

ACADÉMIE D'ORLÉANS- UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2021

N°37

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par
GEIGER MALLIA

née à Tours le 7 avril 1995

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 3 juin 2021

LE MICROBIOTE INTESTINAL DANS LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES
INTESTINALES: APPLICATION A LA PELVIC RADIATION DISEASE

JURY

Président : Mr THIBAUT Gilles, Professeur des Universités- Practicien hospitalier -TOURS

Membres : Mr.LANOTTE Philippe, Professeur des Universités- Practicien hospitalier,
Faculté de Pharmacie –TOURS

Mme.SÉMONT Alexandra, Chercheuse à l'IRSN – FONTENAY-AUX-ROSES

Mr.TRETON Xavier, Professeur des Universités- Practicien hospitalier,
Faculté de Médecine - PARIS

ANNEE : 2020 - 2021

Directrice : Pr Véronique MAUPOIL

Directeur Adjoint : M. Hervé MARCHAIS

Assesseurs : Pr Daniel ANTIER, M. Matthieu JUSTE, Pr Karine MAHEO, Mme Audrey OUDIN

ENSEIGNANTS

10 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
GIRAUDEAU	Bruno	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE
THIBAUT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

GUILLOTEAU	Denis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

35 MAITRES DE CONFÉRENCES

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BAKRI	Françoise	HYGIENE SANTE PUBLIQUE & TOXICOLOGIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BOUVIN-PLY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
DELAYE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
JUSTE	Matthieu	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
LAJOIE	Laurie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MARCHAIS	Hervé	PHARMACIE GALENIQUE
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MUNNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
OMBETTA-GOKA	Jean-Edouard	CHIMIE ORGANIQUE
ODIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOUILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA
VIERRON	Emilie	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

3 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
RESPAUD	Renaud	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

VANIER	Antoine	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
--------	---------	-----------------------------

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

2 CHARGÉS DE RECHERCHE

MEVELEC	Marie-Noëlle	INRAE
MOIRE	Nathalie	INRAE

1 PHARMACIEN D'OFFICINE – PAST (Enseignant Associé)

JOYEUX	VINCENT	Filière Pharmacie
--------	---------	-------------------

2 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

1 ATER (Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche)

HEREDIA-MARQUEZ	Arturo Vladimir	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
-----------------	-----------------	--



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 04/06/2021

L'étudiant : Mallia Geiger

Le Doyen de la Faculté Mme Véronique Maupoil

Remerciements

Dans un premier temps, je tiens à remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer cette thèse d'exercice. Je remercie le Pr. Gilles Thibault pour avoir consenti de présider cette thèse, ainsi qu'au Pr. Philippe Lanotte et le Dr. Alexandra Sémont d'en avoir accepté la direction. Enfin merci au Pr. Xavier Treton de se prêter au rôle d'examineur.

A Alexandra, une attention plus particulière, merci pour ton aide et de ton soutien tout au long de la rédaction. C'est une chance et un vrai plaisir de travailler avec toi. Merci également à Fabien pour ta précieuse relecture, à Charlotte d'avoir assuré les manips dans les derniers temps de la rédaction. De la même façon merci à Martin et à Lydia pour me nourrir mais aussi pour leur présence plus qu'agréable, ainsi qu'à tous les autres membres du laboratoire du LRMed. Enfin merci à Alexia, pour tout ce que tu as pu m'apporter depuis notre rencontre.

A mes amis, merci d'être présents au quotidien vous êtes un soutien inconditionnel. Je pense à ceux qui sont là depuis toujours, Elsa (tpqtpt), Anna, Louisa (presque, mais c'est tout comme !!). Mes amis depuis le collège Nico, Hanna, Emilie, Taki, Adam (et oui !!), le lycée, Zoum, Charkit, Sandrine, Roro et Xav. Mais également Pierre avec qui nous nous sommes suivis jusqu'en pharma et j'espère pendant encore plus longtemps. A mes amis de la fac de pharmacie, Marie évidemment, ma cops, à nos mardis soirs et nos prédictions (on pourrait faire carrière), à Antoine (la RTT forever ☺), Nico (mention spéciale pour nos ronéos de qualité), Efflam, la meute la plus pétée (et la meilleure paradoxalement), à Emilien, Paul, Charles, Rémi, Julien, Mathieu. Merci à Adrien, Romain et Yacout, je n'aurais pas trouvé meilleur accompagnement pour les TP/TD. Ces années auraient été tout autre chose sans vous. Pour finir, merci à Mathilde sans qui un samedi sur deux auraient été bien triste !!!

A ma famille les meilleures personnes qui existent sur terre (en toute objectivité), maman, daddy, Arturo, Loulou, Gilles et Hélène, merci !

Pour clore ces remerciements, merci à toi Yoann muiañ-karet, pour ta générosité et ton altruisme qui t'est si caractéristique. Je sais à quel point cela te tient à cœur.

Remerciements	4
Tables des Abréviations	8
Tables des Figures et des Tableaux	11
ETAT DE L'ART	12
Chapitre I : Le système digestif	13
I.Fonction des intestins	14
II.Structure du tube digestif	15
A.La spécificité structurelle	16
1.L'intestin grêle	16
a.L'épithélium	16
Les entérocytes	17
Les cellules caliciformes	17
Les cellules entéro-endocrines	17
Les cellules de Paneth	18
Les tuft cells	18
Les cellules souches intestinales (CSI)	18
2.La muqueuse et sous muqueuse	19
3.Le côlon	20
a.L'épithélium	20
Chapitre II. Le microbiote	21
I.De l'utilisation à la découverte du microbiote	21
III.Le microbiote dans ses détails	26
IV.Les microbiotes humain	28
V.La systématique du microbiote	29
A.Un règne dominant	29
B.L'évolution du microbiote en fonction de l'âge	30
C.Microbiote et structure intestinale	30
1.Effet direct	31
a.Compétition	31
b.Production de métabolite	31
2.Effets indirects	32
a.Induction de la production de mucus	32
b.Microbiote et protéines de jonction	33
c.Effet sur le renouvellement cellulaire	33
d.Production de métabolites anti-microbiens	33
D.Microbiote et métabolisme	35
1.Métabolisme des glucides	35
2.Métabolisme des protéines	36
3.Métabolisme des lipides	36
4.Métabolisme des gaz	37
COMPARAISON ENTRE MICIET PRD	39
Les MICI et la PRD	40
I.Présentation des MICI	40
A.L'origine des MICI	40
1.Origine génétique	40
2.Origine environnementale	40
B.Définir les MICI	41
C.Diagnostic	42
D.Facteurs de risque des maladies	42
II.La PRD	44

A.Origine de la PRD	44
1.Utilisation de la radiothérapie	44
2.Fonctionnement de la radiothérapie	45
3.Conséquences de la radiothérapie sur le tissu sain : à l'origine de la PRD	45
4.Aménagement des protocoles de radiothérapie	46
5.Incidence de la PRD	46
B.Définir la PRD	47
C.Diagnostic	48
1.Difficultés rencontrées	48
D.Facteurs de risques	48
III.Les manifestations cliniques des MICI et PRD	50
B.Symptômes des MICI	53
1.RCH	53
2.MC	54
3.PRD	54
IV.Manifestations histologiques	57
V.Le processus inflammatoire	60
VI.Les cellules immunitaires	65
A.Les cellules myéloïdes	65
1.Les polynucléaires neutrophiles	65
a.Généralités	65
b.MICI	66
c.PRD	68
2.Les macrophages	72
a.Généralités	72
b.MICI	73
c.PRD	77
3.Mastocytes	80
a.Généralités	80
b.MICI	80
c.PRD	83
A.Les cellules lymphoïdes	86
1.Généralités	86
a.MICI	90
b.PRD	91
VII.Microbiote et système immunitaire	93
A.Une évolution coopérative	93
B.Microbiote et développement immunitaire	94
C.Microbiote dans la réponse inflammatoire	95
1.Inhibition de la réponse inflammatoire et régulation du système immunitaire	95
a.Les produits des micro-organismes peuplant le microbiote	95
b.Les composants bactériens	98
2.Activation de la réponse inflammatoire	99
a.Les produits des micro-organismes peuplant le microbiote	99
VIII.Ecologie microbienne	101
A.Application de l'écologie microbienne au domaine médicale	101
B.Notion de résilience du microbiote	102
IX.Le microbiote dans les MICI et la PRD	104
A.Le microbiote dans les MICI	104
B.Le microbiote dans la PRD	105
X.Traitement des MICI et de la PRD par une action sur le microbiote	106
A.Les probiotiques	106
B.Les probiotiques dans les MICI	107
1.Effets des probiotiques sur le tissu intestinal	109
2.Effets des probiotiques sur l'inflammation	109
3.Effets des probiotiques sur le microbiote	110
a.Changement dans les communautés microbiennes	110
C.Les probiotiques dans la PRD	113

1.Effets des probiotiques sur l'épithélium -----	114
2.Effets des probiotiques sur l'inflammation-----	115
3.Effets des probiotiques sur le microbiote-----	116
Discussion -----	119
I.Des pathologies apparentées -----	119
II.Apprendre des thérapies utilisées dans les MICI -----	119
III.La transplantation fécale -----	121
A.Des effets prometteurs dans les MICI -----	121
B.La TMF perspective de traitement dans la PRD -----	128
1.Curatif -----	128
2.Préventif -----	131
IV.Microbiote et cancers-----	133
A.Un outil thérapeutique-----	133
B.Un outil de diagnostic -----	134
Conclusion -----	135
Perspectives -----	136
Bibliographie -----	138
Résumé -----	156

Tables des Abréviations

AA-M μ	: Alternatively Activated Macrophages
ADNr	: ADN ribosomique
AGCC	: Acide Gras à Chaîne Courte
AIEC	: <i>E.coli</i> Adherente-Invasive
AINS	: Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens
ANSES	: Agence Nationale de Sécurité Sanitaire d’Alimentation Nationale
CAM	: Protéine d’Adhesion Cellulaire
CAM μ s	: Classically Activated Macrophages
CDAI	: Indice d’Activité de la Maladie de Crohn
CDEIS	: l’Indice Endoscopique de Sévérité de la Maladie de Crohn
CIE	: Cellules Épithéliales Intestinales
CIRC	: Centre International de la Recherche sur le Cancer
CLR	: C-type Lectin Receptors
Cribiom	: Criblage Biologique Marseille
CSI	: Cellules Souches Intestinales
CTCAE	: Common Terminology Criteria for Adverse Event
FasL	: Liguand de la protéine FAS
FasR	: Récepteur de la protéine FAS
FGF-P	: agoniste au récepteur FGF2
FZD	: récepteurs frizzled
ICL-1	: Cellules Innées Lymphoïdes de type 1
ICL-2	: Cellules Innées Lymphoïdes de type 2
ICL-3	: Cellules Innées Lymphoïdes de type 3
ICT	: d’Irradiation Corporelle Totale
IFN- γ	: Interféron- γ
IgA	: Immunoglobuline A
INRAE	: Institut National de Recherche pour l’Agriculture, l’Alimentation et l’Environnement
IRSN	: Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire
iTreg	: Lymphocytes T régulateur inducteur
LB	: Lymphocyte B
LBreg	: LB régulateur
LPS	: Liposaccharide
LRMed	: Laboratoire de Radiobiologie des Expositions Médicales
LRP5/6	: Lipoprotéines de faible densité Relié à une Protéine 5 ou 6

LT helper : LT auxiliaires
LT killer : Lymphocytes T cytotoxiques
LT : Lymphocyte T
LTB₄ : Leucotriène B₄
LTCD8 : Lymphocytes T cytotoxiques
LTCD4 : LT auxiliaires
LTi : Lymphoid Tissue inducer
LTreg : LT régulateur
LTγδ : Lymphocytes γδ
MAIT : Lymphocytes Associés aux Muqueuses
MAMP : Microbes Associated Molecular Pattern
MC : Maladie de Crohn
MCt : Mastocytes à tryptase
MCtc : Mastocyte chymase/tryptase
MEC : Matrice Extracellulaire
MICI : Maladie Inflammatoire Chronique Intestinale
MMP : Métalloprotéinases
MUC2 : Gène exprimant la mucine
NGS : Next Generation Sequencing
NKc : Cellules Natural Killer
NLR : Nod-Like Receptor
NRH₁ : Homologue 1 de la Neurotrophine
nTreg : Lymphocytes T régulateurs naturels
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PacBio : PacificBioscience
PAM : Peptide Antimicrobien
PRD : Pelvic Radiation Disease
PSA : Polysaccharide A
PTK7 : Récepteur 7 affilié aux Protéines-Tyrosine-Kinase
RCH : Rectocolite Hémorragiques
RCH+ : Patient souffrant de RCH
RILI : Lésions Pulmonaires Radio-Induites
RMμ : Regulatory Macrophages
ROR2 : Récepteur 2 Orphelin affilié aux tyrosines kinases
ROS : Reactive Oxygen Species

RTOG : Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group

SAI : Syndrome Aigu d'Irradiation

SRB : Sulfate Reductrice Bacteria

STAT6^{-/-} : Souris déficientes en STAT6

TAM : Tumor Associated Macrophage

TCR : T Cell Receptor

TLR : Toll Like Receptor

TMH : Traitements Hormonaux Substitutifs

Tr-1 : Lymphocytes T régulateur producteur d'IL-10

WGS : Whole Genome Sequencing

WT : Wild Type (souris sauvage)

