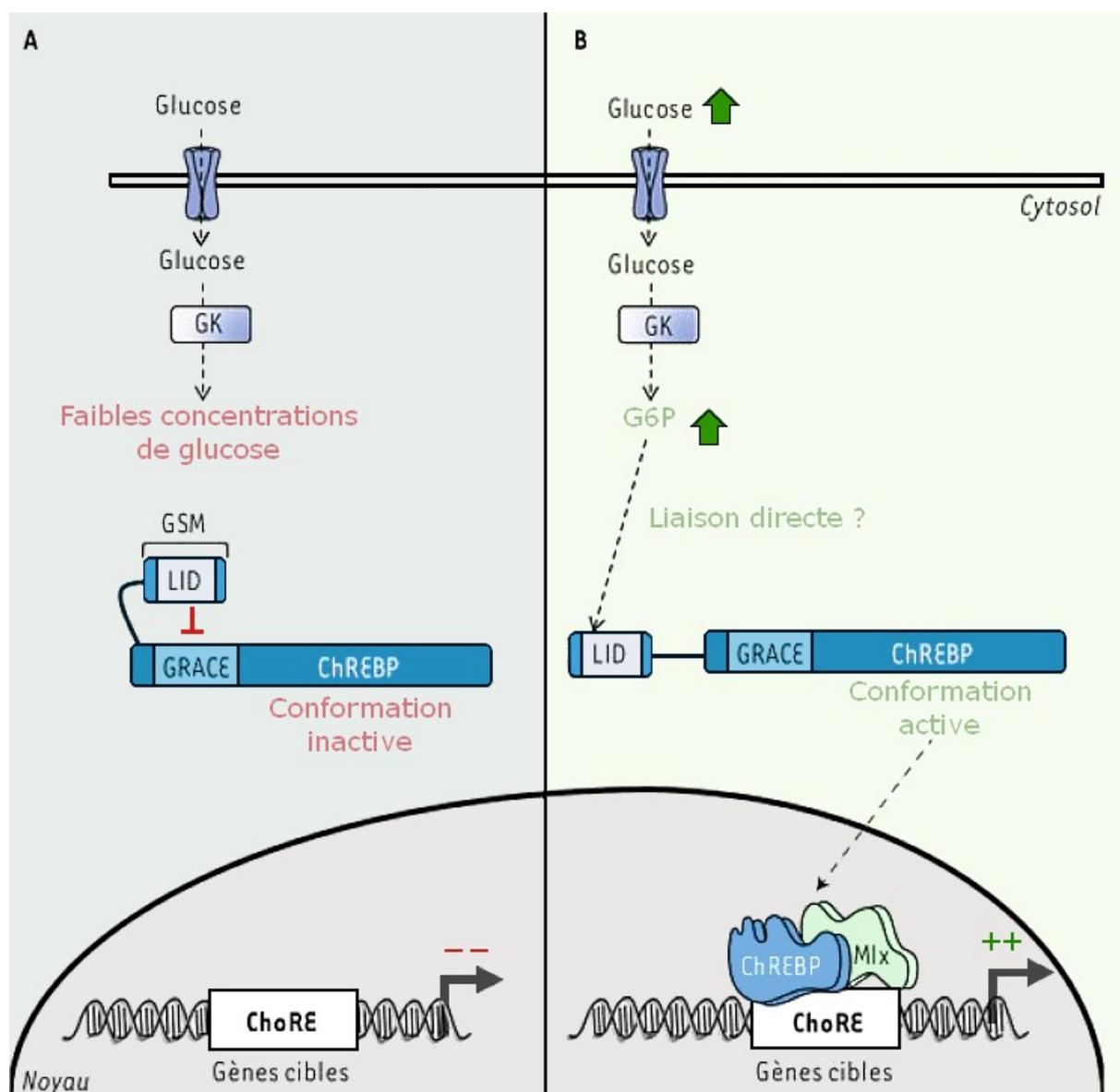


Illustration 19: Mode d'activation du facteur ChREBP. (d'après : F. Backhed, H. Ding, T. Wang, L. V. Hooper, G. Y. Koh, A. Nagy, C. F. Semenkovich, and J. I. Gordon : « The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage »)

Lorsque la teneur en glucose à l'extérieur de la cellule est faible, le facteur se trouve dans le cytosol dans une conformation inactive mais lorsque cette concentration augmente, on observe une augmentation du métabolisme du glucose qui conduit à l'augmentation de la synthèse de G6P (Glucose-6-Phosphate) qui permet d'inhiber le domaine LID (Low Glucose Inhibitory Domain) et donc permet le passage du facteur ChREBP dans une conformation active lui permettant de migrer dans le noyau. Au niveau nucléaire, ChREBP va former un tétramère avec le facteur Mix (Max-like protein X) qui va permettre la transcription des gènes cibles. [108]

PARTIE 3 – Probiotiques et prébiotiques

I. Probiotiques

1 - Définitions

Bien que que les probiotiques ont d'abord été définis comme des « facteurs promoteurs de croissance produits par des micro-organismes », cette définition n'a rapidement plus correspondu puisqu'elle pouvait inclure notamment les antibiotiques. Depuis 2001, l'OMS a donc défini les probiotiques comme des « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte ».

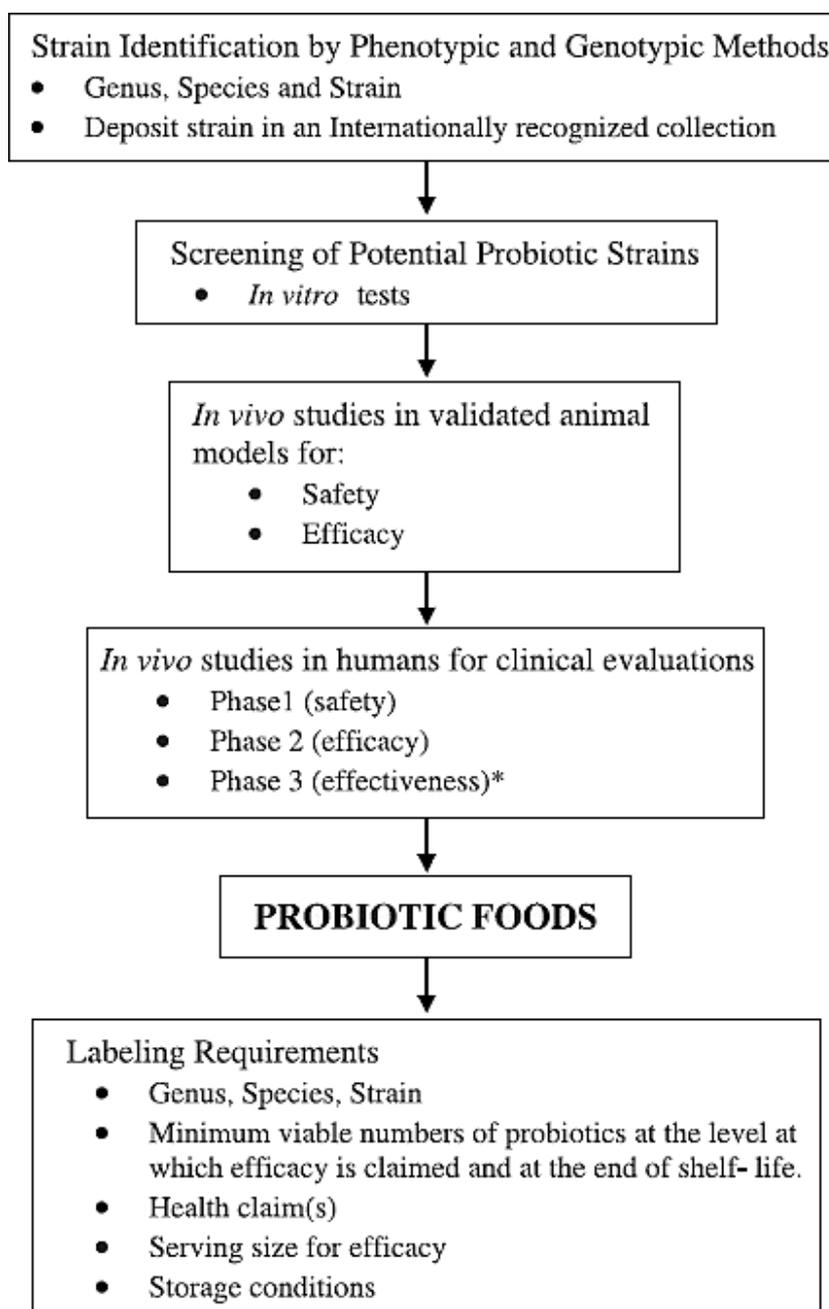
Les probiotiques sont majoritairement composés de bactéries ou de levures vivantes. [109] Les probiotiques les plus courants qu'on peut rencontrer appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. [110]

De plus en plus on les voit mis en avant pour traiter ou en adjuvant d'une pléiade de pathologies telles que les diarrhées, qu'elles soient induites par des antibiotiques ou non, les entérocolites nécrosantes et, plus récemment, pour l'obésité ou le diabète. [110]

On a donc vu la définition proposée par l'OMS néanmoins celle-ci n'est pas légalement reconnue. Les seules exigences qui sont spécifiées sont que le probiotique soit identifié par un genre et une souche, qu'il soit vivant et fourni en dosage approprié jusqu'à sa péremption et enfin qu'il ait montré une efficacité dans des études contrôlées sur l'Homme. [111]

Le premier point pour qualifier une souche bactérienne de probiotique est donc de déterminer son genre ainsi que son espèce puisqu'on considère actuellement que l'effet d'un probiotique sur la santé est dépendant de la souche utilisée. Une analyse phénotypique et génotypique est nécessaire en plus des examens habituels pour caractériser la souche bactérienne. Par la suite, un certain nombre de tests in vitro sont réalisés pour déterminer l'effet et l'utilisation potentielle de l'espèce notamment sa résistance à l'acidité gastrique ainsi qu'aux acides biliaires, sa possible activité anti-microbienne envers d'éventuels pathogènes, sa capacité à diminuer l'adhésion des pathogènes dans le tractus digestif... Ensuite, la

souche bactérienne peut passer à l'étape suivante et être utilisée chez l'animal où on va pouvoir évaluer sa toxicité et par la suite son efficacité. Une fois toutes ces étapes remplies, la souche peut enfin être utilisée chez l'Homme. On va à nouveau montrer son efficacité et pouvoir déterminer quelle concentration minimale en probiotique est nécessaire pour observer une efficacité. [112]



* Only required if a specific health claim is made

Illustration 20: Protocole avant la libération d'une souche bactérienne (comme probiotique).