Tables des Figures et des Tableaux

FIGURE 1. SCHEMA DE L'INTESTIN GRELE ET DU GROS INTESTIN.	13
FIGURE 2. SCHEMA DE LA STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU SYSTEME DIGESTIF.....	15
FIGURE 3. PLANCHE D'UNE COUPE TRANSVERSALE D'INTESTIN.	16
FIGURE 4. SCHEMA DES DIFFERENTES CELLULES PEUPLANT L'EPITHELIUM INTESTINAL.	18
FIGURE 5. PLANCHE D'UNE COUPE TRANSVERSALE DE COLON.	20
FIGURE 6.A. DESSIN DU MICROSCOPE D'ANTHONIUS KIRCHER (A GAUCHE) ET DESSINS D'OBSERVATION D'ANTHONIUS KIRCHER (A DROITE) ; B. PHOTO DU MICROSCOPE D'ANTONI VAN LEEUWENBOEK.	22
FIGURE 7. A.DESSIN DE L'EXPERIENCE DE LAZZARO SPALLANZAN ; B.IMAGE REPRESENTANT LE BACILLE DE KOKCH.....	23
FIGURE 8. IMAGE RECAPITULATIVE DES DIFFERENTES ASSOCIATIONS SYMBIOTIQUES.	23
FIGURE 9. A. IMAGE REPRESENTANT ESCHERICHIA COLI ; B. IMAGE REPRESENTANT BIFIDOBACTERIUMBIFIDUM.	24
FIGURE 10. A. SEQUENCEUR ILLUMINA ; B. SEQUENCEUR PACBIO.....	26
FIGURE 11. LES MICROBIOTES HUMAINS	28
FIGURE 12.A. LES DIFFERENTS TAXONS ; B. ARBRE PHYLOGENETIQUE.....	29
FIGURE 13.1.ATTEINTE TISSULAIRE DANS LES MICI ; 2.. ASPECT HISTOLOGIQUE DE L'ENTERIQUE RADIQUE	59
FIGURE 14. LA REPARTITION DES MACROPHAGES.	73
FIGURE 15. LA VOIE DES PROTEINES WNT.	75
FIGURE 16. LES DIFFERENTES ICL	87
FIGURE 17. LES DIFFERENTS LYMPHOCYTES.....	89
FIGURE 18. SCHEMA DE LA DYNAMIQUE DU PASSAGE D'UN MICROBIOTE SAIN A UN ETAT TRANSITOIRE ET/OU DYSBIOTIQUE.	102
FIGURE 19. SCHEMA RECAPITULATIF DE L'EFFET DEL'ADMINISTRATION DE DIFFERENTS PROBIOTIQUES SUR LA STRUCTURE DU TISSU, L'INFLAMMATION ET LE MICROBIOTE DANS DES MODELES DSS/TNBS	112
FIGURE 20. SCHEMA RECAPITULATIF DE L'EFFET DEL'ADMINISTRATION DE DIFFERENTS PROBIOTIQUES SUR LA STRUCTURE DU TISSU ET L'INFLAMMATION DANS DES MODELES D'IRRADIATION	117
FIGURE 21. SCHEMA REPRESENTANT L'EVOLUTION CLINIQUE DE CHAQUE PATIENTE (216)	129
FIGURE 22. SCHEMA DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL CONCERNANT LA DYNAMIQUE D'APPARITION DE LA DYSBIOSE.....	137
 TABLEAU I. A. SCORE DE MAYO ; B. SCORE DE POWEL TUCK	50
TABLEAU II. CDAI ; B. INDICE D'HARVEY-BRADSHAW	51
TABLEAU III. CTCAE ; B. RTOG	51
TABLEAU IV. SYMPTOMES PRESENTS DANS LES RCH, MC ET PRD EN FONCTION DE LA LOCALISATION DANS LE TUBE DIGESTIF	56
TABLEAU V. TABLEAU RESUME DES MECANISMES IMPLICANT LES NEUTROPHILES DANS LES TROIS PATHOLOGIES !;	71
TABLEAU VI. TABLEAU RESUME DES MECANISMES IMPLICANTS LES MACROPHAGES DANS LES TROIS PATHOLOGIES.	79
TABLEAU VII. TABLEAU RESUME DES MECANISMES IMPLICANTS LES MASTOCYTES DANS LES TROIS PATHOLOGIES.	85
VIII.TABLEAU RESUME DES MECANISMES IMPLICANTS LES LYMPHOCYTES DANS LES TROIS PATHOLOGIES	92
TABLEAU IX. RESUME DES PROTOCOLES UTILISES DANS LES ETUDES EXPERIMENTALES DES PROBIOTIQUES DANS LES MICI.....	108
TABLEAU X. RESUME DES PROTOCOLES UTILISES DANS LES ETUDES EXPERIMENTALES DES PROBIOTIQUES DANS LA PRD.....	113
TABLEAU XI. RESUME DES PROTOCOLES CLINIQUES UTILISES DANS LES ETUDES SUR LA TMF DANS LES MICI.....	126

ETAT DE L'ART

Chapitre I : Le système digestif

Le système digestif humain comprend les intestins, organes majeurs, puisqu'ils mesurent, chez l'homme, 7 à 8 mètres et ont une superficie environnant les 32 m². Au-delà de leur taille, les intestins sont un sujet d'étude très exploité. Ils ont été surnommés « le 2^{ème} cerveau » suite à la découverte, à la fin du XX^{ème} siècle, de la présence d'un important réseau neuronal en leur sein. Le nombre de neurones dans les intestins est estimé à deux cents millions.

Les intestins humains regroupent un ensemble d'organe, dont l'intestin grêle (composé du duodénum, jéjunum et de l'iléon), et le gros intestin (représenté par le caecum, le côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon descendant, le rectum et le canal anal).

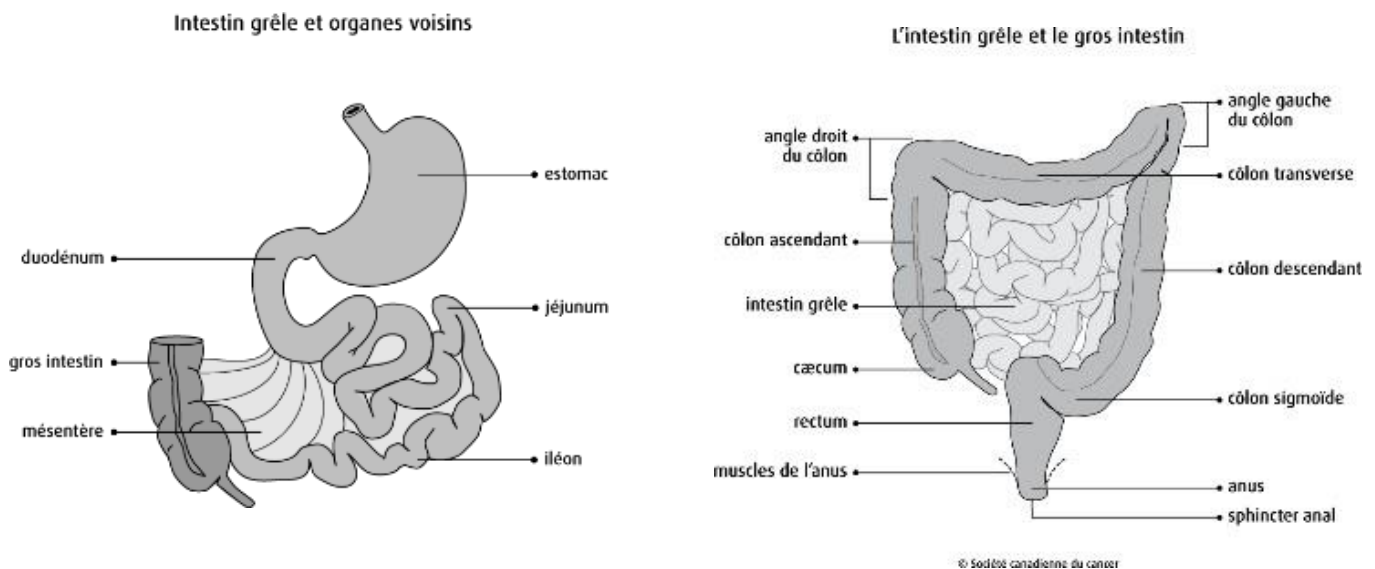


Figure 1. Schéma de l'intestin grêle et du gros intestin.

I. Fonction des intestins

Chaque organe possède une fonction spécifique. L'intestin grêle est impliqué dans la digestion, la sécrétion intestinale est l'endroit spécifique pour l'absorption des nutriments. Son anatomie, organisée en villosités, permet d'avoir une grande surface de contact entre le milieu extérieur et le tube digestif, augmentant ainsi la vitesse d'absorption des nutriments avec les différents réseaux de la circulation sanguine et lymphatique. Les oses, acides aminés et les vitamines hydrosolubles sont absorbés dans les capillaires sanguins tandis que les acides gras, vitamines liposolubles et sels biliaires sont absorbés dans la circulation lymphatique. Ces nutriments, une fois passés dans la circulation, sont amenés vers le foie. L'absorption intestinale est indépendante de l'état nutritionnel, à l'exception de celle du fer et du calcium, dont l'absorption dépend de leur concentration sanguine.

Lorsque le chyme, formé dans l'estomac, arrive dans le duodénum, les glucides et les protéines y sont alors partiellement dégradés. Les graisses, elles, n'ont encore subi aucune digestion. Dans le duodénum, le chyme est en contact avec des sécrétions intestinales, composées d'eau et de mucus, qui assurent une lubrification et une protection de la muqueuse intestinale. On y trouve également des sécrétions gastriques, biliaires et pancréatiques. C'est dans le duodénum, principal site de digestion, que débute l'absorption des glucides, de l'eau et des électrolytes. Le principal site d'absorption est le jéjunum. L'iléon, dernière partie de l'intestin grêle, est le lieu de l'absorption spécifique de la vitamine B12 et des sels biliaires. Il rejoint le gros intestin *via* la valvule iléo-caecale.

Le gros intestin a pour fonction de former et éliminer les matières fécales, il est également retrouvé une fonction d'absorption, notamment d'eau et d'électrolytes. La matière fécale est composée principalement de fibres, apportées notamment par une alimentation comportant des légumes et des fruits puisqu'on les retrouve principalement dans la paroi des végétaux. Elles ne sont pas dégradées par les enzymes digestives, mais jouent un rôle dans le bon fonctionnement intestinal, notamment dans le transit. Ces fibres sont fermentées par les populations microbiennes peuplant nos intestins et plus particulièrement celles du côlon. Ces populations sont un consortium de micro-organismes dénommés microbiote. La fermentation des fibres par le microbiote conduit à la formation des gaz intestinaux. Elle permet également la formation de métabolites notamment des acides gras à chaînes

courtes, constituant une source d'énergie pour les colonocytes (cellules épithéliales du côlon).

La fonctionnalité de chaque organe est permise par leurs organisations structurelles spécifiques. Les intestins, présentent de nombreux points communs mais possèdent également des éléments propres à chaque organe qui les composent.

II. Structure du tube digestif

Le tube digestif, de l'œsophage jusqu'à l'anus comporte un tissu qui s'organise en quatre couches. La répartition des couches de l'intérieur du tube digestif jusqu'à l'extérieur est la suivante : la muqueuse, la sous muqueuse, la musculuse et la séreuse.

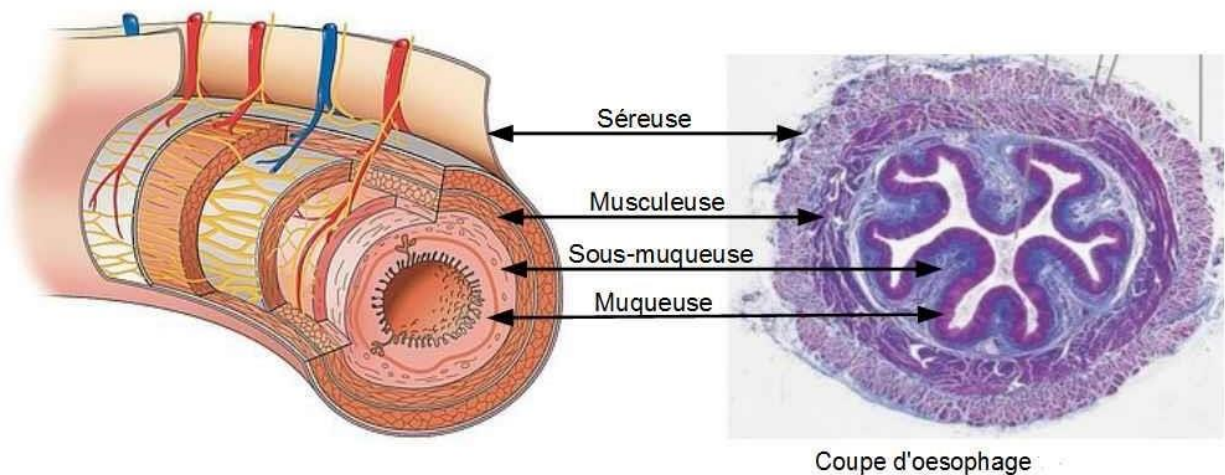


Figure 2. Schéma de la structure histologique du système digestif.