(d'après : N. K. Ganguly, S. K. Bhattacharya, B. Sesikeran, G. Nair, B. S. Ramakrishna, H. P. S. Sachdev, V. K. Batish, A. S. Kanagasabapathy, V. Muthuswamy, S. Kathuria, V. M. Katoch, K. Satyanarayana, G. Toteja, M. Rahi, S. Rao, M. Bhan, R. Kapur, and R. Hemalatha : « ICMR-DBT Guidelines for Evaluation of Probiotics in Food »)

Actuellement, la majorité des probiotiques utilisés le sont par isolement de souches présentes dans l'alimentation et qui présentaient une activité intéressante. Mais, de plus en plus, par le développement des découvertes sur le microbiote intestinal, on découvre de nouvelles bactéries voir de nouveaux gènes présents parfois chez des bactéries connues qu'on parvient à mettre en avant. [113]

On classe habituellement les probiotiques en quatre classes différentes :

- On retrouve d'abord les espèces appartenant au genre *Lactobacillus*, bactéries à gram positif faisant parties des Firmicutes et de la famille des Lactobacillaceae. Ce sont des bactéries lactiques parmi les plus utilisées. [84] Le genre *Lactobacillus* comprend plus de 90 espèces différentes. [114]
- On a ensuite les espèces appartenant au genre *Bifidobacterium*, bactéries à gram positif également et anaérobies strictes.
- La classe suivante regroupe d'autres bactéries lactiques avec des genres comme *Enterococcus* ou *Streptococcus*.
- Le dernier groupe comprend des bactéries non lactiques comme les espèces *Bacillus cereus* ou *Propionibacterium freudenreichii*. [84]

2 - Historique

Elie Metchnikoff a été un des premiers à suggérer que la modification de la flore microbienne intestinale pouvait permettre d'éviter « l'auto-intoxication intestinale ». [111] De son vrai nom Ilya Ilitch Metchnikov, ce biologiste est né le 6 mai 1845 à Ivanovka dans l'actuelle Ukraine et est décédé le 15 juillet 1916 à Paris. En 1887, il obtient un poste à l'Institut Pasteur grâce à Pasteur lui-même et sera en 1908 co-lauréat du prix Nobel de physiologie avec Paul Ehrlich grâce à leur découverte de la phagocytose. [115]

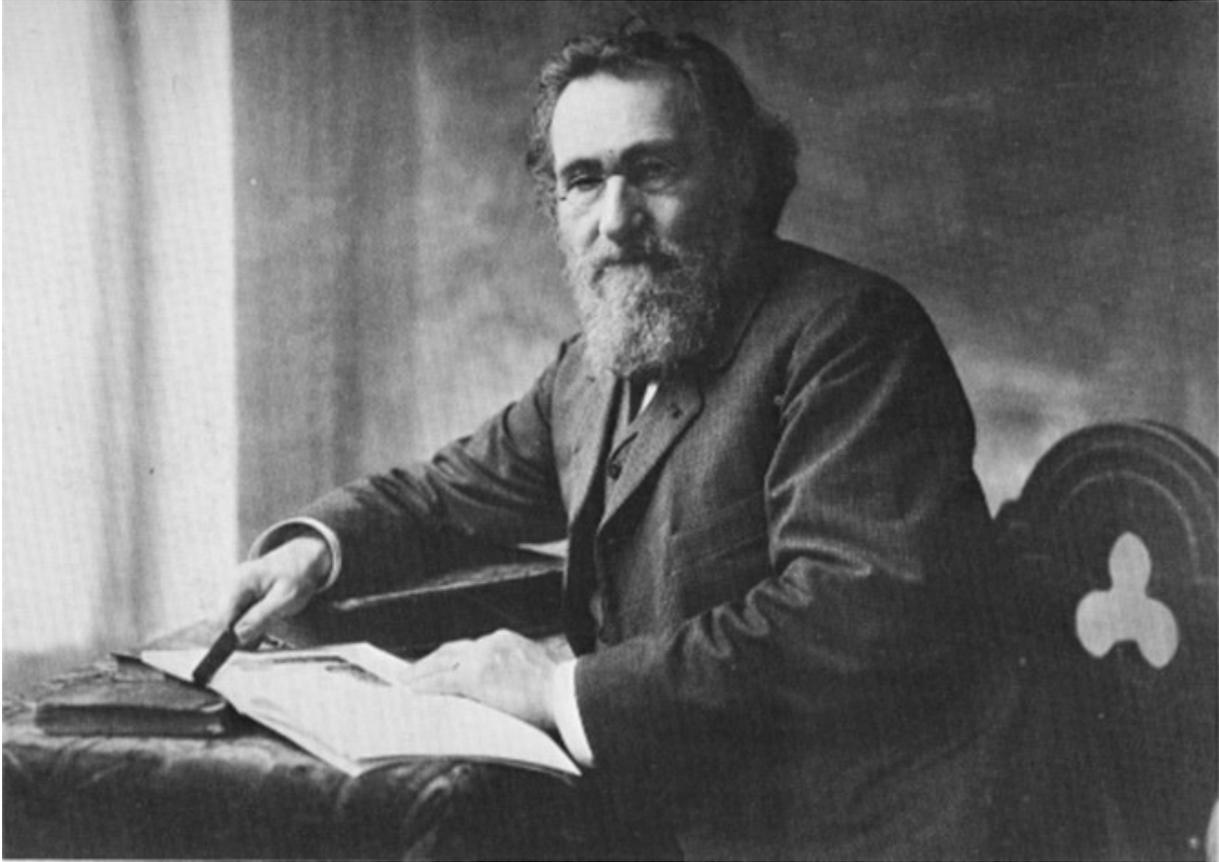


Illustration 21: Photo d'Elie Metchnikoff (d'après : S. Gordon : « Elie Metchnikoff: father of natural immunity »)

Par la suite il a pour objectif de remplacer les bactéries potentiellement nuisibles par des bactéries utiles. C'est pourquoi il développa un régime alimentaire à base de lait, fermenté par une bactérie nommée « le bacille bulgare » et qui correspond à *Lactobacillus delbrueckii sp bulgaricus*. [111]

D'autres hommes font par la suite d'intéressantes découvertes. Ainsi, en 1900, Henry Tissier parvient à isoler une bactérie (*Bifidobacterium bifidum*) dans les fécès d'un nouveau-né allaité et sain. Il recommande par la suite de l'administrer aux bébés souffrant de diarrhées. [117]

Il faut ensuite attendre 1917 et le professeur allemand Alfred Nissle. Il va isoler chez un soldat de la Première Guerre Mondiale une souche non pathogène d'*Escherichia coli* qu'il rend responsable de la protection du combattant contre une entérocolite lors d'une sévère épidémie de Shigellose. Cette souche, encore appelé souche Nissle 1917 de nos jours est un des rares cas de probiotique non lactique. [111]

En 1935, Minoru Shirota commercialise au Japon et pour la première fois une souche de probiotique *Lactobacillus casei* Shirota dans une boisson nommée Yakult®. [117]

Néanmoins, c'est seulement en 1953 qu'on rencontre pour la première fois le terme probiotique utilisé par Werner Kollath.

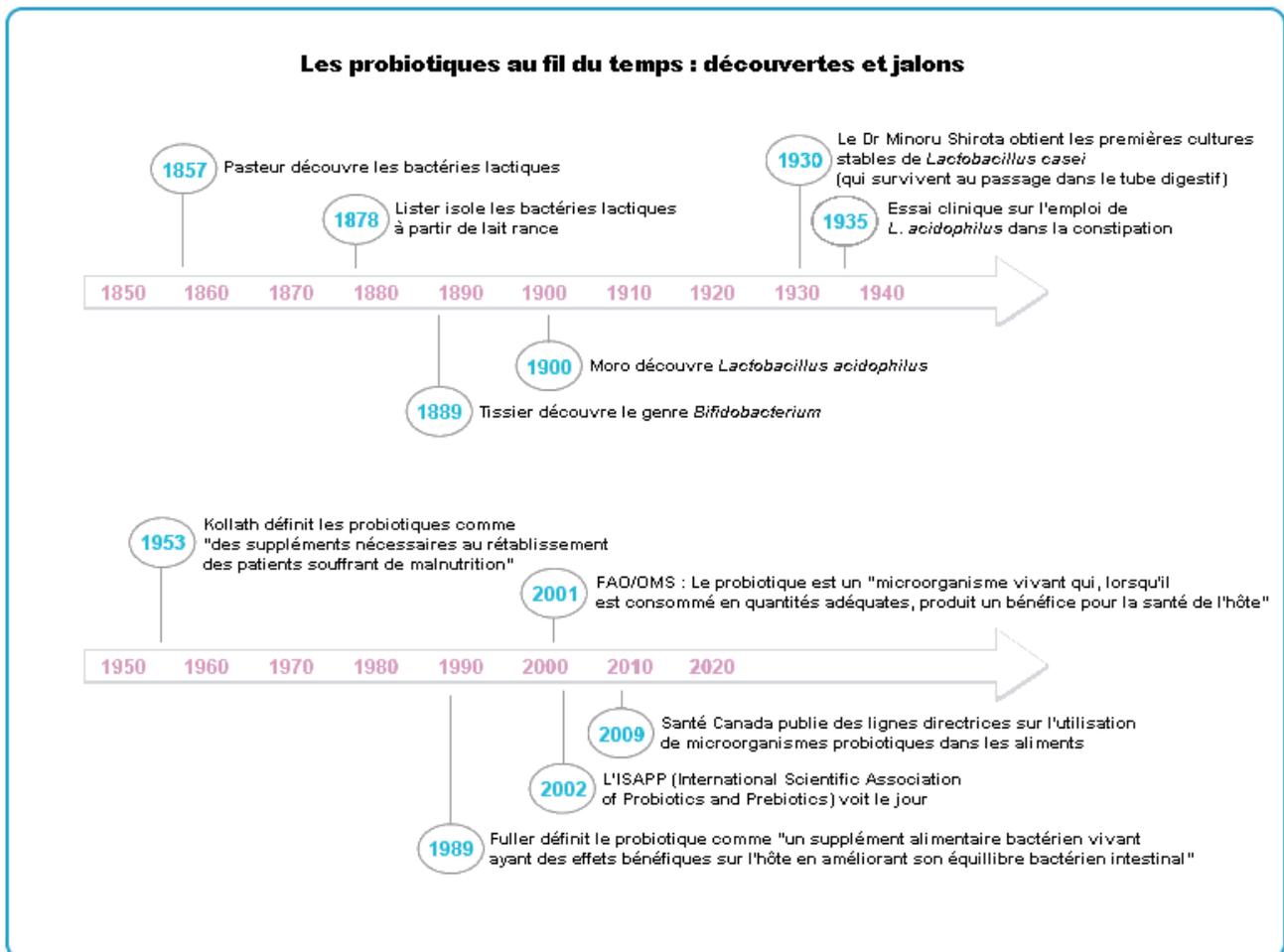


Illustration 22: Chronologie retraçant l'histoire des probiotiques.