La muqueuse est formée par l'épithélium dont la forme est dépendante de l'organe du tube digestif concerné. L'épithélium repose sur une structure de tissu conjonctif appelé chorion, dans lequel on retrouve de nombreux vaisseaux, ainsi qu'un pool de cellules immunitaires. Le chorion possède également des glandes exocrines dont la morphologie peut changer d'un organe du tube digestif à un autre. La muqueuse s'étend au-dessus d'une fine couche de cellules musculaires appelées la muscularis mucosa. Cette dernière permet de donner à la muqueuse, et aux glandes sous-jacentes, une légère mobilité. De cette manière les cryptes peuvent évacuer plus facilement leur contenu, améliorant ainsi le contact entre l'épithélium et la lumière intestinale.

La sous muqueuse, elle, représente une couche de tissu conjonctif. C'est également une

couche vascularisée contenant des cellules immunitaires, notamment les follicules des organes lymphoïdes (Plaque de Peyer). C'est dans la sous muqueuse que se trouve le plexus de Meissner qui contrôle les sécrétions du tube digestif.

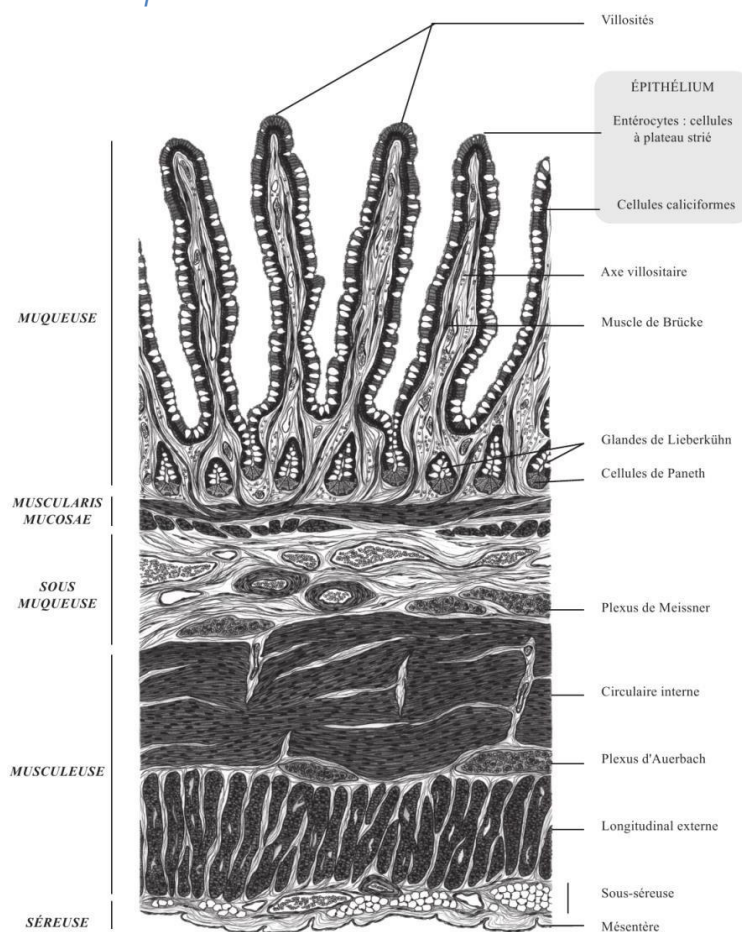
La musculuse est composée de cellules musculaires lisses et se divise en deux avec une couche musculaire lisse et une couche musculaire circulaire. Les deux couches sont séparées par des plexus nerveux appelé Auerbach, chargé de l'innervation végétative, il est responsable de la motilité du tube digestif.

La séreuse est constituée de tissus conjonctifs denses, riche en adipocyte. Des vaisseaux y sont présents. A la base de la séreuse se trouve le mésothélium, feuillet viscéral du péritoine.

A. La spécificité structurelle

1. L'intestin grêle

a. L'épithélium



L'intestin grêle possède une structure bien organisée qui lui permet d'avoir une grande surface d'échange avec la lumière intestinale. Ainsi, le tissu de l'intestin grêle se compose, de valvules conniventes (replis circulaires de la muqueuse), mais également de villosités (replis de la muqueuse et du tissu conjonctif sous-jacent) et de microvillosités (replis de la membrane plasmique des cellules intestinales). Les villosités sont des structures vascularisées, des capillaires fenêtrés et un vaisseau chylifère rentrent dans leurs compositions. Des petits faisceaux de cellules musculaires lisses

qui prennent naissance dans la

muscularis mucosa se trouvent dans la villosité. Ils forment ce qui est appelé le muscle de

Brücke.

Dans l'épithélium de l'intestin grêle les villosités s'étendent jusqu'au chorion et forment ainsi les glandes de Lieberkh n. C'est dans les glandes de Lieberkh n que l'on retrouve les cellules épithéliales de l'intestin grêle. Parmi elles, se trouvent les entérocytes, les cellules calciformes, les cellules entéroendocrines les cellules de Paneth, les tuft cells et les cellules souches.

Les entérocytes

Les entérocytes sont des cellules cylindriques. Des microvillosités sont retrouvées au niveau de leur pôle apical leur permettant d'améliorer leur surface d'échange pour l'absorption des nutriments. Au niveau des microvillosités, des glycoprotéines formant la membrane plasmique sont retrouvées en grand nombre. L'ensemble de ces glycoprotéines est nommé glycocalix. Au niveau latéral des cellules se présentent des protéines de jonctions, modulant l'état de la perméabilité du tissu.

Les cellules calciformes

Les cellules calciformes, ou cellules à mucus, sont des cellules en forme de vase avec un pôle apical plus large que leur pôle basal. Leur forme s'explique par la présence de granules de sécrétion au sommet de la cellule. C'est à cet endroit qu'est stockée la mucine, une protéine glycosylée qui, une fois sécrétée permettra la formation du mucus. La production du mucus est la fonction principale des cellules calciformes.

Les cellules entéro-endocrines

Les cellules entéro-endocrines sont des productrices de peptides et d'hormones. En réponse à des messages qu'elles réceptionnent, elles libèrent leurs médiateurs dans le sang (fonction endocrine) ou dans leur environnement proche (fonction paracrine). Leur troisième voie de communication s'effectue par la transmission de leurs métabolites au système nerveux. Ainsi leur champ d'action est étendu. Leurs capacités sécrétoires agissant en parallèle du système endocrinien leur valent d'être classées comme sous-type du système endocrinien. Dans les intestins les cellules entéro-endocrines sont divisées en sous type, en fonction des médiateurs spécifiques qu'elles sécrètent. Il en est dénombré dix: les cellules, K, L, I, G, N, S, D, M, les cellules entérochromaffines et les cellules entérochromaffines-like.

Les cellules de Paneth

Les cellules de Paneth sont spécifiques à l'épithélium intestinal, elles tapissent la base des cryptes épithéliales. Elles possèdent des capacités exocrines leur permettant de libérer des peptides anti- microbiens tels que des lyzozymes. Une fois sortis des cellules de Paneth, les lyzozymes peuvent exercer leur action antimicrobienne tout au long de la crypte et ainsi protéger l'épithélium intestinal des potentiels agents biologiques pathogènes.

Les tuft cells

Très récemment, les tuft cells ont été identifiées comme étant des cellules chimioréceptrices peuplant l'épithélium intestinal. Elles sont également retrouvées dans l'épithélium respiratoire où elles portent le nom de cellules en brosse. Leur nom vient de leur morphologie, leur pôle apical est formé de microvillosités qui leur donnent un aspect de brosse. Elles sont impliquées dans l'inflammation ainsi que dans les processus de réparation épithéliale après agression de la muqueuse. Dans une étude expérimentale d'infection à un parasite chez la souris, il a été démontré que la production d'IL-25 par ces tuft cells conduit à l'élimination rapide de l'helminthe. Bien qu'en temps normal leur effectif est faible dans l'épithélium intestinal, au cours de l'infection par helminthe leur nombre croit de manière importante, soulignant leur action contre dans la lutte des pathogènes intestinaux(1).

Les cellules souches intestinales (CSI)

A la base des cryptes, se trouvent en plus des cellules de Paneth les cellules souches intestinales (CSI). Elles peuvent se différencier en tous les types de cellules épithéliales de l'intestin. Leur présence permet de renouveler régulièrement les cellules des cryptes et donc l'épithélium intestinal (Figure 4.).

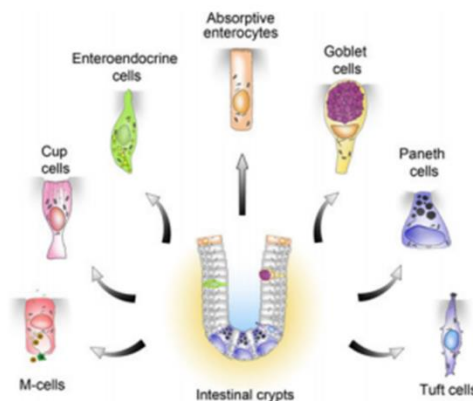


Figure 4. Schema des différentes cellules peuplant l'épithélium intestinal.

2. La muqueuse et sous muqueuse

Dans l'intestin grêle la muqueuse du duodénum et la sous-muqueuse de l'iléon se distinguent par leurs structures spécifiques.

Afin de protéger la muqueuse du duodénum de l'acidité gastrique, des glandes tubulo-acineuses présentes dans la sous-muqueuse libèrent une mucine alcaline dans la lumière intestinale. Elles sont appelées les glandes de Brunner. La libération de leur mucine se fait via leurs canaux excréteurs. L'augmentation du pH dans le duodenum permet de rendre l'environnement optimal pour que les enzymes pancréatiques puissent exercer leurs fonctions.

L'iléon présente dans le chorion et la sous-muqueuse, des plaques de Peyer constituées de follicules lymphoïdes. Là où se trouvent les plaques de Peyer il n'y a plus de villosités mais un arrondi autour du follicule constitué d'enterocytes et de cellules M (cellules présentatrices d'antigènes). Elles possèdent une invagination à leur pôle basal permettant d'accueillir les lymphocytes.

3. Le côlon

a. L'épithélium

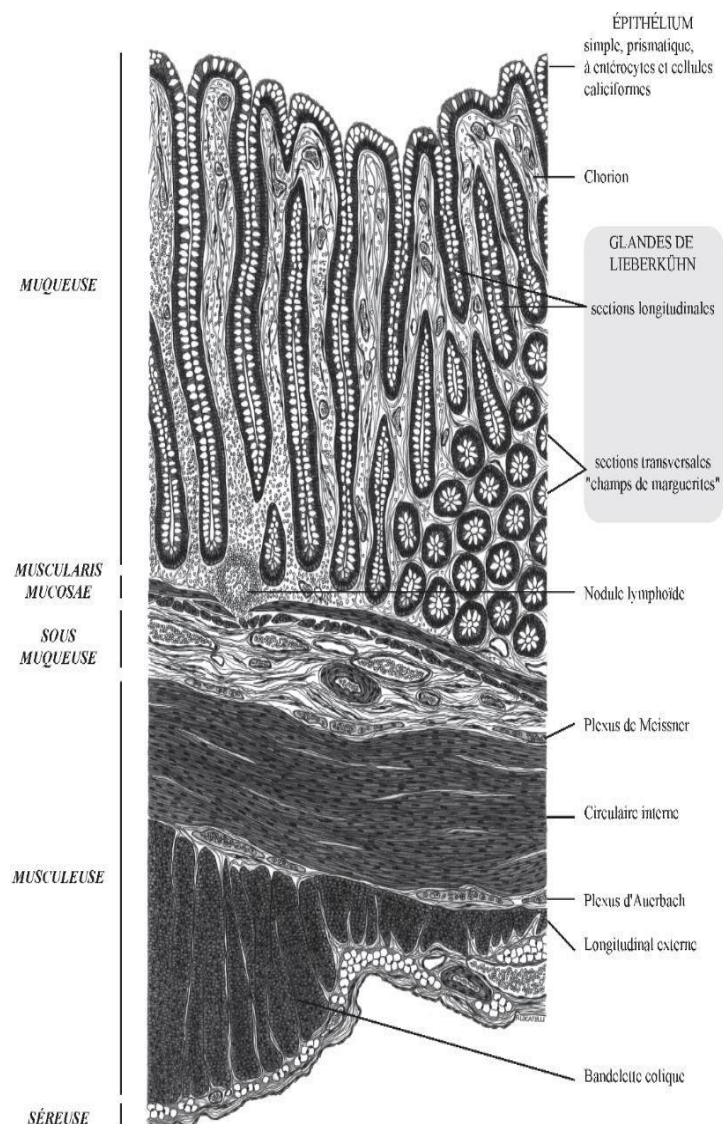


Figure 5. Planche d'une coupe transversale de côlon.

Le côlon, contrairement à l'intestin grêle ne possède aucun repli ni villosités. L'épithélium de côlon, comme l'épithélium de l'intestin grêle est composé de glandes de Lieberkhün qui contiennent en grande majorité des cellules à mucus mais également des entérocytes au niveau de leur apex. Leur base comprend des cellules souches permettant le renouvellement de l'épithélium. Le mucus libéré en grande quantité donne la possibilité de faire glisser le contenu de la lumière intestinale sans abîmer l'épithélium. Les entérocytes du côlon ou colonocytes, permettent d'absorber l'eau et les sels pour donner aux selles leur consistance.

Le bol alimentaire passe à travers le tube digestif par la lumière intestinale. La structure histologique des organes composant le système digestif est formée de manière à absorber les nutriments apportés par l'alimentation. Or, les organes digestifs ne sont pas les seuls à permettre la fonction de digestion. Le microbiote intestinal qui peuple la lumière de l'intestin ajoute une plus-value aux fonctions de ces organes.