3 - Modes d'actions

L'action des probiotiques s'explique par l'apport de nouvelles enzymes et autres protéines au niveau intestinal. Ainsi, certaines bactéries présentes dans les yaourts sont capables de produire une lactase qui permet une meilleure digestion du yaourt même chez les patients naturellement déficients en lactase et qui de ce fait ne parviennent pas à digérer le lactose présent dans le lait. De nombreux autres

exemples similaires peuvent être retrouvés où la bactérie, en apportant une enzyme absente ou insuffisamment présente chez l'hôte va lui permettre de corriger un trouble dans son organisme.

Les probiotiques peuvent également servir de vecteurs. Ainsi, des chercheurs ont modifié un lactocoque (*Lactococcus lacti*) de manière à ce qu'il soit capable de produire de l'IL-10, ce qui pourrait aider certains patients atteints notamment de la maladie de Crohn.

Il semblerait également qu'en dehors d'apporter leurs propres protéines, les probiotiques soient capables de modifier l'activité du microbiote intestinal.

Par ailleurs, ils peuvent avoir un impact sur le fonctionnement de la barrière immunitaire par exemple en augmentant la sécrétion de cytokines par les lymphocytes circulants. [109]

On peut, pour simplifier, diviser l'action des probiotiques en deux parties : les actions immunologiques et les actions non immunologiques.

Les actions immunologiques correspondent à :

- L'activation des macrophages locaux pour augmenter leur activité de présentation d'antigènes auprès des lymphocytes B et augmenter la production d'IgA.
- La modification de la sécrétion de cytokines.
- La réponse aux antigènes alimentaires.

Les actions non immunologiques sont nombreuses :

- L'amélioration de la digestion.
- La modification du pH.
- La production de toxines antibactériennes.
- L'élimination de radicaux superoxydes.

- L'augmentation de la production de mucine par l'épithélium.
- L'amélioration de la fonction de barrière.
- La diminution de l'adhésion des pathogènes.
- La diminution de l'impact des toxines produites par certains pathogènes. [111]

L'apport de probiotiques est recommandé, en prévention, pour maintenir une stabilité du microbiote intestinal en particulier en formant une sorte de barrière impropre au développement de germes pathogènes. Par ailleurs, l'action des probiotiques passe également par l'excrétion d'acides (notamment lactique et acétique) mais aussi par la synthèse d'agents antimicrobiens et une immunomodulation. [47]

En résumé, les probiotiques exercent leurs actions en modifiant le microbiote intestinal, en supprimant certains pathogènes, en augmentant la synthèse de composés anti-inflammatoires mais aussi en supprimant les composés pro-inflammatoires, en stimulant l'immunité, en favorisant la différenciation des cellules épithéliales et en renforçant la barrière intestinale. [113]

4 - Problèmes des probiotiques

Bien que jusqu'à présent aucun effet indésirable majeur ne soit survenu, certains risques viennent assez facilement à l'esprit et en particulier le risque infectieux par les probiotiques. Certes, ce ne sont pas naturellement des organismes pathogènes mais on a d'ors et déjà rencontré des cas de septicémies ou d'endocardites des suites de l'utilisation de probiotiques. Parmi les micro-organismes incriminés, on a pu retrouvé *Saccharomyces boulardii* ou *Lactobacillus rhamnosus*. Bien sur, ces cas d'infections ont été retrouvés chez des patients affaiblis et avec des facteurs prédisposant. L'infection se produit soit par une colonisation manuportée (cas de la plupart des infections à *Saccharomyces boulardii*) soit par une translocation, c'est-à-dire le passage de micro-organismes ou de leurs produits depuis le tractus gastro-intestinal mais là encore avec certains facteurs prédisposant comme un déficit immunitaire ou une augmentation de la perméabilité intestinale.

Au final, le risque d'infection reste faible mais il est important de se méfier néanmoins de certains patients à risques et en particulier ceux présentant des anomalies valvulaires ou des cathéters centraux.

Un des autres effet indésirable que pourrait causé les probiotiques concerne de nouvelles activités métaboliques potentiellement délétères au même titre qu'ils sont capables comme vu précédemment d'apporter grâce à des protéines, un bénéfice à l'hôte. Ainsi, certaines souches sembleraient capables de dégrader le mucus intestinal.

Le troisième effet indésirable potentiellement imputable aux probiotiques est d'ordre immunologique puisqu'ils pourraient induire également une réponse immunitaire de part leur composition. On peut donc envisager que les probiotiques puissent causer de la fièvre et d'autres troubles pouvant aller jusqu'à des maladies auto-immunes. Bien qu'encore peu documenté, il a été démontré que chez le rat porteur de lésions coliques, on a pu observé une augmentation du passage systémique de certains polymères de la paroi bactérienne.

Le transfert de gènes est également envisageable bien que sûrement plus rare. [109]

Enfin, les interactions médicamenteuses sont tout à fait envisageables. En effet, plusieurs interactions sont facilement compréhensibles. Par exemple, entre des probiotiques et des antivitaminiques K ou avec les antibiotiques. Les antibiotiques en agissant vont détruire une partie des probiotiques et donc limiter leur effet. On recommande donc de respecter un intervalle d'au moins deux heures après la prise d'antibiotiques. Le raisonnement est le même pour les antifongiques avec des probiotiques comprenant des champignons.

Bien que normalement bénéfiques pour l'organisme, les probiotiques peuvent, comme nous l'avons vu auparavant, dans certains cas causés des préjudices au patient et cela peut être le cas lors de l'administration concomitante d'immunosuppresseurs où les probiotiques vont pouvoir être à l'origine d'infections.

Concernant les AVK (Anti-vitaminique K), la production de vitamine K endogène provenant de la flore microbienne, il paraît logique de penser que la présence de probiotiques peut être à l'origine de troubles de l'INR (International Normalized Ratio) et peut avoir de fâcheuses conséquences pour le patient. [43]

5 - Etudes sur les probiotiques

A) cas de *Bifidobacterium breve* B-3

a) Introduction

Cette étude concerne l'impact d'une souche bactérienne, à savoir *Bifidobacterium breve* B-3 sur l'évolution de l'obésité. Il s'agit d'une étude randomisée, réalisée en double aveugle, versus placebo. L'effet de cette souche a été étudié chez l'adulte ayant une tendance à l'obésité et ce pendant douze semaines. C'est une étude comparative en groupes parallèles.

b) Les sujets d'étude

L'étude est menée sur 52 volontaires adultes avec un IMC dans un intervalle compris entre 24 et 30 kg/m² et âgés de 40 à 69 ans. La plupart des sujets d'étude sont par ailleurs traités pour un diabète.

c) Les critères d'exclusion

Comme toute étude, celle-ci présente des critères d'exclusion de manière à limiter les variations imputables à d'autres facteurs que ceux étudiés. Ici, il s'agit de la prise de compléments alimentaires pour diminuer la graisse ou le cholestérol à raison d'au moins deux prises par semaine mais aussi la prise d'autres probiotiques et la présence de sévères pathologies touchant le foie, les reins, le cœur, les poumons, le sang, le système digestif, les glandes endocrines ou le métabolisme. Les allergies, qu'elles soient alimentaires ou médicamenteuses font aussi parties de ces critères d'exclusion.

d) Déroulement de l'étude

L'étude se divise en deux périodes distinctes. La première dure quatre semaines tandis que la seconde dure douze semaines.

La première partie comprend un questionnaire que chaque patient doit remplir en renseignant différentes mesures corporelles, son mode de vie (en particulier son alimentation et notamment la prise de yaourts mais aussi le nombre de cigarettes par jour et sa consommation d'alcool) et son traitement habituel.

De plus, après ce questionnaire, pendant ces quatre premières semaines, ils doivent renseigner, chaque jour, leur consommation d'alcool, leurs différentes activités, la prise de médicaments et leur condition physique.

À la fin de cette quatrième semaine, on réalise une prise de sang et un « état des lieux » de leur composition corporelle qui servira par la suite de référence pour le reste de l'étude. On parlera par la suite de semaine 0.

On classe ensuite les patients selon leur IMC et on les divise en deux groupes de manière aléatoire. Le premier groupe reçoit trois capsules de placebo tandis que le second groupe reçoit trois capsules contenant des souches de *Bifidobacterium breve* B-3. Ces trois capsules contiennent aux alentours de 5.10^{10} UFC de la souche bactérienne. Les deux types de capsules ont bien sûr le même aspect et le même goût. Les deux groupes sont semblables au regard des différents paramètres mesurés.

De manière à ce que cette deuxième partie de l'étude soit probante, il est demandé aux patients de ne rien changer dans leurs habitudes de vie et en particulier dans leur alimentation et leur activité physique.

Pour pouvoir suivre les résultats de cette étude, des contrôles sont effectués à 4, 8 et 12 semaines après la première prise du traitement.

Lors de ces évaluations, on mesure le poids corporel, l'IMC, la masse musculaire, la masse grasse, le pourcentage de graisse, la rapport entre la circonférence de la cuisse et celle de la hanche mais aussi des paramètres sanguins

tels que les lipides, les enzymes hépatiques, le glucose et quelques paramètres inflammatoires. À la fin de ces quatre premières semaines, on obtient les résultats suivants.