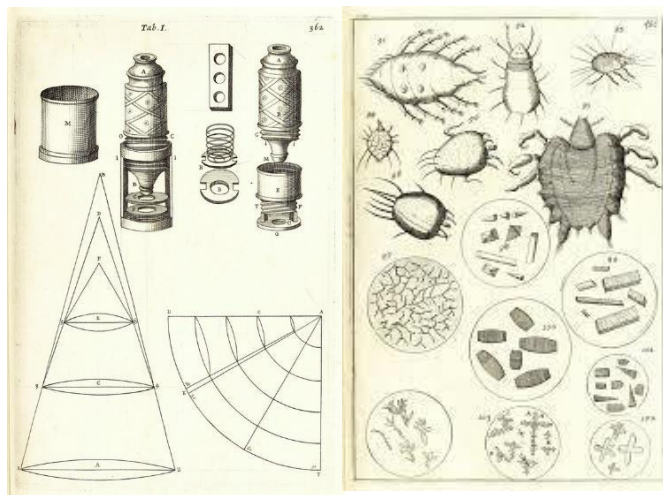
Chapitre II. Le microbiote

Le microbiote est un consortium de différents micro-organismes comprenant des bactéries, des archées, des protozoaires, des champignons et des virus vivant dans un environnement spécifique : le microbiome. Il vit en symbiose avec son hôte, qui peut être aussi bien animal que végétal. L'effervescence récente sur le microbiote n'est pas le fruit d'une découverte fortuite mais de diverses connaissances amassées depuis de nombreux siècles.

I. De l'utilisation à la découverte du microbiote

L'utilisation des micro-organismes date d'avant notre ère. Les Egyptiens avaient déjà la connaissance de la fermentation puisqu'ils utilisaient ce processus pour faire du pain, de la bière et du vin. Ils avaient également constaté que l'hygiène permettait d'améliorer la santé en évitant la propagation d'épidémies provoquées par des agents pathogènes non identifiés. Bien qu'invisibles et encore inconnus pour l'Homme, les micro-organismes avaient déjà une place importante à cette époque dans la société humaine.

En l'an 30 avant J-C, l'écrivain romain Marcus Terrentius Varro, anticipe la découverte de la microbiologie en avertissant ses congénères qu'il n'était pas raisonnable de s'approcher de marécages. Selon M.T. Varro, ces environnements étaient la source du développement d'êtres vivants invisibles responsables de certaines pathologies humaines. Il leur donne le nom d'animalcule. Il faudra un siècle et demi pour que ce terme soit réutilisé. L'invention du microscope au début du XVIIème siècle est une avancée essentielle dans la microbiologie. Les premières observations seront faites par Athanasius Kirsher qui avec son microscope regarde le sang de malades contaminés par la peste qui ravage Naples à cette époque. Il affirme la présence de petit vers invisibles à l' cil nu. Ce sont, selon lui, ces êtres vivants qui sont responsables de la peste. Dans la même période Antoni Van Leeuwenhoek apporte des modifications aux microscopes optiques lui permettant d'observer le monde invisible. Il constatera la présence des micro-organismes dans la nature, en étudiant les eaux marécageuses, mais également chez les animaux, en observant les intestins de grenouilles et de mouches. Il sera le premier à décrire et dessiner des micro-organismes. Il reprendra le terme lancé par M.T Varro pour désigner les micro-organismes : les animalcules.



B



Figure 6.A. Dessin du microscope d'Anthonius Kircher (à gauche) et dessins d'observation d'Anthonius Kircher (à droite) ; B. Photo du microscope d'Antoni Van Leeuwenhoek.

Un siècle après les premières observations des micro-organismes, en 1765, arrive le développement de la technique de la culture. Le biologiste Lazzaro Spallanzani effectue les premières cultures de micro-organismes. Par ses travaux il réfute la théorie de génération spontanée, élaborée par Aristote et défendue par un certain nombre de ses contemporains. Il démontre que sur des milieux comme du jus de viande, il est nécessaire d'avoir un contact avec l'oxygène pour que des micro-organismes colonisent ce milieu. Il établit également qu'au-delà d'une certaine température aucun micro-organisme ne survit dans son modèle. C'est le début des travaux sur la stérilisation. La culture microbienne s'est ensuite développée grâce au médecin allemand Robert Koch qui a été le premier à réussir à cultiver l'agent pathogène vecteur de la tuberculose, qui porte son nom : le bacille de Koch. Il a par la suite développé d'autres milieux de culture indispensables pour l'étude de ces êtres vivants infiniment petit qui ont été dénommés microbe (du grec μικρός, mikrós, « petit » et βίος « vie ») par le chirurgien Charles Sedillot en 1875. Dans le même temps, Louis Pasteur travailla sur les transformations chimiques. Il mit en évidence l'implication des micro-organismes dans les processus de putréfaction et de fermentation. Ses travaux rejoignent ceux de Spallanzani, puisqu'il développe le concept de pasteurisation consistant à éliminer les micro-organismes, impliqués dans les transformations chimiques, par la chaleur. Les travaux de L. Pasteur ont été une révolution : les études sur les micro-organismes ne concernaient plus seulement le domaine de la zoologie, la botanique et la santé mais également le monde industriel. L'entrée dans l'industrie a pu contribuer à l'essor des études sur la microbiologie.

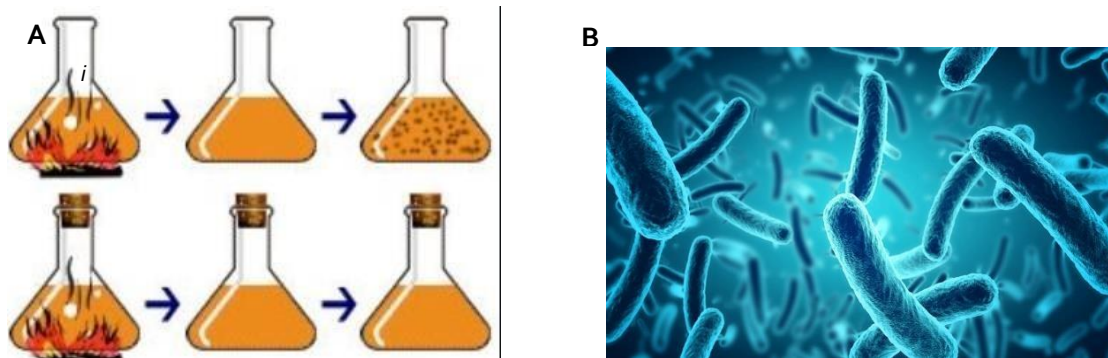


Figure 7. A. Dessin de l'expérience de Lazzaro Spallanzan ; B. Image représentant le bacille de Kokch

En parallèle des découvertes sur les micro-organismes, le zoologiste belge Pierre-Joseph Van Beneden décrit les différentes associations existantes entre les êtres vivants dans son ouvrage *Les commensaux et les parasites dans le règne animal* de 1875. Van Beneden utilise des écrits de confrères scientifiques pour appuyer son étude. Trois associations biologiques sont abordées, le commensalisme, le mutualisme et le parasitisme. Le mutualisme est décrit comme une relation entre deux individus qui en tirent chacun profit. La survie de ces individus n'étant pas déterminée par cette association, elle est considérée comme non obligatoire. La différence est que, dans le commensalisme, la relation n'est bénéfique que pour un individu sans être délétère pour l'autre. Contrairement au parasitisme qui est une relation bénéfique pour le dit parasite mais est négative pour son hôte. Toutes ces associations sont réunies sous le terme général de symbiose introduit par le biologiste Albert Bernhard Frank qui est ensuite validé par la communauté scientifique après les travaux d'Anton de Bary en 1879. Ses travaux incluaient l'observation des lichens (une symbiose entre une algue et un champignon) l'étude de leur reproduction et de leur potentiel adaptatif à leur environnement. La définition de symbiose par A. de Bary est : la vie en association de différentes espèces, cela inclut le mutualisme, commensalisme et parasitisme.

Espèces interagissant		
A	B	
+	+	MUTUALISME
+	-	PARASITISME
+	0	COMMENSALISME

Légende :
 + : Effet bénéfique pour
 - : Effet néfaste à
 0 : Sans effet sur

Figure 8. Image récapitulative des différentes associations symbiotiques.

La notion de symbiose a permis de comprendre l'importance des relations entre êtres vivants

issus d'un domaine taxonomique similaire ou différent. Cela a permis d'entrevoir la possibilité que les animaux ne se suffisent pas nécessairement à eux même. Les avantages tirés de ces symbioses peuvent leurs être essentiels voir vitaux directement ou indirectement.

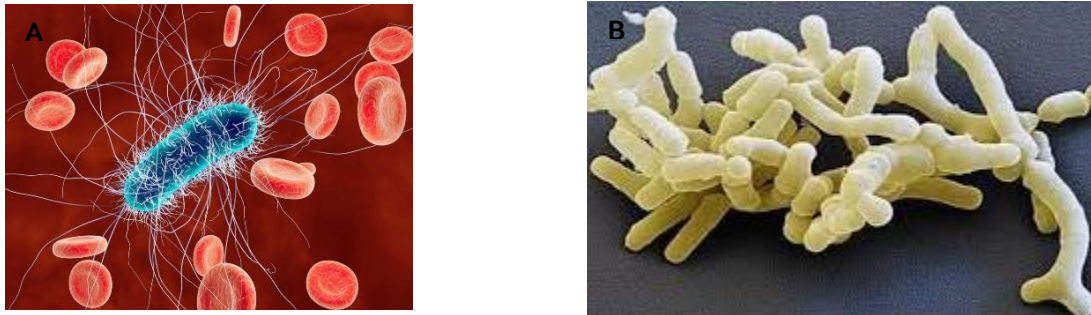


Figure 9. A. Image représentant *Escherichia coli* ; B. Image représentant *Bifidobacterium bifidum*.

Peu de temps après, en 1885, le pédiatre Théodore Escherich découvre et isole une bactérie dans l'intestin des enfants. Il nomme cette bactérie *Bacterium coli communior*, désormais connue sous le nom d'*Escherichia coli*. Il constate que la colonisation de cette bactérie dans les intestins arrive à un âge précoce. La question d'un lien entre la présence de cette bactérie et le bon fonctionnement de la digestion se pose alors. Les travaux sur la symbiose entre les êtres vivants influencent l'idée d'une cohabitation et une interaction entre micro-organismes et l'homme, essentielle pour l'être humain. Une prise de conscience de l'importance des populations microbiennes au sein de l'intestin, appelées alors microflore intestinale émerge. En 1899, Henri Tissier isole la bactérie *Bifidobacterium* dans les fèces de nourrissons et constate une différence de présence de cette bactérie entre les nourrissons allaités et nourris avec du lait maternisé. Ceux alimentés au lait maternisé étant plus exposés aux épisodes diarrhéiques, H.Tissier émet l'hypothèse que le bon fonctionnement des intestins pourrait être influencé par la présence de *Bifidobacterium*. Ilitch Metchnikov va plus loin en décrivant dans son livre « Médicament microbien » édité en 1908 que l'apport de bactéries « ferment lactique » réduit les désordres intestinaux. Ces travaux d'observations ouvrent la porte à un domaine de la microbiologie extrêmement large, la microbiologie commensale à l'homme. La « microflore intestinale » deviendra « flore intestinale », citée pour la première fois dans un article de *Sciences* en 1914. Le mot « microbiote » fera son introduction 44 ans plus tard dans un article de 1958 du *Journal of bacteriology* concernant le microbiote gingival. Le microbiote intestinal sera lui cité pour la première fois en 1975 dans une conférence lors d'une

présentation sur la symbiose entre la termite et son microbiote intestinal. Il fallu un siècle après les découvertes de la présence de micro-organismes chez les êtres vivants et les associations biologiques pour commencer à nommer ce consortium de micro-organismes et rechercher les différentes fonctions qu'il exerce dans le corps des êtres vivants.

III. Le microbiote dans ses détails

L'avancée de la science est permise par les travaux des chercheurs mais également par l'émergence de nouvelles techniques d'identification. Les progrès en microbiologie se font en parallèle des avancées sur les technologies de séquençage. Le séquençage de l'ADN a été mis au point au milieu des années 70 selon deux approches différentes, celle de Sanger, qui utilise la synthèse enzymatique et celle de Gilbert, basée sur la dégradation chimique. La méthode Sanger a été le fruit de nombreuses innovations lui permettant d'être la plus largement utilisée. Le séquençage initialement mis au point par Sanger a laissé sa place au « next generation sequencing » (NGS). Le NGS apporte une réelle valeur ajoutée puisqu'il permet de séquencer des millions de fragments d'ADN en parallèle contre un fragment à la fois pour le séquençage Sanger. Ainsi la technologie du NGS a permis de diminuer les coûts de séquençage et donc de le rendre plus accessible. Les séquenceurs utilisés aujourd'hui se divisent en deux catégories, les séquenceurs de 2^{ème} génération, et ceux de 3^{ème} génération. Dans la catégorie de séquenceurs de 2^{ème} génération, peuvent être cités : les séquenceurs d'Illumina (HiSeq, MiSeq) et de Roche (454). Parmi les séquenceurs de 3^{ème} génération se trouvent celui de Pacific Biosciences (PacBio) et celui de Nanopore Oxford Technology (MinION, PromethION) (Figure 10.).



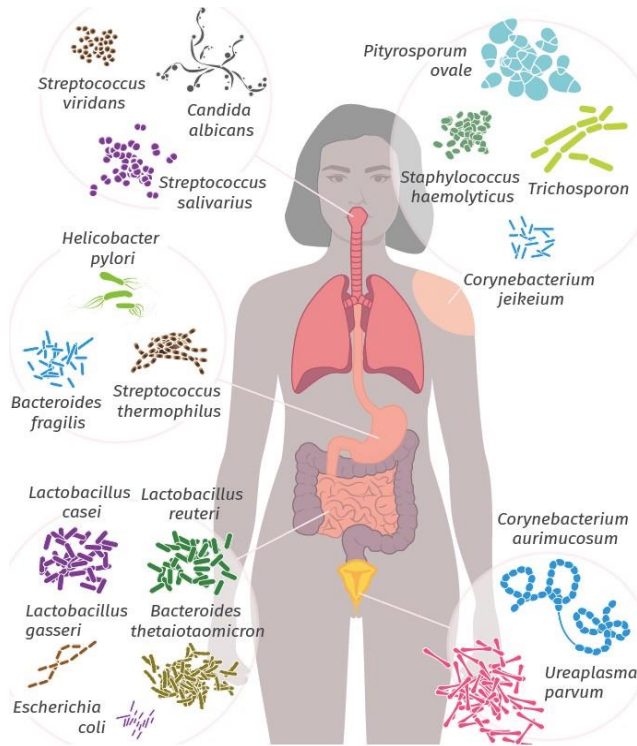
Figure 10. A. Séquenceur illumina ; B. Séquenceur PacBio.

La principale différence entre ces deux générations de séquenceur est l'étape d'amplification. Obligatoire pour les séquenceurs de deuxième génération elle n'est plus nécessaire pour ceux de la troisième, ce qui leur permet d'obtenir un gain de temps sur l'analyse et d'avoir plus de matériel génétique, donc, de donner des résultats plus précis. De plus les séquenceurs 3^{ème} génération peuvent donner une information quantitative.

Dans le domaine de la microbiologie, différents protocoles peuvent être utilisés en fonction de l'information souhaitée, parmi eux se trouvent : le s quenc ge de l'ADN ribosomique (ADNr) 16S et le whole genome sequencing (WGS). Le « 16S » correspond au s quenc ge du gène de l'ARN ribosomal. Présent chez toutes les bactéries, ce gène possède des régions variables permettant de les différencier. Le s quenc ge de l'ARN 16S a trois avantages : son prix, les bases de données, et la disponibilité de nombreux scripts pour réaliser l'analyse des données de s quenc ge. Cependant le s quenc ge 16S donne moins d'information sur le microbiome. En effet l'ARN 16S n'est retrouvé que chez les procaryotes (  l'exception des virus), ainsi les autres micro-organismes composant le microbiote (notamment champignon, protiste...) ne sont pas identifiés avec cette technique. De plus les zones de l'ARN 16S sélectionnées pour le s quenc ge, dans certains cas, ne sont pas suffisantes pour distinguer différentes espèces de bactéries partageant les mêmes successions de nucléotides dans ces zones spécifiques. Ainsi la technique de s quenc ge du 16S permet d'identifier la population bactérienne dans son ensemble. Le WGS, quant à lui, consiste en l'analyse du génome entier, tous les ADN présents dans l'échantillon seront séquencés. Les jeux de données sont ainsi beaucoup plus importants, rendant les analyses plus fastidieuses mais également plus riches et précises quant au contenu de l'échantillon. Les analyses par le WGS sont plus longues car le nombre de séquence à traiter est supérieur à celui obtenu par 16S. De plus il est possible qu'il soit nécessaire d'incrémenter les bases de données de référence. S'ajoute au temps d'analyse également le coût qui est plus important que ceux appliqués en 16S(2,3). Ainsi en fonction de l'objectif de l'étude il est important de réfléchir quant au choix de s quenc ge pouvant être le plus pertinent.

Le s quenc ge a permis de connaître l'organisation écologique du microbiote. Incrémenter avec des études de transcriptomique et/ou de métabolomique, les connaissances sur les mécanismes de la relation de mutualisme symbionte/hôte se sont multipliées. Aujourd'hui de nombreux éléments démontrant l'importance de cette relation dans le bon fonctionnement de l'organisme ont été mis en évidence, mettant en lumière la nécessité de la continuité des recherches sur le microbiote.

IV. Les microbiotes humain



Chez l'Homme on distingue à l'heure actuelle de multiples microbiotes. Parmi eux, il est possible de citer le microbiote ORL, cutané, stomacal, intestinal et vaginal (Figure.11.). Le microbiome est le facteur limitant de la diversité microbienne le peuplant. Chaque microbiote est donc spécifique à l'organe dans lequel il se trouve. L'illustration de ce propos se fait par l'observation d'un grand degré de complémentarité du microbiote oral de deux individus distincts par rapport à leurs autres microbiotes.

Figure 11. Les microbiotes humains

Cela démontre que la composition du microbiote est propre à chaque individu mais surtout propre à l'environnement dans lequel il se trouve. En matière de diversité, chez l'Homme, il a été convenu que le microbiote le plus divers était celui des intestins. Il compte environ entre 10^{12} et 10^{14} micro-organismes en son sein, soit 10 fois plus que le nombre de cellules dans le corps humain, et pèse plus de 1,5kg(4). Précédemment il a été vu que le microbiote, en condition physiologique, était spécifique à l'organe où il se trouvait. Le microbiote intestinal comprend tous les microbiotes présents dans le système digestif. Or le tractus digestif ne présente pas les mêmes conditions physiologiques dans tous les organes qui le compose. En conséquence, la composition du microbiote varie d'un organe du système digestif à un autre. L'organe abritant la plus grande concentration et diversité de micro-organisme est le côlon. Il est constitué principalement d'espèces anaérobies strictes et de quelques espèces aérobie-anaérobies facultatives. La distinction entre bactéries anaérobiques et aérobie-anaérobiques se fait par le biais de la systématique, permettant d'établir une classification des êtres vivants.

V. La systématique du microbiote

La classification des microorganismes s'est construite autour de la systématique évolutive, discipline s'appuyant sur la taxonomie qui a pour but de répertorier tous les êtres vivants puis de les rassembler dans différents groupes nommés taxon. Les microorganismes sont présents dans les trois domaines du vivant (Eubactérie, Archée et Eucaryote) eux même divisés en domaine, règne, embranchement (ou phylum), classe, ordre, famille, genre, espèce et souche (Figure 12.).

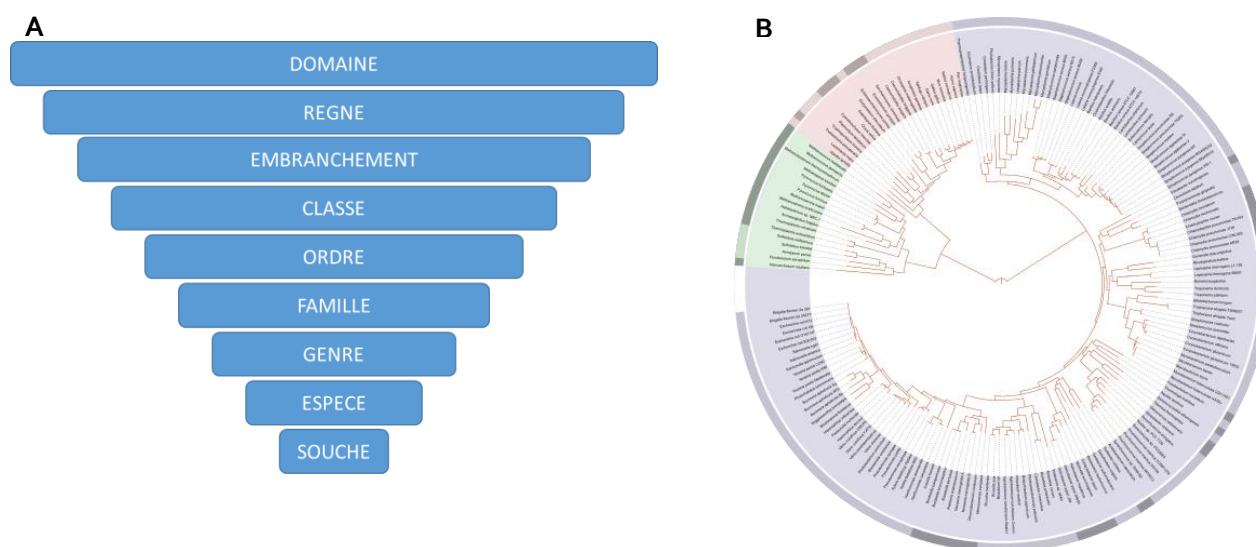


Figure 12. A. Les différents taxons ; B. Arbre phylogénétique.

A. Un règne dominant

Jusqu'à récemment les études se concentraient principalement sur les bactéries. Aujourd'hui les connaissances sur les protistes, les virus et les fungi se multiplient. Cependant les bactéries restent le règne majoritaire parmi les micro-organismes des intestins. Parmi les cinquante (environ) phyla bactériens peuplant le microbiote intestinal trois phyla ont été reconnus comme dominants. Le phylum des *Firmicutes*, des *Bacteroidetes* (qui représentent à eux deux 90 à 99% des bactéries) et des *Actinobacteria*. Le microbiote humain possède trois entérotypes, en fonction de la dominance des genres *Bacteroides*, *Prevotella* et *Rumminococcus* dans le microbiote. Les entérotypes sont influencés par le mode de vie des individus, ainsi, au cours de la vie il est possible d'en présenter plusieurs. Cependant, certains sont plus sensibles aux variations du microbiome que d'autres. Par exemple lors d'une modification alimentaire 25% des personnes possédant un entérotipe *Bacteroides*

auraient tendance à changer d'enterotype, contre 5% pour les porteurs de *Prevotella*. Ainsi, il est constaté que le microbiote peut connaître des modifications de composition.

B.L'évolution du microbiote en fonction de l'âge

Au cours de la période *in utero*, des bactéries maternelles sont retrouvées dans le liquide amniotique. La colonisation se fait, donc avant même l'accouchement. L'analyse du méconium de nouveau-n  démontre la présence de bactéries, avec cependant une très faible diversité. Aucune séquence de virus n'y a été retrouvée. Les bactéries présentes sont des bactéries aérobie tolérantes. Une fois l'oxygène du côlon consommé par ces bactéries, elles laisseront la place à des bactéries anaérobie. Le mode d'accouchement est déterminant dans la formation du microbiote. Les enfants nés par voie basse vont se voir coloniser, en majorité, par les micro-organismes intestinaux maternels. Tandis que les enfants nés par césarienne seront colonisés par ceux de la peau et/ou de l'environnement. Dans les premiers mois de vie, le microbiote intestinal est adapté à une alimentation composée exclusivement de lait. Un changement s'opère avant même l'introduction aux produits solides, permettant de rendre possible la digestion des légumes notamment.   l'âge de 2,5-3ans le microbiote intestinal atteint sa composition définitive (hors pathologie et ou changement d'environnement, d'alimentation). La composition du microbiote a une importance puisque ce dernier a une forte influence sur la formation et le fonctionnement du système gastro-intestinal.

C.Microbiote et structure intestinale

Les études sur les souris axéniques ont mené à la constatation que le microbiote intestinal influençait la formation du tissu intestinal. Cette hypothèse est la résultante de l'observation de la morphologie du tissu intestinal des souris axéniques par rapport à celui des souris sauvages (WT). Les animaux axéniques présentent un intestin grêle plus petit et un côlon plus grand. En ce qui concerne la structure épithéliale, l'absence de microbiote conduit à une atrophie des villosités intestinales et des cryptes coliques ainsi qu'à une augmentation de la perméabilité intestinale. Ces observations mènent à la conclusion que le microbiote est impliqué dans la formation et le maintien de la barrière épithéliale(6). La barrière épithéliale est non seulement une protection pour l'épithélium mais également pour le microbiote. Pour l'épithélium elle permet de bloquer le passage éventuel de micro-organismes à l'intérieur du tissu. En ce qui concerne le microbiote la présence d'une barrière lui permet de contrer la

colonisation de micro-organismes exogènes, mais également d'éviter la propagation de certaines espèces commensales minoritaires. En effet, leur multiplication pourrait s'avérer délétère à la préservation d'un équilibre sain. Ainsi, la barrière aide à éviter la rupture de la stabilité du microbiote et donc de celle de la symbiose qu'il forme avec son hôte. L'implication du microbiote dans le fonctionnement de la barrière épithéliale, peut être directe ou indirecte.