Group...	Placebo		<i>Bifidobacterium breve</i> B-3		P*
	Mean	SEM	Mean	SEM	
Sex (n)	25		19		0,535
Male	11		6		
Female	14		13		
Age (years)	61,9	1,9	58,9	2,0	0,302
Body weight (kg)	71,2	2,3	68,9	2,7	0,506
BMI (kg/m ²)	27,7	0,5	27,1	0,6	0,461
Muscle mass (kg)	45,1	2,0	44,8	2,1	0,908
Fat mass (kg)	23,5	1,0	21,5	1,0	0,187
Fat percentage (%)	33,3	1,3	31,3	1,0	0,276
Prescribed drug use (%)					
For diabetes mellitus	72		79		0,734
For hyperlipidaemia	52		68		0,358
For hypertension	36		42		0,760
Metabolic markers (%)					
TAG \geq 1,7 mmol/l †	60		42		0,361
Fasting blood sugar \geq 6,1 mmol/l †	84		79		0,709
HDL-cholesterol $<$ 1,0 mmol/l †	4		5		1,000

Tableau 4: Caractéristiques principales des différents participants à l'étude. (d'après J. Minami, S. Kondo, N. Yanagisawa, T. Odamaki, J. Xiao, F. Abe, S. Nakajima, Y. Hamamoto, S. Saitoh, and T. Shimoda, "Oral administration of *Bifidobacterium breve* B-3 modifies metabolic functions in adults with obese tendencies in a randomised controlled trial.")

Le tableau reprend la répartition des patients pour chaque groupe à savoir celui prenant le placebo et celui ingérant *Bifidobacterium breve* B-3, en fonction de plusieurs critères. Les différentes valeurs de P* pour chaque variable n'étant pas significativement différentes, on en déduit l'homogénéité des deux populations.

Même les différents traitements sont sensiblement les mêmes dans les deux groupes. En effet, dans le groupe placebo, 72% des sujets sont traités pour un diabète contre 79% dans le groupe test. Parmi ces patients, 56% sont traités par des sulfamides hypoglycémiantes dans le groupe placebo et 53% dans l'autre groupe. 24% prennent des thiazolidinediones (ou glitazones) parmi les patients prenant le placebo contre 16% dans le groupe test.

e) Exclusion lors de l'étude

Dans le groupe prenant le probiotique, quatre d'entre eux ont quitté l'étude pour des raisons personnelles contre deux dans le groupe placebo. Chacun des deux groupes a vu une personne changer radicalement son mode de vie ce qui a entraîné également leur exclusion de l'étude.

Il reste donc 19 patients dans le groupe prenant le probiotique et 25 dans le groupe placebo.

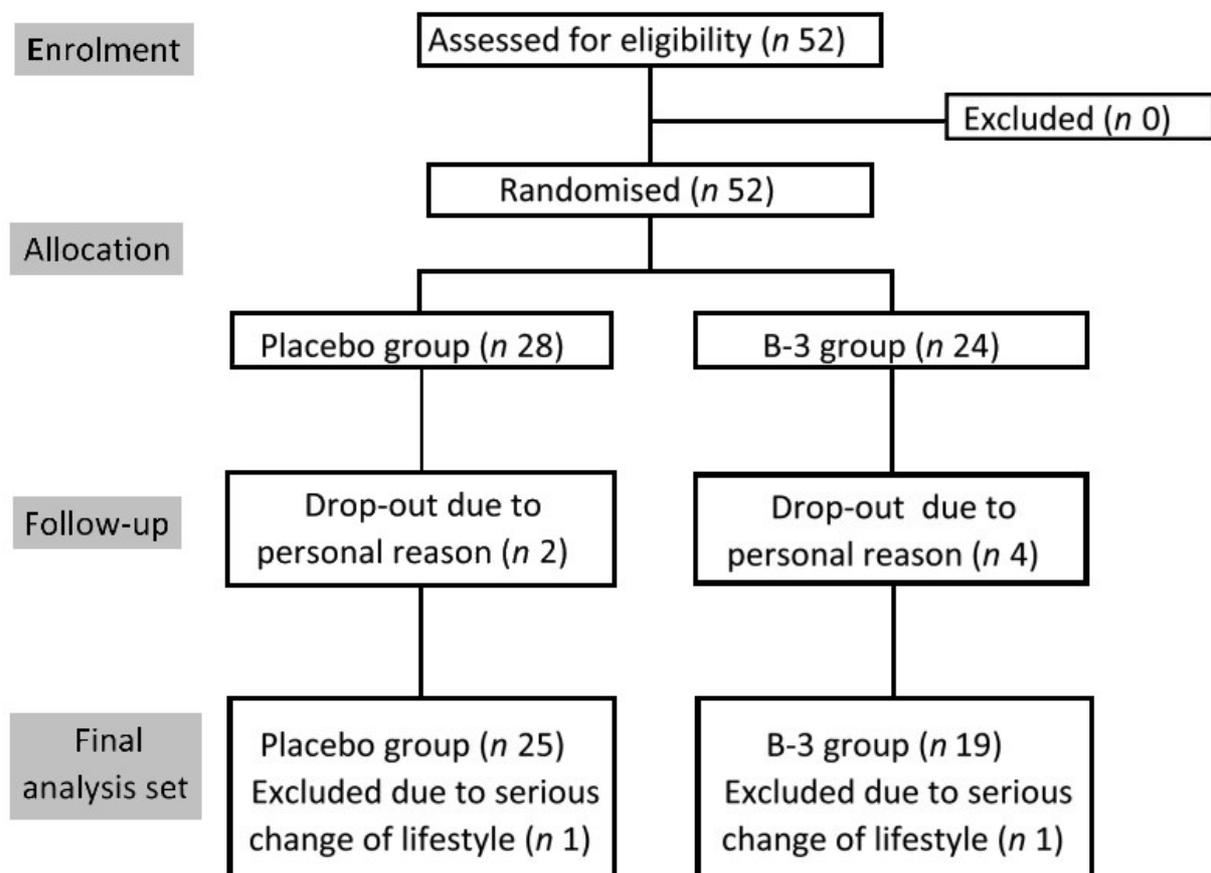


Illustration 23: Exclusions lors de l'étude de *Bifidobacterium breve* B-3. (d'après J. Minami, S. Kondo, N. Yanagisawa, T. Odamaki, J. Xiao, F. Abe, S. Nakajima, Y. Hamamoto, S. Saitoh, and T. Shimoda, "Oral administration of *Bifidobacterium breve* B-3 modifies metabolic functions in adults with obese tendencies in a randomised controlled trial")

f) Résultats

Suite à la mesure de ces différents paramètres, un certain nombre de conclusions peuvent en découler. Nous allons d'abord regarder d'un peu plus près les résultats obtenus sur la composition corporelle.

On observe dès lors que le seul paramètre significativement différent entre les deux populations à la douzième semaine est la masse de graisse bien qu'on puisse aussi remarquer une tendance à la baisse du pourcentage de graisse également. En effet une perte moyenne de 0,7kg peut être remarquée une fois rapportée à la moyenne respective de la semaine 0 de chacun des deux groupes. Cette diminution dans le groupe traité par les probiotiques n'est certes pas des plus impressionnantes mais ne constitue que le résultat d'une étude menée uniquement sur douze semaines. Une étude sur le plus long terme permettrait peut être de montrer un résultat plus impressionnant. Il est évident qu'un régime drastique permet une perte de poids beaucoup plus importante mais dans le cas qui nous concerne, aucune perte de masse musculaire n'a pu être mise en évidence par rapport au groupe placebo. Or, dans un régime strict, la perte de poids est souvent liée principalement à cette perte de masse musculaire ce qui entraîne à l'arrêt du régime un retour au poids initial par récupération de la musculature. *[Voir Annexe 1]*

Concernant les paramètres sanguins, les seules variations significatives concernent là aussi assez peu de facteurs dont font partie la γ -GTP (Gamma-Glutamyltranspeptidase) et la hCRP (high-sensitivity C-Reactive Protein).

Sans que cela soit significatif, on peut néanmoins observer une tendance à l'amélioration de la glycoalbumine (représentative de l'évolution récente de la glycémie sanguine). Pour sa part, l'hémoglobine glyquée (qui est le reflet de la glycémie sur les 2 à 3 mois précédant le prélèvement) augmente tout au long du traitement sauf à la douzième semaine pour le groupe prenant le probiotique où on peut remarquer une tendance à la baisse. *[Voir Annexe 2]*

g) Conclusions

Bifidobacterium breve B-3 semble donc capable de réduire la masse grasse des patients ayant une tendance à l'obésité tout en étant capable de diminuer l'état inflammatoire et d'améliorer quelque peu la fonction hépatique. Néanmoins, les effets du probiotique restent flous sur certains paramètres et il est difficile de conclure sur un certain nombre de points comme l'amélioration de la glycémie. Une étude portant sur une plus longue durée et avec éventuellement d'avantages de patients permettrait d'apporter d'avantages d'informations. [118]

B) Autres résultats d'études menées sur les probiotiques et leurs liens avec le diabète et l'obésité

Pour être actuellement commercialisé, les probiotiques doivent remplir un certain nombre de caractéristiques à commencer par réussir à survivre à l'industrialisation de leur préparation et par la suite à être viable et donc survivre pendant les étapes de transport et de stockage avant d'arriver jusqu'aux patients. Une fois que le malade l'a en sa possession et l'ingère, le probiotique doit pouvoir survivre au milieu de la flore microbienne intestinale qui est prévue pour limiter la croissance de germes extrinsèques. [43]

Une diminution de la présence des Lactobacilles et des Bifidobactéries étant associée au développement d'un diabète de type 2, il paraît logique d'essayer de corriger cet état. On va ainsi pouvoir utiliser des souches telles que *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium animalis*.

Il a été retrouvé par ailleurs que la présence des bactéries *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* et *Lactobacillus plantarum* diminuait le risque de développer une obésité. Néanmoins, pour preuve qu'il n'y a pas de vérité générale, la présence de *L. reuteri* est elle positivement corrélée à la présence d'une obésité.

De manière plus spécifique, *L. acidophilus* semblerait avoir des propriétés hypocholestérolémiantes tandis que *L. casei* a des propriétés anti-inflammatoires en diminuant l'activation du NF-κB par le LPS.