1.Effet direct

L'effet direct est représenté par différents mécanismes. Le premier qui sera abordé est la composition du microbiote.

a.Compétition

Le microbiote et l'hôte effectuent des échanges leur permettant d'établir une association qui leur confère à tous deux des bénéfices. De cette façon, le microbiote commensal, obtient une grande stabilité. La colonisation de nouvelles espèces microbiennes, sans intervention de facteurs engendrant l'affaiblissement du microbiote commensal (par exemple une antibiothérapie), sera en conséquence, difficile. Ainsi, par compétition, le microbiote commensal fait office de barrière à tout micro-organismes exogènes ou endogènes pouvant rompre l'équilibre établi avec l'hôte. En plus d'effectuer une compétition le microbiote commensal est capable de libérer des métabolites qui assurent leur protection(7).

b.Production de métabolite

De plus, le microbiote produit des toxines protéiques dirigées contre des bactéries : les bactériocines. Elles permettent de réguler les populations bactériennes commensales, mais elles agissent également sur les bactéries exogènes qui tendent à coloniser les intestins. Les micro-organismes sont capables de produire des molécules dirigées contre ces pathogènes potentiels. Cette fonction de défense correspond au deuxième mécanisme direct de barrière. Ainsi, il a été démontré que la bactériocine Abp118, produit par *Lactobacillus salivarius* permettait d'éviter la colonisation du microbiote par l'espèce pathogène *Listeria monocytogenes* chez des souris(8). Un autre peptide semble exercer une action contre des bactéries pathogènes : la Ruminococcin C1. Elle est sécrétée par *Ruminococcus gnavus* une bactérie de la classe des *Clostridium* peuplant le microbiote intestinal. Au-delà de l'effet protecteur envers le microbiote, les vertus anti-bactériennes de ce peptide intéressent les chercheurs, de part, son spectre large intégrant des bactéries multirésistantes aux

antibiotiques, ainsi que son caractère inoffensif envers le tissu intestinal(9). Enfin, il semblerait que la transformation d'acides biliaires secondaires par le microbiote pourrait également avoir un rôle protecteur envers la colonisation de bactéries pathogènes. Par exemple, des équipes de recherche ont émis l'hypothèse que l'acide desoxycholique aurait la capacité d'inhiber la croissance de *Clostridium difficile*. Il a été démontré que des souris ayant suivi une antibiothérapie et qui ont eu, suite à ce traitement, une modification dans leur composition microbienne, ont une altération de leurs acides biliaires secondaires. S'ajoutent à cela des études réalisées *in vitro* et *in vivo* qui illustrent que la présence d'acides biliaires secondaires s'accompagne d'une diminution dans la concentration en *C.difficile*. Ainsi, dans ces conditions, le lien direct entre présence d'acides biliaires secondaires et absence de *C.difficile* est établi(10). En conséquence l'effet direct du microbiote sur la barrière épithéliale se traduit par un blocage de la colonisation et une élimination d'éventuels micro- organismes pathogènes.

2.Effets indirects

Les mécanismes indirects émanant du microbiote dans la fonction de barrière épithéliale font intervenir les cellules épithéliales. Les cellules épithéliales ont deux façons d'exercer leurs effets barrières, par leur simple présence et par leur production de métabolites.

a.Induction de la production de mucus

La barrière physique épithéliale se compose, de la lumière au tissu, par une première couche qui est le mucus. Le mucus est un lubrifiant produit par les cellules caliciformes (dans les intestins) et est composé de la mucine. Il participe également à la formation de la barrière épithéliale, en appliquant une barrière physique entre la lumière et les cellules épithéliales. Le microbiote est impliqué dans la production de mucus. Notamment deux espèces influencent positivement les cellules caliciformes ainsi que leur production de mucus. Ces deux bactéries sont *Bacteroides thetaiotaomicron* et *Faecalibacterium prausnitzii*. Les métabolites produits par ses deux bactéries, et notamment les acides gras à chaîne courte (AGCC), semblent être à l'origine de leurs capacités à engendrer la production de mucus(11). En effet, une étude démontre l'impact positif de l'administration d'AGCC sur la biosynthèse de mucus chez des souris d fici ntes au gène produisant la mucine (MUC2)(12). Tandis qu'une autre étude démontre que la couche de mucus est amoindrie chez des souris axéniques. En conséquence, ces études tendent à mettre en lien la production de mucus et la

présence de certaines espèces microbiennes.

b. Microbiote et protéines de jonction

En dessous de la couche de mucus se trouvent les cellules épithéliales qui possèdent une grande étanchéité grâce aux complexes jonctionnels qui les composent. Or, il semblerait que le microbiote ait également une influence sur les protéines de jonction. Une étude s' st intéressée au nombre de protéines de jonction présentes dans l'épithélium intestinal de souris axéniques. Les résultats montrent que leur nombre est diminué chez ces animaux. Cependant leurs expressions sont restaurées après l'administration aux animaux de trois souches de *Lactobacillus*(13). De plus, l'utilisation de certaines souches de probiotiques provoque l'expression de protéines de jonction quand l'exposition à des bactéries pathogènes diminue leurs expressions *in vitro*(14). Ces études apportent des arguments dans l'hypothèse de l'influence que pourrait avoir le microbiote intestinal sur le complexe de protéines de jonction des cellules épithéliales intestinales.

En plus d'exercer une influence sur les protéines qui contrôlent le passage para-cellulaire, le microbiote pourrait également jouer sur le nombre de cellules épithéliales après agression.

c. Effet sur le renouvellement cellulaire

Des chercheurs ont constaté que chez les souris axéniques l'indice mitotique et le renouvellement cellulaire était plus faible que chez animaux conventionnels(15). Ainsi, il semblerait que le microbiote joue également un rôle sur la réparation épithéliale, essentielle pour que le tissu retrouve sa perméabilité et donc sa fonctionnalité. Les mécanismes impliquant le microbiote dans la cicatrisation ne sont pas encore totalement connus. Cependant, plusieurs études indiquent l'importance de la stimulation des toll like recepteur (TLR) dans l'initiation ou la conduction d'une bonne cicatrisation du tissu.

d. Production de métabolites anti-microbiens

Les cellules épithéliales, constituent une barrière physique de la muqueuse intestinale, mais elles édifient également une barrière chimique. En effet, les cellules épithéliales peuvent produire des peptides antimicrobiens (PAM), notamment, par stimulation de leur TLR qui sont des récepteurs de reconnaissance moléculaire. Ils reconnaissent des motifs présents à la surface des micro-organismes pouvant leur être néfaste. Les PAM ne sont pas seulement produits après stimulation des TLR des cellules épithéliales, cependant c' st la voie majeure. Certains PAM ont une action antimicrobiennedirecte, notamment, les lectines de type C, les cathelicidines et les defensines. D'autres agissent en privant les micro-organismes

d'éléments leur étant essentiels, c'est le cas de la lipocaline avec le fer. Les PAM sont sécrétés par les cellules épithéliales et rejoignent le mucus suite à leur production.

Le spectre anti-microbien des PAM protègent les cellules épithéliales qui les produisent en vue d'une éventuelle invasion microbienne pouvant être néfaste pour le tissu.

Les cellules épithéliales ne possèdent pas l'exclusivité de la production d'agents anti microbiens. La présence d'un microbiote dans la lumière intestinale, stimule les plasmocytes de la *lamina propria* qui produisent alors des immunoglobine A (IgA)

En effet, la seule présence d'un microbiote semble engendrer des mécanismes de défense de l'hôte envers les pathogènes potentiels. Notamment la production d'immunoglobine A (IgA) par les plasmocytes dans la *lamina propria*. Les IgA, par un mécanisme de transcytose, se retrouvent au niveau de l'apex des cellules épithéliales. Ainsi, elles éloignent les micro-organismes de ces cellules. Les IgA peuvent être spécifiques d'un composant du microbiote mais elles peuvent également exercer leur fonction sur les autres agents microbiens, et donc éloigner, en plus des micro-organismes commensaux, ceux étant transitoires ou pathogènes. L'implication du microbiote dans la production des IgA est suspectée notamment dû à une étude qui atteste que les souris axéniques ont une concentration en IgA bien moindre que les souris WT(16).

Ainsi par sa présence dans la lumière et en fonction de sa composition, le microbiote initie des mécanismes engendrant une protection aussi bien physique que chimique envers le tissu intestinal. L'équilibre entre l'hôte et le microbiote permet de maintenir cette fonctionnalité de barrière évitant ainsi tout endommagement du tissu.

Le microbiote possède en plus de ses actions sur la structure intestinale une action sur le métabolisme des xénobiotiques. En effet, il a notamment la capacité d'effectuer une digestion des aliments pour les transformer en des molécules assimilables pour l'organisme. Le métabolisme effectué par le microbiote permet d'obtenir un meilleur rendement énergétique. Un animal wild type nécessite 30% moins d'apport nutritionnel qu'un animal axénique pour conserver sa masse corporelle(6). Tous les composés organiques apportés par l'alimentation (glucide, lipide, protéine et gaz) peuvent être transformés par l'action des micro-organismes intestinaux.

D.Microbiote et métabolisme

1.Métabolisme des glucides

Les glucides contenus dans les fruits et les légumes font partie des composés alimentaires ne pouvant pas être dégradés par les enzymes de l'hôte. Par un processus de fermentation, les micro-organismes permettent la digestion de ces glucides. La fermentation peut faire intervenir différentes espèces avant d'arriver au produit final qui sera assimilé par l'hôte. Les produits intermédiaires sont par exemple le fumarate, le succinate ou le lactate. Les produits finaux issus de la fermentation sont des AGCC, la majorité des AGCC sont l'acétate, le propionate et le butyrate. Ils représentent une source d'énergie pour les colonocytes qui en consomment la majorité (seule une petite fraction est éliminée dans les fécès). Les colonocytes ne sont pas les seuls consommateurs de ces AGCC, d'ailleurs ceux qui ne seront pas assimilés par les cellules coliques rejoindront la circulation pour atteindre le foie. C'est le cas notamment de l'acétate qui est utilisé dans la production de cholestérol et d'acide gras à chaine longue. Il est produit par de nombreuses bactéries au contraire du propionate et du butyrate formés par des bactéries spécifiques. Plusieurs actions métaboliques et anti-inflammatoires lui sont également attribuées. La production de propionate est assignée aux *Negativicutes*, aux genres *Bacteroides* et *Clostridium*(17). En ce qui concerne le butyrate, ce sont les *Firmicutes* qui en sont les principaux producteurs, notamment les *Lachnospiricaeae* et *Faecalibacterium prausnitzii*(18). Le butyrate est présenté comme l'AGCC le plus impactant dans la santé humaine. En plus d'être une source d'énergie primordiale pour les colonocytes, des propriétés anti-cancéreuses lui sont attribuées. Il permettrait d'induire l'apoptose des cellules cancéreuses du côlon. Le butyrate aurait également un rôle dans le maintien de la barrière.

2.Métabolisme des protéines

Les protéines sont l'unique source d'azote pour l'hôte comme pour le microbiote. Leur métabolisation se fait par protéolyse, une réaction permettant la libération d'acides aminés. Ensuite arrive la fermentation des acides aminés, qui s'effectue principalement par désamination ou décarboxylation. La première est une source d'ammoniaque, qui représente une source d'azote pour certaines espèces microbiennes. La désamination peut également conduire à la formation d'AGCC et d'AGCC ramifiés (spécifique à la dégradation des protéines et donc biomarqueur de la protéolyse dans les fèces). Également, la désamination du tryptophane par *Clostridium sporogenes* conduit à la production de l'acide-3indolpropionique, antioxydant qui aurait des vertus neuroprotectrices(19). La décarboxylation peut mener à la libération de tryptamine qui est un neurotransmetteur agissant sur les récepteurs à la sérotonine dans le système nerveux central. Elle peut également, être à l'origine de la production d'amine, précurseurs de nitrosamide qui sont des composés classés cancérigènes par le centre international de la recherche sur le cancer (CIRC)(20). L'étape de protéolyse par le microbiote peut également produire des métabolites néfastes pour l'organisme. En fonction des micro-organismes présents dans l'intestin, certains vont engendrer la production d'un produit intermédiaire pouvant déclencher une réponse immunitaire dirigée contre ce peptide. C'est le mécanisme retrouvé dans la maladie cœliaque, le métabolite issu de la protéolyse du gluten entraîne une réaction du système inflammatoire contre ce dernier. La composition du microbiote montre une fois de plus la différence qu'elle peut faire entre processus bénéfique et néfaste pour l'hôte. Les acides aminés, composants des protéines, peuvent être la source de la production des AGCC. Par exemple, la fermentation d'aspartate, d'alanine, de thréonine ou de méthionine peut mener à la formation de propionate tandis que celle du glutamate, de la lysine, de la cystéine, d'histidine de la sérine ou de la méthionine peut conduire à la production du butyrate

3.Métabolisme des lipides

Les lipides apportés par l'alimentation sont la source principale de la formation des sels

biliaires dans le foie. Seul 95% des acides biliaires sont intégrés dans le cycle entéro hépatique qui a lieu dans l'intestin grêle. Les 5% restant vont jusqu'au côlon où ils seront transformés en acides biliaires secondaires par le microbiote. Les acides biliaires primaires une fois sécrétés dans l'intestin grêle vont se voir déconjuguer par des genres tels que : *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* pour ensuite être transformés par des genres comme *Clostridium*, entre autres(21). Les métabolites issus de cette transformation peuvent avoir des vertus bien différentes puisque certaines ont été identifiées comme carcinogène et d'autres comme des anti-inflammatoires. Le microbiote n'est pas seulement capable d'effectuer une déconjugaison des acides biliaires, il réalise également celle des hormones stéroïdiennes. Le propionate, bien qu'il soit un produit de la fermentation des acides aminés, exerce une influence dans le métabolisme des lipides. Il serait, notamment, impliqué dans la diminution de la lipogénèse ainsi que la synthèse de cholestérol. Chez des patients en surpoids, l'instillation de propionate dans le côlon a permis de réduire le gain de poids(22).

4.Métabolisme des gaz

Les processus de fermentation qui ont lieu dans le côlon sont à l'origine de la libération de gaz et notamment d'hydrogène. Afin de maintenir une activité fermentaire, il est primordial que cet hydrogène libéré soit éliminé. Une partie est excrétée par voie pulmonaire et anale. Le microbiote joue un rôle dans ce métabolisme, puisque certains micro-organismes sont hydrogénotrophes. Ainsi, les bactéries peuvent utiliser l'hydrogène par leurs fonctions, sulfato-réductrices, méthanogènes ou acétogènes. La réduction de sulfate est allouée aux bactéries réductrices de sulfates (sulfate reducing bacteria ou SRB) dont le genre principal est *Desulfovibrio*(23). Le sulfure d'hydrogène, produit de la réduction du sulfate, a été démontré comme participant au maintien de l'équilibre du tissu intestinal. L'inhibition de la synthèse d'H₂S semble augmenter l'endommagement de la muqueuse intestinale ainsi qu'émettre des altérations dans le processus de réparation et augmenter la production de cytokines pro-inflammatoires. Cependant, dans un contexte de pathologie où l'épithélium intestinal est endommagé le H₂S pourrait avoir un caractère néfaste. Sa localisation, au niveau de la *lamina propria* dans ces pathologies semble contribuer à la formation de l'endommagement de

l'épithélium(24). La réduction de l'hydrogène par m thag n se est effectuée par des Archées. Les produits de cette réduction sont du méthane et du sulfure d'hydrogène. Ainsi quelques personnes possédant notamment l'Arch e *Methanobrevibacter smithii* dans leur microbiote excrètent du méthane(25). La dernière voie de consommation de l'hydrogène par le microbiote est l'acétogénèse, c'est la seule qui ne conduit pas à la formation de gaz. Le produit final de l'acétogénèse est l'acétate, source de carbone importante pour les micro-organismes(26).

Le microbiote possède une richesse d'action dans le métabolisme de divers composés. Il permet de produire des sources d'énergie pour l'organisme. Cependant en fonction de sa composition les métabolites produits peuvent être plus ou moins bénéfiques pour l'hôte. Les mécanismes de transformation vers des produits bénéfiques pour l'hôte sont des recherches intéressantes pour le développement de futurs médicaments. Quant aux réactions menant vers des métabolites néfastes il est nécessaire de les connaître pour prévenir la formation de pathologie comme le cancer du côlon(par exemple : après une exposition élevée et ou prolongée à l'ammoniaque).

Le microbiote et l'hôte sont deux entités se complétant entièrement.   la vue de tous les mécanismes dans lesquels le microbiote joue un rôle il est compréhensible que sa composition soit déterminante pour le bon fonctionnement de l'organisme. Aujourd'hui les recherches sur le microbiote sont en expansion. De plus en plus de liens entre des pathologies dont l'étiologie reste inconnue et le microbiote sont en train d'être étudiés. Notamment les MICI et la PRD (PRD), où les manifestations recensées sont des symptômes majoritairement gastro-intestinaux et où la structure de l'épithélium est mise en jeu. Les prochains chapitres abordés se concentreront sur les généralités, les manifestations cliniques et histologiques ainsi que les processus inflammatoires étant communs aux trois pathologies, (rectocolite hémorragiques (RCH), maladie de Crohn (MC), et pelvic radiation disease). Ces éléments seront essentiels pour comprendre par la suite en quoi le microbiote pourrait être un acteur principal dans ces pathologies.

COMPARAISON ENTRE MICI ET PRD

Les MICI et la PRD

I. Présentation des MICI

A. L'origine des MICI

L'étiologie des MICI, qui comprend la RCH et la MC, reste à élucider. Les études semblent s'accorder sur l'implication d'un ensemble de facteurs, comprenant la génétique, les facteurs environnementaux et le microbiote intestinal (notamment dans la maladie de Crohn).

1. Origine génétique

L'exploration de la piste génétique a permis de constater que pour les deux pathologies il été relevé, pour quelques cas, des antécédents familiaux de MICI. Dans la RCH, les cas d'antécédents médicaux familiaux de MICI concernent 8 à 14% des patients (avec une prédominance de RCH) tandis que pour la MC ils représentent entre 2 et 14% des patients(27) (12% d'antécédent de MC)(28). De nombreux loci impliqués dans la physiopathologie des MICI ont été identifiés. Par des analyses de métagénomiques réalisées sur 75000 patients (patients MICI et contrôles), 163 loci ont été associés avec l'expression de la RCH et la MC.(29). La génétique joue un rôle important dans l'expression des deux maladies. Cependant, l'incidence des MICI à travers le monde, ainsi que la variabilité inter-individuelle des symptômes, ont permis de mettre en évidence d'autres facteurs dans l'expression de la maladie.

2. Origine environnementale

La cartographie des incidences des MICI a permis d'identifier les pays les plus concernés et ceux pour lesquels la maladie est émergente. Bien que les MICI soient des pathologies de plus en plus communes à travers le monde, on peut remarquer une répartition bien délimitée de leur incidence. L'Europe, l'Amérique du Nord et l'Australie sont beaucoup plus touchées que le reste du monde(30). Dans ces pays, la prévalence des MICI rapportée dans une étude de 2017 est de 0,3%(31). Ce gradient « pays du Nord/pays en voie de développement » peut potentiellement s'expliquer par les différents modes de vie, les habitudes alimentaires etc. En ce qui concerne la RCH, le nombre de cas dans les pays industrialisés reste désormais stable.

A l'inverse, l'incidence de la MC est en augmentation, notamment chez les patients les plus jeunes. Cependant, pour les deux pathologies, il a été constaté une hausse de cas dans des pays où jusqu'ici la prévalence était faible (Inde, Chine..)(31). L'émergence et l'accroissement du nombre de cas pourraient s'avérer être une conséquence de l'industrialisation de ces pays. De plus, la descendance d'immigrés ayant adopté le mode de vie des pays du Nord a autant de risque de développer une MICI que la descendance des locaux. Cela appuie l'importance des facteurs environnementaux dans le l'apparition des MICI.

B.Définir les MICI

Les rectocolites hémorragiques et la maladie de Crohn sont des maladies qui évoluent par poussées. Le patient alternera entre périodes de crise et de rémission. D'un patient à un autre, ses poussées peuvent être plus ou moins sévères. La durée entre chaque crise n'est également pas la même pour tous.

La maladie de Crohn peut atteindre différentes parties du tube digestif, de l'anys au rectum. Les symptômes ne seront pas les mêmes entre une atteinte du côlon et celle de l'intestin grêle (généralement plus sévère). D'un point de vue moléculaire, elles sont d'ailleurs considérées comme deux entités distinctes : la maladie de Crohn du côlon et la maladie de Crohn de l'intestin grêle(32). Malgré la distinction de ces atteintes, une variabilité inter-individuelle subsiste au sein même de chacune de ces entités. Il en va de même pour la RCH, qui elle est une maladie qui atteint le rectum ainsi que le côlon dans certains cas. Les patients n'auront pas nécessairement, ni la même sévérité ni la même évolution de la maladie. Cependant la tendance à développer des stades plus sévères de la maladie est plus fréquente chez les patients ayant une MC. En général les patients atteints de RCH recourent moins souvent à une colectomie ou à la prise de cortico ides (indicateur de la sévérité de la maladie). Pour la RCH il est possible, bien que peu probable, que la maladie ne s'exprime qu'en une seule crise au cours de la vie d'un patient (dans ce cas l'unique crise en question est celle qui a permis le diagnostic). Rien n'indique que ce soit possible dans la MC. Alors que dans la RCH, 10 à 15% des patients auront fait l'expérience d'une crise aigüe de leur pathologie(33), 20% des diagnostics de MC se font après une crise sévère, dénotant une proportion plus élevée de forme aigüe(34).

C.Diagnostic

L'âge des patients au diagnostic n'est pas le même entre les deux pathologies. La MC est plus souvent diagnostiquée chez des patients entre 20 et 30 ans, contre 40 à 50 ans pour les RCH. La sévérité de l'évolution de la MC est inversement proportionnelle à l'âge du diagnostic. Au contraire, pour la RCH, plus l'âge du diagnostic est précoce (< 30 ans) plus le risque de développer des formes sévères est élevé. Il a été remarqué que l'on pouvait estimer la fréquence des crises à partir de la durée entre la première et deuxième. Plus le temps entre ces deux crises est court plus le risque d'avoir des récurrences est élevé.

D.Facteurs de risque des maladies

Les facteurs de risque identifiés dans les RCH et la MC sont similaires à une exception près : la cigarette. Elle est identifiée comme étant un facteur aggravant dans la MC, mais un facteur protecteur dans la RCH. L'effet ne viendrait pas directement de la nicotine, dont l'utilisation orale dans la RCH et la MC a jusqu'ici montré des résultats contradictoires. La piste des composants de la fumée de cigarette est explorée pour déceler si, par exemple, le monoxyde d'azote ou le stress oxydant engendré par la cigarette seraient les raisons de ces effets. Cependant rien n'a été confirmé pour l'instant.

Les facteurs de risques identifiés, en lien avec la situation médicale actuelle ainsi qu'avec les antécédents médicaux des patients sont multiples. Celui présentant le plus de corrélation est l'ablation de l'appendice. Il concerne seulement les RCH. Les études tendent à démontrer qu'une appendicectomie réduisait le risque de développer une RCH(35). Ensuite la prise de certains médicaments semble également avoir une influence dans le développement des MICI. L'exposition à des molécules notamment les médicaments hormonaux (les contraceptifs et les traitements hormonaux substitutifs (THM))(36–38) mais également les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été suspectés d'influencer le développement de MICI. Pour les AINS, leur exposition prolongée seulement est incriminée(39). Les autres médicaments pressentis d'avoir une influence sur le développement de MICI sont les antibiotiques. L'action des antibiotiques sur l'état du microbiote pourrait engendrer des conséquences délétères pour le système digestif. Il a été mis en évidence qu'une prise d'antibiotique chez des jeunes enfants aurait un impact sur le développement de MICI avec un plus grand risque de développer plus tard une MC que des RCH(40,41). L'altération du

microbiote alors qu'il n'a pas encore atteint son équilibre semble provoquer des conséquences irréversibles chroniques visibles au long terme. Chez l'adulte il a déjà été fait état de l'impact d'une administration d'antibiotique sur le microbiote. Les antibiotiques peuvent engendrer un changement réversible d'état du microbiote, mais également, provoquer un changement stable néfaste appelé dysbiose. L'affection du microbiote par la prise d'antibiotique semble être dépendante de la classe thérapeutique administrée. Certaines familles d'antibiotiques ne provoqueraient que des changements réversibles de la composition microbienne intestinale. L'état stable sain présent avant le traitement est alors retrouvé plusieurs semaines après l'arrêt du traitement. D'autres, comme les antibiotiques visant les bactéries anaérobies (ex : vancomycine), conduisent à la disparition de quelques espèces bactériennes(42,43). Les études sur les antibiotiques mettent en lumière que le microbiote semble jouer un rôle dans le développement des MICI.

S'ajoute aux études sur les antibiotiques d'autres sur les prémices de la colonisation des micro-organismes chez le nouveau-né. Il semblerait que l'allaitement et l'accouchement par voie basse soient des éléments protecteurs vis-à-vis des MICI. Néanmoins, la divergence des résultats des cohortes ne permet pas de conclure. Il est cependant à noter que, s'il y a bien un effet protecteur de l'allaitement et de l'accouchement par voie basse, celui-ci concerne plus une protection envers les RCH qu'envers la MC. La protection que pourrait conférer l'accouchement par voie basse et l'allaitement peut être mise en lien avec la transmission du microbiote effectuée au cours de ces pratiques. Le bénéfice, à court et long terme, de la transmission de bactéries urogénitales, fécales et des anticorps de la mère a été démontré (44-46).

Enfin, l'alimentation, au centre de nombreuses pathologies, est également identifiée comme facteur de risque dans les MICI. Certains aliments seront bénéfiques pour contrer l'inflammation (comme les fruits et légumes), quand d'autres seront plus propices à la déclencher. Le microbiote intestinal, pourrait pouvoir agir sur l'influence de l'alimentation dans les MICI. Il dégrade les fibres apportées par la consommation notamment de fruits et de légumes en des AGCC qui procurent des propriétés anti-inflammatoires attribuées à ce type d'aliment (47-49). Les graisses saturées ne sont pas considérées comme apportant des éléments protecteurs vis-à-vis des MICI. Leur consommation semble même plutôt favoriser

le développement d'une inflammation intestinale(50,51). En parallèle de l'alimentation, le stress ainsi que le temps de sommeil sont des facteurs importants dans l'apparition de MICI(52,53).

Les MICI semblent être une traduction d'une inflammation incontrôlée dans le tube digestif. Ce ne sont pas les seules pathologies où l'on retrouve ce phénomène. En effet, la PRD partage la même conséquence.

II.La PRD

A.Origine de la PRD

1.Utilisation de la radiothérapie

Le nombre de diagnostics de cancer en 2018 est estimé à 18,1 millions dans le monde. La même année, le nombre de décès attribués aux cancers est évalué à 9,6 millions. Une hausse du nombre de nouveaux diagnostics, mais aussi de décès, liés aux cancers est signalée puisqu'en 2015, les chiffres étaient respectivement de 17,5 millions et 8,7 millions. En France les derniers chiffres détaillés, recensés, concernent l'année 2017 avec environ 400000 nouveaux cas détectés et 150 000 décès(54).Parmi les nouveaux diagnostics, 170 244, sont estimés dans la zone pelvienne, avec par exemple 12,9% de cancers de la prostate, 11,5% cancers colorectaux, 3,4% cancers de la vessie et 2,8% cancers du col de l'utérus ou de l'endomètre.