D'autres bactéries vont pouvoir avoir un effet bénéfique via la production d'acide linoléique conjugué. C'est le cas des bactéries *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. casei* et *L. rhamnosus*. Ils produisent l'acide linoléique conjugué à partir d'acide linoléique. Il permet de diminuer l'effet inflammatoire en stimulant la production de PPAR γ au niveau de la lumière de l'intestin. [119]

Une des études menée par Celleno et al porte sur *Phaseolus vulgaris*. Cette espèce bactérienne est capable d'inhiber l'alpha-amylase. Deux groupes furent alors créés : le premier prenait quotidiennement une quantité de 445 mg de ce probiotique tandis que le second groupe prenait un placebo. L'alimentation des deux groupes était par ailleurs riche en glucides. Au terme d'un mois de cette étude, les patients prenant conjointement à leur alimentation riche en sucre le probiotique virent significativement leur poids diminuer ainsi que leur IMC et leur masse grasse tout en conservant leur masse maigre par rapport au groupe placebo. [47]

L. paracasei augmente, de son côté, le taux d'angiopoétin-related protein 4, la protéine inhibitrice de la lipoprotéine lipase. [43]

L'administration de souches de *Lactobacillus acidophilus* NCFM et de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 diminuent la masse grasse, la résistance à l'insuline et préviennent le développement d'un diabète de type 2 chez les souris obèses. Néanmoins, les patients recevant *Lactobacillus acidophilus* NCFM ne voyait pas d'amélioration concernant l'inflammation systémique de bas grade.

L. gasseri, pour sa part, voyait, suite à son administration, une diminution significative de la masse grasse localisée au niveau sous-cutané, viscéral et abdominal ce qui se traduisait par une perte de poids. [43]

Bifidobacterium pseudocatenulatum CECT7765 présente quant à lui la capacité de réduire la prise de poids ainsi que l'intolérance au glucose et l'inflammation chez des souris présentant une obésité et une insulino-résistance. [84]

Une autre étude faite sur des souris suivants pendant sept semaines un régime hyperlipidique supplémenté par la bactérie *Bifidobacterium*

pseudocatenulatum pour le groupe test a montré chez ce dernier groupe une diminution du taux de cholestérol, de triglycérides mais aussi du glucose plasmatique. On observait également une diminution de l'insulino-résistance et une amélioration de la tolérance au glucose.

Une expérience similaire a été menée pendant treize semaines sur des souris avec un régime hyperlipidique complété, pour le groupe test, par la souche bactérienne *Lactobacillus rhamnosus*. Il a été montré que les souris tests gagnaient moins de poids que le groupe témoin et avaient une augmentation de la sensibilité à l'insuline. [114]

Bien sur, nous n'avons abordé ici que l'impact potentiel des probiotiques sur l'obésité et le diabète mais de nombreuses autres pathologies peuvent ou pourraient bénéficier de l'aide des probiotiques. On les retrouve évidemment lors de diarrhées aiguës qu'elles soient la conséquence d'une infection ou d'un traitement antibiotique. C'est d'ailleurs dans ce domaine que leur utilité a été la première fois démontrée. Mais on peut également les rencontrer dans le traitement des MICI comme la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique ou encore pour traiter l'entérocolite ulcéronécrosante du nourrisson à l'origine de décès ou de conséquences fonctionnelles digestives et neurologiques graves. L'intérêt des probiotiques a aussi été mis en avant dans l'infection gastrique à *Helicobacter pylori* Quelques pistes semblent également montrer leur intérêt dans les stéatohépatites non alcooliques. [120]

II. Les prébiotiques

1 - Définitions

Les prébiotiques sont des glucides ou des fibres indigestes mais capables d'être fermentés. Ces éléments vont alors pouvoir apporter un bénéfice à l'hôte en stimulant le développement ou l'activité de certaines bactéries et potentiellement ceux des probiotiques. [119] D'ailleurs, l'association de probiotiques et de prébiotiques est courante et porte le nom de synbiotique. [47]

Les prébiotiques qu'on rencontre le plus fréquemment sont l'oligofructose, l'inuline qui appartient aux fructanes, les galacto-oligosaccharides, les trans-galacto-oligosaccharides, les xylooligosaccharides, le lactulose et les oligosaccharides du lait maternel. [111], [114]

Les prébiotiques sont souvent des substrats sélectifs de certains phylas, genres ou espèces bactériens. [114]

Pour citer un exemple de sélectivité des prébiotiques pour certains genres bactériens, on peut nommer les galacto-oligosaccharides qui permettent la croissance des bactéries du groupe *Bifidobacterium*. [110]

2 - Modes d'actions

On peut de manière naturelle retrouver les prébiotiques dans l'alimentation en particulier dans le blé, les oignons, l'ail, les bananes... [47]

Les prébiotiques vont permettre une augmentation du nombre de bactéries intestinales bénéfiques et diminuer la présence des bactéries potentiellement pathogènes. [111]

L'intérêt de l'utilisation des prébiotiques pour combattre l'obésité a été avancé. En effet, ces derniers sont capables d'augmenter la concentration plasmatique de PYY et de GLP-1 mais aussi de stimuler la transcription du gène codant pour le proglucagon. [47]

Une fois fermentés par les bactéries intestinales, les prébiotiques ont la capacité de baisser le pH dans la lumière intestinale et de rendre de ce fait le milieu plus difficilement vivables pour les pathogènes tout en stimulant la production de mucine grâce à la production de SCFAs. [113]

Les prébiotiques vont également permettre de stimuler certaines voies métaboliques en particulier celles menant à la synthèse de SCFAs comme nous venons de l'évoquer, mais aussi le métabolisme des graisses et vont aussi augmenter l'absorption des ions (notamment ceux du fer, du calcium et du magnésium). Ils permettent aussi de stimuler l'immunité de l'hôte en stimulant la production de cytokines et d'IgA. [111]

3 - Effets indésirables des prébiotiques

Tant qu'ils ne sont pas métabolisés, les prébiotiques ont un effet osmotique et vont donc augmenter le débit d'eau dans l'intestin, se traduisant par des douleurs abdominales voir des diarrhées.

Ensuite, lors de leur fermentation, ils peuvent entraîner la production de gaz possiblement à l'origine de douleurs abdominales ou d'émission de gaz mais qui va par contre supprimer la diarrhée puisque cela va permettre de diminuer l'effet osmotique.

Sur du plus long terme, les prébiotiques sont capables de modifier l'activité métabolique du microbiote intestinal, permettant à ce dernier d'être plus efficace dans la fermentation du prébiotique et donc de diminuer les effets indésirables cités préalablement. [109]

Par ailleurs, du fait de la modification de la composition du microbiote intestinal, on peut retrouver une bonne partie des effets indésirables pouvant être imputée aux probiotiques.

4 - Quelques utilisations

Les Fructo-Oligosaccharides ou FOS sont des prébiotiques regroupant notamment l'inuline et l'oligofructose. L'oligofructose permet d'augmenter le développement des bactéries du genre Bifidobacterium ce qui augmente la tolérance au glucose mais aussi la sécrétion d'insuline après une ingestion de sucres et une diminution de l'état inflammatoire. L'inuline présente quant à elle des propriétés diminuant le risque d'obésité ainsi que le risque de développement d'un diabète de type 2 par amélioration de la tolérance au glucose. Elle possède également de nombreuses autres propriétés comme des qualités anti-ostéoporotiques. [47]

Par ailleurs, les prébiotiques diminuent l'activation d'un certain nombre de gènes impliqués dans l'inflammation et le développement du tissu adipeux. [43]

CONCLUSION

Le diabète et l'obésité prennent une place de plus en plus importante dans notre société. Aujourd'hui par exemple, on estime que la consommation de sucre par personne et par an dans les pays développés est de 68 kilogrammes soit 30 à 50 fois plus qu'en 1700. Le nombre de diabétiques augmente de 2,2% par an environ et pourrait atteindre 500 millions d'individus en 2050. L'obésité quant à elle n'est pas en reste. Ainsi, on estime que d'ici 2050, 60% de la population européenne serait touchée par l'obésité. Les pays développés ne sont pas les seuls touchés puisque certains pays émergents devraient atteindre un taux d'obésité proche de celui des États-Unis d'ici 2020. Cet état se répercute bien sûr sur le budget des dépenses de santé des différents gouvernements.

Ces inquiétantes prévisions poussent à rechercher des solutions nouvelles et innovantes où, les probiotiques et les prébiotiques, semblent avoir toute leur place. Les recherches d'Élie Metchnikov furent parmi les premières à émettre l'hypothèse que certaines bactéries administrées à des patients pouvaient améliorer l'état de santé de ces derniers. Depuis, de nombreuses études fleurissent, surtout ces dernières années sur l'impact bénéfique de certaines bactéries sur l'organisme. Même si nous n'avons principalement parlé ici que de leurs effets sur le diabète et l'obésité, on trouve de plus en plus d'applications pour les probiotiques et les prébiotiques domaine de la santé. On les retrouve aussi bien comme adjuvant dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin que dans le traitement des allergies.

La connaissance des mécanismes d'action par lesquels agissent ces produits, bien qu'encore méconnus par certains aspects, devrait pouvoir permettre d'améliorer encore la prise en charge de nombreux patients.

ANNEXES

Group...	Placebo								<i>Bifidobacterium breve</i> B-3								P†
	Week 0		Week 4		Week 8		Week 12		Week 0		Week 4		Week 8		Week 12		
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	
Body weight (kg)	71.2	2.3	70.4*	2.3	71.0	2.3	70.8	2.3	68.9	2.7	68.4*	2.6	68.6	2.6	69.1*	2.6	0.493
BMI (kg/m ²)	27.7	0.5	27.5*	0.6	27.6	0.5	27.8	0.5	27.1	0.6	26.9*	0.6	27.0	0.6	27.2	0.6	0.403
Muscle mass (kg)	45.1	2.0	44.5	1.9	44.9	1.9	44.8	1.9	44.8	2.1	44.8	2.1	44.9	2.1	45.7	2.1	0.376
Fat mass (kg)	23.5	1.0	23.3	1.1	23.3	1.1	23.4	1.0	21.5	1.0	21.0*	1.0	21.0	0.9	20.8**	0.9	0.046
Fat percentage (%)	33.3	1.3	33.3	1.3	33.2	1.3	33.3	1.2	31.3	1.0	30.8	1.1	30.8	1.0	30.3*	1.0	0.066
Waist:hip ratio	0.964	0.0084	0.960	0.0086	0.958*	0.0085	0.963*	0.0076	0.935	0.0091	0.932	0.0084	0.928**	0.0081	0.931**	0.0071	0.174

Mean value within a group was significantly different from that at baseline (week 0): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (one-sample t test).

Annexe 1: Tableau résumant les différents paramètres corporels mesurés tout au long des douze semaines d'études. (d'après : J. Minami, S. Kondo, N. Yanagisawa, T. Odamaki, J. Xiao, F. Abe, S. Nakajima, Y. Hamamoto, S. Saitoh, and T. Shimoda, "Oral administration of *Bifidobacterium breve* B-3 modifies metabolic functions in adults with obese tendencies in a randomised controlled trial")

La valeur de P inséré dans ce tableau ne concerne que la comparaison à la douzième semaine entre les deux populations étudiées. Les astérisques signent des valeurs significativement différentes d'avec les résultats des mesures à la semaine 0.

Group...	Placebo								<i>Bifidobacterium breve</i> B-3								P†
	Week 0		Week 4		Week 8		Week 12		Week 0		Week 4		Week 8		Week 12		
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	
Fasting blood glucose (mmol/l)‡	8.63	0.72	9.03	1.00	8.51	0.88	8.60	0.74	9.88	0.90	10.16	0.83	9.39	0.66	9.83	0.71	0.541
HbA1c (%)	7.0	0.3	7.2*	0.3	7.2*	0.3	7.3*	0.3	7.5	0.3	7.8*	0.3	7.8*	0.3	7.7	0.2	0.249
Glycoalbumin (%)	18.9	0.7	18.8	0.8	18.8	0.7	19.0	0.8	21.0	1.0	20.6	0.8	20.2	0.7	20.3	3.1	0.213
1,5-Anhydroglucitol (µg/ml)	9.8	1.3	10.3	1.4	10.5	1.4	10.6	1.4	6.0	0.8	5.7	0.8	5.7	0.8	6.6	0.8	0.725
Insulin (µU/ml)‡§	39.9	10.3	31.8*	8.9	29.1*	8.6	39.4	12.7	32.0	6.1	25.5	4.3	25.9	5.4	37.7	8.0	0.096
AST (IU/l)‡	26.4	3.0	26.6	2.5	26.8	2.6	27.2	3.3	29.7	5.4	28.9	4.5	27.9	4.7	29.5	5.9	0.624
ALT (IU/l)‡	28.6	2.6	29.7	3.1	30.2	3.2	30.6	3.1	34.0	5.3	35.1	5.7	34.2	5.7	32.2	4.9	0.156
ALP (IU/l)‡	209.5	12.3	211.9	13.9	203.5	12.5	207.2	12.0	242.7	20.0	241.7	20.1	230.2*	18.0	234.3	18.4	0.704
Lactate dehydrogenase (IU/l)	199.0	7.9	197.1	7.2	197.8	7.8	199.4	8.5	197.4	6.6	197.6	8.3	196.2	8.6	197.2	8.2	0.936
γ-GTP (IU/l)‡	39.0	6.1	39.6	7.0	42.4	8.1	44.0*	8.4	37.0	7.1	41.7	8.1	39.6	8.2	37.8	7.2	0.011
Total bilirubin (µmol/l)‡	8.90	0.51	11.12*	0.68	10.60*	0.68	10.09	0.68	10.43	0.86	10.77	0.86	10.09	0.86	10.43	0.86	0.233
hCRP (mg/l)‡	0.88	0.14	0.90	0.19	0.93	0.18	1.10	0.18	0.98	0.25	1.27	0.32	1.05	0.23	0.90*	0.27	0.039

‡ Analysis for within-group and intergroup differences was performed after logarithmic transformation of the values.

* Mean value within a group was significantly different from that at baseline (week 0) ($P < 0.05$; one-sample t test).

Annexe 2: Tableau résumant les différents paramètres sanguins mesurés tout au long des douze semaines d'études. (d'après : J. Minami, S. Kondo, N. Yanagisawa, T. Odamaki, J. Xiao, F. Abe, S. Nakajima, Y. Hamamoto, S. Saitoh, and T. Shimoda, "Oral administration of *Bifidobacterium breve* B-3 modifies metabolic functions in adults with obese tendencies in a randomised controlled trial")

La valeur de P inséré dans ce tableau ne concerne que la comparaison à la douzième semaine entre les deux populations étudiées.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] H. Tlaskalová-Hogenová, R. Štěpánková, H. Kozáková, T. Hudcovic, L. Vannucci, L. Tučková, P. Rossmann, T. Hrnčíř, M. Kverka, Z. Zákostelská, K. Klimešová, J. Příbylová, J. Bártová, D. Sanchez, P. Fundová, D. Borovská, D. Šrůtková, Z. Zídek, M. Schwarzer, P. Drastich, and D. P. Funda, “The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases,” *Cell Mol Immunol*, vol. 8, no. 2, pp. 110–120, Mar. 2011.
- [2] “P. Nguyen Van, Le microbiote intestinal, Probiobio.”
- [3] “Service médico-scientifique PiLeJe, Le microbiote intestinal dans tous ses états.”
- [4] N. Hara, A. K. Alkanani, D. Ir, C. E. Robertson, B. D. Wagner, D. N. Frank, and D. Zipris, “2-The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes,” *Clinical Immunology*, vol. 146, no. 2, pp. 112–119, Feb. 2013.
- [5] J. M. Evans, L. S. Morris, and J. Marchesi, “5-The gut microbiome: The role of a virtual organ in the endocrinology of the host.,” *J Endocrinol*, Jul. 2013.
- [6] J. M. Evans, L. S. Morris, and J. R. Marchesi, “The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host,” *J Endocrinol*, vol. 218, no. 3, pp. R37–R47, Sep. 2013.
- [7] M.-J. Butel, “Le microbiote intestinal du prématuré : ses caractéristiques, sa mise en place, ses facteurs d’influence.” Séminaire GEN-IF/Guigoz 2014 Gastroentérologie néonatale, Nov-2014.
- [8] H. Tlaskalová-Hogenová, R. Štěpánková, H. Kozáková, T. Hudcovic, L. Vannucci, L. Tučková, P. Rossmann, T. Hrnčíř, M. Kverka, Z. Zákostelská, K. Klimešová, J. Příbylová, J. Bártová, D. Sanchez, P. Fundová, D. Borovská, D. Šrůtková, Z. Zídek, M. Schwarzer, P. Drastich, and D. P. Funda, “1-The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases,” *Cell Mol Immunol*, vol. 8, no. 2, pp. 110–120, Mar. 2011.
- [9] V. Bonaiti, “Importance de la flore microbienne intestinale dans les pathologies humaines.,” Lyon 1, Lyon, 2012.

- [10] C. Hoffmann, S. Dollive, S. Grunberg, J. Chen, H. Li, G. D. Wu, J. D. Lewis, and F. D. Bushman, "Archaea and Fungi of the Human Gut Microbiome: Correlations with Diet and Bacterial Residents," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 6, p. e66019, juin 2013.
- [11] J. A. Gosling, P. F. Harris, I. Whitmore, and P. L. T. Willan, *Anatomie humaine: Atlas en couleurs*. De Boeck Supérieur, 2003.
- [12] K. L. Moore and A. F. Dalley, *Anatomie médicale. Aspects fondamentaux et applications cliniques*. De Boeck Supérieur, 2001.
- [13] W. Ganong, *Physiologie médicale*. De Boeck Supérieur, 2005.
- [14] *Physiologie humaine*. Wolters Kluwer France, 2001.
- [15] S. H. Nguyen and R. Bourouina, *Manuel d'anatomie et de physiologie*. Wolters Kluwer France, 2008.
- [16] "Encyclopédie Larousse en ligne - villosité."
- [17] M. H. Lodish, M. A. Berk, P. Matsudaira, and J. Darnell, *Biologie moléculaire de la cellule*. De Boeck Supérieur, 2005.
- [18] « The Crumbs complex: from epithelial-cell polarity to retinal degeneration », Natalia A. Bulgakova* and Elisabeth Knust, Max-Planck Institute for Molecular Cell Biology and Genetics, Pfotenhauerstr. 108, Dresden, Germa
- [19] W. Michel, *Inflammation (volume 4 - coffret rétine)*. Lavoisier, 2014.
- [20] A. Zahraoui, "Les jonctions serrées : Plate-forme de régulation de la prolifération et de la polarité cellulaires," *M/S : médecine sciences*, vol. 20, no. 5, pp. 580–585, 2004.
- [21] A. Fasano, "Comprendre le dialogue : l'interaction entre les micro-organismes et l'hôte" *Annales Nestlé (Ed. française)*, vol. 67, no. 1, pp. 9–18, 2009.
- [22] A. Caricilli and M. Saad, "11-The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance," *Nutrients*, vol. 5, no. 3, pp. 829–851, Mar. 2013.
- [23] A. P. et N. Petriccioli, "Microbiote intestinal, obésité et résistance à l'insuline," *Médecine interne générale*, vol. Volume 317, no. 41, pp. 2236–2238, Nov. 2011.
- [24] C. M. Guinane and P. D. Cotter, "Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ," *Therap Adv Gastroenterol*, vol. 6, no. 4, pp. 295–308, Jul. 2013.
- [25] A. P. et N. Petriccioli, "3-Microbiote intestinal, obésité et résistance à l'insuline," *Médecine interne générale*, vol. Volume 317, no. 41, pp. 2236–2238, Nov. 2011.
- [26] C. M. Guinane and P. D. Cotter, "4-Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ,"

- Therap Adv Gastroenterol*, vol. 6, no. 4, pp. 295–308, Jul. 2013.
- [27] P. Gérard, “Le microbiote intestinal: composition et fonctions,” *Phytothérapie*, vol. 9, no. 2, pp. 72–75, Apr. 2011.
- [28] I. Sekirov, S. L. Russell, L. C. M. Antunes, and B. B. Finlay, “Gut Microbiota in Health and Disease,” *Physiological Reviews*, vol. 90, no. 3, pp. 859–904, Jul. 2010.
- [29] G. Musso, R. Gambino, and M. Cassader, “Obesity, Diabetes, and Gut Microbiota,” *Diabetes Care*, vol. 33, no. 10, pp. 2277–2284, Oct. 2010.
- [30] N. M. Delzenne, A. M. Neyrinck, and P. D. Cani, “6-Implication du microbiote intestinal dans l’obésité et les pathologies associées: quelles perspectives thérapeutiques et nutritionnelles ?,” *Obésité*, vol. 7, no. 4, pp. 234–239.
- [31] “Workshop Overview - Microbial Ecology in States of Health and Disease - NCBI Bookshelf.”
- [32] P. H. Sridevi Devaraj, “9-The Human Gut Microbiome and Body Metabolism: Implications for Obesity and Diabetes.,” *Clinical chemistry*, 2013.
- [33] C. M. Guinane and P. D. Cotter, “Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ,” *Therap Adv Gastroenterol*, vol. 6, no. 4, pp. 295–308, Jul. 2013.
- [34] “Interaction Between the Microbiome and Health and Environment - The Human Microbiome, Diet, and Health - NCBI Bookshelf.”
- [35] M. Manco, L. Putignani, and G. F. Bottazzo, “Gut Microbiota, Lipopolysaccharides, and Innate Immunity in the Pathogenesis of Obesity and Cardiovascular Risk,” *Endocrine Reviews*, vol. 31, no. 6, pp. 817–844, décembre 2010.
- [36] J.-M. Lecerf, “Prébiotiques, flore intestinale, inflammation, obésité,” *Phytothérapie*, vol. 9, no. 2, pp. 106–112, Mar. 2011.
- [37] C. M. Guinane and P. D. Cotter, “Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ,” *Therap Adv Gastroenterol*, vol. 6, no. 4, pp. 295–308, Jul. 2013.
- [38] J.-C. Lagier, F. Armougom, M. Million, P. Hugon, I. Pagnier, C. Robert, F. Bittar, G. Fournous, G. Gimenez, M. Maraninchi, J.-F. Trape, E. V. Koonin, B. La Scola, and D. Raoult, “Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study,” *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 18, no. 12, pp. 1185–1193, Dec. 2012.
- [39] “MALDI-TOF déshabille toutes les bactéries.” Site web Iserm (Institut national

- de la santé et de la recherche médicale) : Actualité du 14 juin 2013
- [40] B.-S. Kim, Y.-S. Jeon, and J. Chun, "Current Status and Future Promise of the Human Microbiome," *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, vol. 16, no. 2, pp. 71–79, Jun. 2013.
- [41] P. Gérard, "Le microbiote intestinal: composition et fonctions," *Phytothérapie*, vol. 9, no. 2, pp. 72–75, Apr. 2011.
- [42] F. Barbut and F. Joly, "Le microbiote intestinal: équilibre et dysbiose," in *Hépatogastro et oncologie digestive*, vol. 17 n°6, 2010, pp. 511–520.
- [43] U. Vyas and N. Ranganathan, "Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Gut and Beyond," *Gastroenterol Res Pract*, vol. 2012, 2012.
- [44] R. L. Greer, A. Morgun, and N. Shulzhenko, "7-Bridging immunity and lipid metabolism by gut microbiota," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 132, no. 2, pp. 253–262, Aug. 2013.
- [45] F. Purchiaroni, A. Tortora, M. Gabrielli, F. Bertucci, G. Gigante, G. Ianiro, V. Ojetti, E. Scarpellini, and A. Gasbarrini, "The role of intestinal microbiota and the immune system," *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, vol. 17, no. 3, pp. 323–333, Feb. 2013.
- [46] A. Grosdemange, "Impact du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'enfant," Université de Lorraine, Nancy, 2014.
- [47] "Probiotics, Prebiotics, Gut Microbiota, and Obesity | Bariatric Times." .
- [48] C. T. Berger and M. Recher, "Immuno-régulation par les lymphocytes T régulateurs.," pp. 76–81, 2015.
- [49] G. Sterkers, H. Pirenne-Ansart, A. Eljaafari-Corbin, and Y. Aujard, "Le système immunitaire à la naissance: entre l'apprentissage du soi et du non-soi," *médecine/sciences*, vol. 9, no. 3, p. 307, 1993.
- [50] B. Weill and F. Batteux, *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. De Boeck Supérieur, 2003.
- [51] Lebranchu Y., "Tolérance, aspects théoriques et cliniques: implications pour la transplantation," 2004.
- [52] C. A. Janeway, K. Murphy, P. Travers, and M. Walport, *Immunobiologie*. De Boeck Supérieur, 2009.
- [53] N. Bouladoux, T. W. Hand, S. Naik, and Y. Belkaid, "Microbiote et lymphocytes T: les meilleurs ennemis," *Med Sci (Paris)*, vol. 29, no. 4, Apr. 2013.
- [54] Poligné, "La capacité du système immunitaire intestinal à tolérer les bactéries commensales et à les 'utiliser' pour être plus réactif face aux pathogènes."

2011.

- [55] A. Pepin, "Régulation de l'apoptose des lymphocytes T par les protéines de la famille TSC-22D," phdthesis, Université Paris Sud - Paris XI, 2011.
- [56] O. Boyer and S. Jacquot, "Physiologie et physiopathologie des lymphocytes T régulateurs CD4⁺CD25⁺," *Hématologie*, vol. 12, no. 3, pp. 164–170, Jun. 2006.
- [57] « Lymphocytes T régulateurs et Transplantation hépatique : modulation de l'activité des lymphocytes T régulateurs CD4⁺ CD25⁺ par les drogues immunosuppressives » de Celine Miroux : document sur archives-ouvertes.fr
- [58] "Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactérienne et virale : analyses in vitro et études in vivo chez des modèles murins." : une thèse de Mélanie Gagnon
- [59] "Prévalence et incidence du diabète" : Article publié le 06/10/2009 sur le site de l'InVS (Institut de Veille Sanitaire)
- [60] B. M. Carvalho and M. J. Abdalla Saad, "8-Influence of Gut Microbiota on Subclinical Inflammation and Insulin Resistance," *Mediators Inflamm*, vol. 2013, 2013.
- [61] "OMS | Diabète," *WHO - Aide-mémoire N°312 - Janvier 2015*
- [62] "Nutrition et obésité : Nouvelles mesures pour 2008 & Évaluation des messages accompagnant les publicités de l'industrie agro-alimentaire" - Dossier de Presse publié le Lundi 4 février 2008 sur le site de L'Inpes (Institut national de prévention et d'éducation pour la santé)
- [63] "FMPMC-PS - Diabétologie - Questions d'internat."
- [64] A. C. Gomes, A. A. Bueno, R. G. M. de Souza, and J. F. Mota, "Gut microbiota, probiotics and diabetes," *Nutrition Journal*, vol. 13, no. 1, p. 60, Jun. 2014.
- [65] F. Castiglione, P. Tieri, A. De Graaf, C. Franceschi, P. Lio, B. Van Ommen, C. Mazza, A. Tuchel, M. Bernaschi, C. Samson, T. Colombo, G. C. Castellani, M. Capri, P. Garagnani, S. Salvioli, V. A. Nguyen, I. Bobeldijk-Pastorova, S. Krishnan, A. Cappozzo, M. Sacchetti, M. Morettini, and M. Ernst, "The Onset of Type 2 Diabetes: Proposal for a Multi-Scale Model," *JMIR Res Protoc*, vol. 2, no. 2, Oct. 2013.
- [66] Site Web : "SFEndocrino.org"
- [67] "OMS | Obésité et surpoids," *WHO - Aide-mémoire N°311 - Janvier 2015*
- [68] "Obésité." *Dossier réalisé en collaboration avec Arnaud Basdevant, nutritionniste et chercheur, unité Inserm U872, Institut hospitalo-universitaire ICAN (Institute of cardiology metabolism and nutrition), Paris, président du Plan*

National Obésité 2010-2013 - Janvier 2014. (Source : Inserm)

- [69] HAS, “Surpoids et obésité de l’adulte : prise en charge médicale de premiers recours.” Sep-2011.
- [70] “Les complications du diabète type 1 et type 2” *Diabète - Association Française des Diabétiques – AFD* – par le Docteur Ducloux
- [71] “Obésité et arthrose : quels liens ?” Francis Berenbaum, Jérémie Sellam - *Revue du Rhumatisme* 75 (2008) 937–938
- [72] “Profil psychologique du patient obèse” par V. Giusti, M. Panchaud - *Rev Med Suisse* 2007 (n°105)
- [73] N. Hara, A. K. Alkanani, D. Ir, C. E. Robertson, B. D. Wagner, D. N. Frank, and D. Zipris, “The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes,” *Clin. Immunol.*, vol. 146, no. 2, pp. 112–119, Feb. 2013.
- [74] Z. P. et Al, “10-La flore intestinale, responsable de notre poids ?,” *Nutrition/Obésité*, vol. Volume 196, no. 12, pp. 662–666, Mar. 2009.
- [75] “Projet TLR-9 in inflammation (Transport intracellulaire/signalisation du TLR-9 et son rôle dans l’inflammation...) | ANR - Agence Nationale de la Recherche.”
- [76] J. Owen, J. Punt, and S. Stranford, *Immunologie - 7e édition: Le cours de Janis Kuby avec questions de révision*. Dunod, 2014.
- [77] B. Verillaud, *Propriétés biologiques du récepteur TLR-3 dans les carcinomes des voies aérodigestives supérieures : contribution à l’oncogénèse et intérêt comme cible thérapeutique*. Paris 11, 2015.
- [78] P. van Endert, “Apprêtement des antigènes présentés par les molécules de classe I du CMH,” *médecine/sciences*, vol. 22, no. 8–9, pp. 727–732, Aug. 2006.
- [79] P. Parham, *Le système immunitaire*. De Boeck Supérieur, 2003.
- [80] V. Robert, E. Triffaux, M. Savignac, and L. Pelletier, “La signalisation calcique dans les lymphocytes T,” *médecine/sciences*, vol. 28, no. 8–9, pp. 773–779, Aug. 2012.
- [81] M. CONSTANTINE SAMAAN, M.D. , MRCPI , MRCPCH ET AMIRA KLI P, PH.D., “L’obésité, l’insulinorésistance et le diabète de type 2 : l’interaction entre les cellules adipeuses et les cellules musculaires,” vol. 8, no. 7, Sep. 2008.
- [82] D. Sanyal, “Diabetes is predominantly an intestinal disease,” *Indian J Endocrinol Metab*, vol. 17, no. Suppl1, pp. S64–S67, Oct. 2013.
- [83] J.-F. Tanti, F. Ceppo, J. Jager, and F. Berthou, “Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance,” *Front Endocrinol*

- (*Lausanne*), vol. 3, p. 181, 2012.
- [84] S. Naimi, "Isolement, caractérisation et étude 'in vitro' de l'activité anti-inflammatoire de différentes souches probiotiques," Université Laval, 2014.
- [85] G. G. Muccioli, D. Naslain, F. Backhed, C. S. Reigstad, D. M. Lambert, N. M. Delzenne, and P. D. Cani, "The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis," *Mol Syst Biol*, vol. 6, p. 392, Jul. 2010.
- [86] Vanessa DEVEAUX, "Mise en évidence de deux nouvelles fonctions du système endocannabinoïde dans la physiopathologie hépatique: propriétés stéatogènes du récepteur CB2 et profibrogéniques du récepteur CB1," Université Paris Est, 2008.
- [87] Zoltan Pataky, Elisabetta Bobbioni-Harsch, Anne Carpentier, Alain Golay, "Le système endocannabinoïde dans l'obésité," no. 379, 2013.
- [88] "Adiponectine : de l'adipocyte au muscle," *Annales d'Endocrinologie* Vol 65, N° SUP 1 - février 2004 pp. 143 - Doi : AE-02-2004-65-S1-0003-4266-101019-ART06
- [89] S. Devaraj, P. Hemarajata, and J. Versalovic, "The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes," *Clin. Chem.*, vol. 59, no. 4, pp. 617–628, Apr. 2013.
- [90] C. A. Janeway and P. Travers, *Immunobiologie: le système immunitaire fondamental et pathologique*. De Boeck Supérieur, 2003.
- [91] P. Tissières, "Rôle et régulation de MD-2, la protéine réceptrice de l'endotoxine bactérienne," University of Geneva, 2009.
- [92] CHABY, *Des endotoxines aux lipopolysaccharides*. Lavoisier, 2010.
- [93] J. J. Kim and D. D. Sears, "TLR-4 and Insulin Resistance," *Gastroenterology Research and Practice*, vol. 2010, p. e212563, Aug. 2010.
- [94] CHATENOU and BACH, *Immunologie - 6e édition*. Lavoisier, 2012.
- [95] E. Macho Fernandez, "Rôle du peptidoglycane et du récepteur NOD2 dans les capacités immunorégulatrices des lactobacilles," Thèse de doctorat, École doctorale Biologie-Santé, Lille, France, 2011.
- [96] I. Kimura, D. Inoue, K. Hirano, and G. Tsujimoto, "The SCFA Receptor GPR43 and Energy Metabolism," *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 5, Jun. 2014.
- [97] B. M. Carvalho and M. J. Abdalla Saad, "Influence of Gut Microbiota on Subclinical Inflammation and Insulin Resistance," *Mediators of Inflammation*, vol. 2013, p. e986734, Jun. 2013.
- [98] "Acides gras à chaîne courte : effets sur le fonctionnement gastro-intestinal et

- potentiel thérapeutique en Gastroentérologie,” *Gastroentérologie Clinique et Biologique* – Vol 23, N° 6-7 - juillet 1999 p. 761 - Doi : GCB-06-1999-23-6-0399-8320-101019-ART10
- [99] “Short chain fatty acids and colonic health.” par Hijova E, Chmelarova A. - Référence sur NCBI : *Bratisl Lek Listy*. 2007;108(8):354-8.
- [100] A. Puddu, R. Sanguineti, F. Montecucco, and G. L. Viviani, “Evidence for the Gut Microbiota Short-Chain Fatty Acids as Key Pathophysiological Molecules Improving Diabetes,” *Mediators of Inflammation*, vol. 2014, p. e162021, Aug. 2014.
- [101] I. Sekirov, S. L. Russell, L. C. M. Antunes, and B. B. Finlay, “Gut Microbiota in Health and Disease,” *Physiological Reviews*, vol. 90, no. 3, pp. 859–904, Jul. 2010.
- [102] E. Gaudier and C. Hoebler, “Rôles physiologiques des mucines dans la barrière colique,” *Gastroentérologie Clinique et Biologique* - Vol 30, N° 8-9 - août 2006 pp. 965-974 – Doi : GCB-08-2006-30-8-9-0399-8320-101019-200519197
- [103] D. Inoue, G. Tsujimoto, and I. Kimura, “Regulation of Energy Homeostasis by GPR41,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 5, May 2014.
- [104] P. Zhu, Y. Y. Goh, H. F. A. Chin, S. Kersten, and N. S. Tan, “Angiopoietin-like 4: a decade of research,” *Bioscience Reports*, vol. 32, no. 3, pp. 211–219, Jun. 2012.
- [105] S. Mandard, F. Zandbergen, E. van Straten, W. Wahli, F. Kuipers, M. Müller, and S. Kersten, “The Fasting-induced Adipose Factor/Angiopoietin-like Protein 4 Is Physically Associated with Lipoproteins and Governs Plasma Lipid Levels and Adiposity,” *J. Biol. Chem.*, vol. 281, no. 2, pp. 934–944, Jan. 2006.
- [106] A. P. B. Moreira, T. F. S. Teixeira, M. ^a. do C. G. Peluzio, and R. de C. G. Alfenas, “Gut microbiota and the development of obesity,” *Nutrición Hospitalaria*, 2012
- [107] F. Backhed, H. Ding, T. Wang, L. V. Hooper, G. Y. Koh, A. Nagy, C. F. Semenkovich, and J. I. Gordon, “The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 101, no. 44, pp. 15718–15723, Nov. 2004.
- [108] F. Benhamed, A. Poupeau, and C. Postic, “Le facteur de transcription ChREBP: Un modulateur clé de la sensibilité à l’insuline ?,” *médecine/sciences*, vol. 29, no. 8–9, pp. 765–771, Aug. 2013.

- [109] *Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives*. John Libbey Eurotext, 2004.
- [110] K. Shimizu, H. Ogura, T. Asahara, K. Nomoto, M. Morotomi, O. Tasaki, A. Matsushima, Y. Kuwagata, T. Shimazu, and H. Sugimoto, “Probiotic/Synbiotic Therapy for Treating Critically Ill Patients from a Gut Microbiota Perspective,” *Dig Dis Sci*, vol. 58, no. 1, pp. 23–32, Jan. 2013.
- [111] Organisation mondiale de gastroentérologie, “Recommandation pratique : Probiotiques et prébiotiques.” mai-2008.
- [112] N. K. Ganguly, S. K. Bhattacharya, B. Sesikeran, G. . Nair, B. S. Ramakrishna, H. P. S. Sachdev, V. K. Batish, A. S. Kanagasabapathy, V. Muthuswamy, S. . Kathuria, V. M. Katoch, K. Satyanarayana, G. . Toteja, M. Rahi, S. Rao, M. . Bhan, R. Kapur, and R. Hemalatha, “ICMR-DBT Guidelines for Evaluation of Probiotics in Food,” *Indian J Med Res*, vol. 134, no. 1, pp. 22–25, Jul. 2011.
- [113] G. A. Preidis and J. Versalovic, “Targeting the Human Microbiome With Antibiotics, Probiotics, and Prebiotics: Gastroenterology Enters the Metagenomics Era,” *Gastroenterology*, vol. 136, no. 6, pp. 2015–2031, May 2009.
- [114] Pascal Bally, “Microbiote intestinale et développement de l’obésité : une approche par métagénomique et métabolomique du concept de répondeur et non-répondeur,” Sciences agronomiques, biotechnologies agro-alimentaires, Paris SUD, 2015.
- [115] Encyclopédie Larousse en ligne : “Iliia Ilitch Metchnikov” ou “Élie Metchnikoff.”
- [116] S. Gordon, “Elie Metchnikoff: father of natural immunity,” *Eur. J. Immunol.*, vol. 38, no. 12, pp. 3257–3264, Dec. 2008.
- [117] R. J. Siezen and G. Wilson, “Probiotics genomics,” *Microbial Biotechnology*, vol. 3, no. 1, pp. 1–9, Jan. 2010.
- [118] J. Minami, S. Kondo, N. Yanagisawa, T. Odamaki, J. Xiao, F. Abe, S. Nakajima, Y. Hamamoto, S. Saitoh, and T. Shimoda, “Oral administration of *Bifidobacterium breve* B-3 modifies metabolic functions in adults with obese tendencies in a randomised controlled trial,” *J Nutr Sci*, vol. 4, May 2015.
- [119] Y. K. Nakamura and S. T. Omaye, “Metabolic diseases and pro- and prebiotics: Mechanistic insights,” *Nutrition & Metabolism*, vol. 9, no. 1, p. 60, Jun. 2012.
- [120] M.-A. Piquet, R. Gloro, A.-M. Justum, and J.-M. Reimund, “Les probiotiques, des outils thérapeutiques pour moduler les effets biologiques de la flore intestinale: une introduction,” *Obes*, vol. 2, no. 3, pp. 227–233, Oct. 2007.

RÉSUMÉ

Avec de plus en plus de patients touchés par un diabète et/ou l'obésité, la recherche aspire à trouver des alternatives et des compléments à leur traitement. Ces pathologies sont systématiquement associés à un état inflammatoire de bas grade causé notamment par le passage de LPS dans le sang depuis l'intestin. Le LPS traverse la barrière de l'épithélium intestinal grâce à une augmentation de la perméabilité entre les entérocytes via différents mécanismes.

Le microbiote intestinal joue un rôle important dans la régulation de cette perméabilité mais intervient également lors de la synthèse des SCFAs qui ont la capacité de modifier l'expression de l'occludine et de la zonuline mais aussi d'avoir une action anti-inflammatoire contrant de ce fait l'effet du LPS.

Les probiotiques et les prébiotiques semblent ont place importante à prendre dans la prise en charge des patients diabétiques et obèses.

ABSTRACT

With more and more patients affected by diabetes and obesity, the research longs to find alternatives and complementary treatments. These pathologies are systematically associated with a low grade inflammation caused by the passage of LPS in the blood from the gut. LPS crosses the barrier of the intestinal epithelium due to an increase of the permeability between enterocytes via various mechanisms.

The importance of the intestinal microbiota also intervenes during the synthesis of the SCFAs which have the capacity to decrease the intestinal permeability but also have an anti-inflammatory action doubling of this seemed like of the LPS.

Probiotics and prebiotics seem to be important in the management of patients with diabetes and obesity.

Mots clés :

LPS, microbiote intestinal, diabète, obésité, SCFAs, probiotiques, prébiotique