Pour les combattre, différentes stratégies thérapeutiques sont proposées. Parmi elles, se trouvent notamment la chirurgie, la chimiothérapie, l'immunothérapie, et la radiothérapie, elles peuvent être utilisées seules ou en synergie. Les thérapies permettant de combattre le cancer sont drastiques. Les patients ayant suivi des thérapies anti-tumorales déclarent dans 20 à 25% des cas, que ces traitements ont affecté leur qualité de vie(55). Dans le cas particulier de la radiothérapie 75% des patients souffrent d'effets secondaires radio-induits(56). Or, la radiothérapie est fréquemment utilisée. Elle est intégrée dans trois stratégies thérapeutiques différentes. La radiothérapie néo-adjuvante, où elle est effectuée dans le but de diminuer la taille de la tumeur préalablement à une exérèse chirurgicale. La radiothérapie adjuvante, qui

fait suite à la chirurgie et permet d'éliminer les reliquats de cellules cancéreuses. Enfin, la chimio-radiothérapie quand la radiothérapie agit en synergie d'un traitement médicamenteux anti-cancéreux(57).

2.Fonctionnement de la radiothérapie

La radiothérapie utilise des rayonnements ionisants de haute énergie, qui, en traversant un atome, le transforme en ion. La traduction moléculaire de cet effet direct est l'altération/destruction de toutes les structures de la cellule, comme les protéines, les lipides et également les nucléotides, qui forment l'ADN cellulaire. L'endommagement de l'ADN génomique par les rayons peut s'effectuer selon deux processus : un direct et un indirect. Le processus direct correspond à des cassures simples et doubles brins de l'ADN engendrées par le déclenchement d'une production d'électrons, lorsque les rayonnements ionisants pénètrent dans la cellule. Le processus indirect est déclenché lors de la radiolyse des molécules d'eau par les rayons. S'en suit une libération d'espèces réactives de l'oxygène (ou reactiv oxygen species ROS) dont la présence induit des dommages à l'ADN. Bien que l'ADN possède des capacités de réparation, il est possible que des erreurs soient intégrées dans la séquence au cours du processus. L'instabilité génomique qui en découle a pour conséquence l'entrée de la cellule en mort programmée par apoptose ou en senescence(58).

3.Conséquences de la radiothérapie sur le tissu sain : à l'origine de la PRD

La radiothérapie a pour cible les cellules cancéreuses. Ces dernières possèdent des capacités de prolifération importantes. En conséquence, leur ADN se trouve dans un état déroulé. Ainsi, leur sensibilité à l'irradiation est plus élevée qu'une cellule saine. Pour autant, les cellules du tissu sain peuvent recevoir des doses d'irradiation, en découle l'initiation du processus de stress oxydatif et d'inflammation dans le tissu. Les conséquences peuvent conduire à la mort primaire ou retardée des cellules saines. Au cours de leur mort, les cellules ont la capacité de produire des molécules toxiques, qui, en se déplaçant, transmettent à des cellules voisines, l'effet de l'irradiation. Ainsi, l'exposition à des rayonnements ionisants peut engendrer un effet de proximité appelé « bystander effect ». Il est possible que les tissus exposés à l'irradiation puissent se trouver dans des organes radiosensibles. La radiosensibilité est déterminée en fonction de l'importance du taux de cellules qui possèdent les caractéristiques suivantes : indifférenciées, qui se divisent rapidement et qui ont un métabolisme important. Ainsi les organes possédant une grande proportion de ce type de cellules seront plus sensibles

  l'irradiation. En conséquence, dans ces organes les processus de réparation sont altérés, le tissu ne peut donc pas se régénérer(59).

4. Aménagement des protocoles de radiothérapie

Dans le but de diminuer la radiotoxicité aux tissus sains, des protocoles de radiothérapie adaptés ont été imaginés. La mise en place de délivrance en doses fractionnées fait partie des stratégies de contrôle de la toxicité. Les cellules cancéreuses ne disposent pas d'un système de réparation optimal. Ainsi, le temps nécessaire pour qu'elles bénéficient d'une réparation fonctionnelle est plus long que pour une cellule saine. En espaçant les séances de radiothérapie, les cellules saines peuvent finaliser leur processus de réparation contrairement aux cellules cancéreuses qui ne peuvent pas achever le leur. En fonction du profil du patient et du cancer, chacun se voit attribuer une dose d'irradiation totale à bénéficier ainsi qu'un protocole personnalisé de répartition des doses/séance. Le type de radiothérapie utilisé est nommé la radiothérapie fractionnée. Il en existe trois types différents. Le normo-fractionnement qui suit une délivrance de dose entre 1,8 et 2Gy par semaine jusqu'à l'obtention de la dose totale établie préalablement. L'hypo-fractionnement, où, en comparaison au normo-fractionnement, la dose journalière délivrée est plus élevée et le temps de traitement est raccourci. Enfin l'hyper-fractionnement, consistant en l'administration de petites doses (<2Gy) plusieurs fois par jour. Ainsi, par rapport au normo-fractionnement, la dose journalière reçue, est ici, plus élevée mais le temps de traitement reste cependant inchangé. Le protocole de radiothérapie sélectionné répond toujours au meilleur rapport bénéfice/risque avec une atteinte maximale des cellules cancéreuses et minimales des cellules saines(60).

5. Incidence de la PRD

Les améliorations des stratégies thérapeutiques contre le cancer amènent à une augmentation du taux de patients guéris. En conséquence le nombre de survivant ayant bénéficié de la radiothérapie augmente, donc le risque de développer des pathologies liées à l'irradiation aussi. En ce qui concerne le cas spécifique de la PRD, une étude, basée sur les données de son incidence actuelle, a estimé que d' ci 2030, 5-10% des patients ayant suivi un traitement par radiothérapie pour le cancer de la prostate, de l'utérus, du rectum, du col de l'utérus et de l'anus seraient atteints de PRD(61). De plus en 2014 il a été souligné que

l'incidence de la PRD était plus élevée que celle des MICI(62).

B.Définir la PRD

Malgré tous les efforts mis en place dans le cadre de la radiothérapie, le risque d'atteinte du tissu subsiste toujours. L'endommagement du tissu par les rayonnements ionisants peut conduire au dysfonctionnement de l'organe. Ce phénomène a été observé dans le cadre de radiothérapie de la zone pelvienne. Deux types de complications à la radiothérapie pelviennes sont distingués. Les premières à survenir sont les complications aiguës, qui concernent 90% des patients et se manifestent au cours de la radiothérapie et/ou jusqu'à trois mois après la fin des séances. Les effets aigus apparaissent comme bénins malgré qu'ils soient handicapants. Par la suite, peuvent se développer des complications tardives. Elles concernent 5 à 20% des patients et peuvent survenir dans les 5 ans suivant la fin de la radiothérapie jusqu'à 20 ans après(63). De nombreux symptômes sont communs entre les effets aigus et tardifs. Cependant, les effets tardifs présentent des symptômes aggravants. Ils sont reconnus comme une maladie chronique. De plus il semblerait que les effets aigus aient tendance à se résorber d'eux-mêmes ce qui n'est pas le cas des effets tardifs. Le lien entre manifestations aiguës et tardives reste, aujourd'hui, un point de discorde qui anime les spécialistes. Une doctrine attribue aux effets aigus le développement des effets tardifs, soit qu'il existe des effets cons quentiels(64). Plus les effets aigus sont sérieux plus le risque de développer des effets tardifs de la même acuité est élevé. Cependant, en clinique, aucun consensus n'est établi, ainsi cette doctrine reste, à l'heure actuelle, une hypothèse.

C'est dans ce contexte de toxicité radio induite aiguës et tardive que le Pr. Andreyev et son équipe ont annexé tous ces effets dans une seule et même pathologie, qu'ils ont nommé la PRD. La définition alors instituée est la suivante « problèmes transitoires ou à long terme, classés de modérés à très sévères, se développant sur des tissus non-cancéreux à la suite d'un traitement par radiothérapie pour une tumeur d'origine pelvienne »(65). La PRD n'est pas une pathologie rare. En effet, 90% des patients ayant bénéficié d'une radiothérapie pelvienne ont constaté un changement de fonctionnement de leur système digestif. De plus elle est responsable d'une diminution de la qualité de vie des patients allant de modérée jusqu'à sévère dans 20 à 40% des cas(66). La PRD est une pathologie démontrant des atteintes dans

différents organes, ainsi elle est divisée en trois pathologies : l'entérite radique (quand les organes atteints sont l'intestin grêle et/ou le gros intestin), la cystite radique (lorsque l'atteinte concerne la vessie) et la proctite (ou rectite) radique (dans le cas où le rectum est affecté).

C.Diagnostic

1.Difficultés rencontrées

La diversité des atteintes présentes au cours de la PRD explique l'hétérogénité des modèles utilisés dans l'étude de la pathologie. En conséquence la PRD reste une pathologie encore peu comprise et donc méconnue en clinique. Quand bien même la communication entre soignants (radiologues, gastroentérologues, médecins généralistes) est de nos jours prolifique, certains éléments essentiels au diagnostic peuvent être omis. S'ajoute à cela le fait que les patients, n'étant pas suffisamment informés, ne déclarent pas toujours leurs symptômes. En résulte des difficultés à établir un diagnostic. Dans le but d'aider au diagnostic, un outil d'aide à l'identification de la PRD sous forme d'algorithme a été instauré dans les années 2000(67). Cependant, malgré les dispositions mises en place, un sous diagnostic demeure. Il est considéré que la moitié des patients, souffrant de PRD, qui partagent leur symptôme à leur médecin, se voient orienter vers une MC(65).

Cette sous-estimation de l'incidence de la PRD, réduit également la prise de conscience de la nécessité de développer une stratégie thérapeutique pour soigner ces patients.

Bien que la PRD soit encore peu connue certains facteurs de risque à son développement ont été identifiés.

D.Facteurs de risques

La limitation de la prévalence de la PRD est possible grâce aux connaissances acquises sur les mécanismes impliqués dans la pathologie mais également sur l'identification des facteurs pouvant augmenter le risque de contracter une PRD. Les facteurs de risque sont liés à l'irradiation, aux patients et à l'environnement.

Vis-à-vis des patients les caractéristiques distinguées comme étant des facteurs de risque sont l'indice de masse corporel (IMC), le sexe et les comorbidités. Selon les études, les

patients avec un IMC faible sont plus susceptibles de développer des complications radio-induites(68). De plus les individus de sexe féminin ont été notifiés comme étant également plus à risque(69). Enfin parmi les comorbidités on retrouve des pathologies comme le diabète. Les patients diabétiques développent dans 28% des cas des effets secondaires radio induits, contre 17% pour les non diabétiques(70). De plus, les personnes ayant bénéficié des actes chirurgicaux au niveau abdominal et/ou pelvien sont également plus sujets aux complications(71). En ce qui concerne l'irradiation, il a été soulevé que plus la dose était élevée, plus le risque d'avoir une expression sévère de la maladie (basé sur la gravité des symptômes) était grand(72).

Pour ce qui est des facteurs environnementaux, le premier identifié est la cigarette. La nicotine et la fumée de cigarette contiennent des gaz oxydants qui sont très toxiques. Lors d'une exposition prolongée à ces toxiques l'endothélium est fragilisé. Les fumeurs sont par conséquent plus à même de développer des effets secondaires radio-induits.

Malgré la limitation des facteurs de risque, la PRD est une pathologie de plus en plus courante. De plus les traitements disponibles ne sont que symptomatiques. Les MICI et la PRD sont la conséquence d'une inflammation incontrôlée au niveau du système digestif. Il m'a paru intéressant de comparer dans les chapitres qui suivent ces différentes pathologies d'un point de vue clinique, histologique et inflammatoire afin d'identifier leur degré de similitude.

III. Les manifestations cliniques des MICI et PRD

A. Distinction

La RCH, la MC et la PRD ont différents degrés de gravité. Leur évaluation s'effectue à l'aide de scores ou d'indices, réunissant les symptômes caractéristiques des maladies, leurs fréquences etc. Ils permettent de donner une indication sur l'avancement des pathologies.

La RCH et la MC ont des indices spécifiquement conçus pour leur évaluation. Dans la RCH, le score de Mayo (*Tableau I.A.*) prend en compte les signes cliniques et endoscopiques. Il permet, de rendre compte de la sévérité de la maladie en classant cette dernière de légère, modérée ou sévère. Il y a également le score de Powell-Tuck (*Tableau I.B.*), définit comme un score d'activité clinico- endoscopique.

A

Score	Disease activity	Endoscopic features
0	Normal or inactive	None
1	Mild	Erythema, decreased vascular pattern, mild friability
2	Moderate	Marked erythema, absent vascular pattern, friability, erosions
3	Severe	Spontaneous bleeding, ulceration

Symptom	Score
B <i>Bowel frequency (day)</i>	
3-6	1
>6	2
<i>Stool consistency</i>	
formed	0
semi-formed	1
liquid	2
<i>Abdominal pain</i>	
before/after BM	1
prolonged	2
Anorexia	1
Nausea/Vomiting	1
<i>General Health</i>	
normal	0
slightly impaired	1
activities restricted	2
unable to work	3
<i>Extracolonic manifestations</i>	
one/mild	1
more than one/severe	2
<i>Abdominal tenderness</i>	
mild	1
marked	2
rebound	3
<i>Body temperature</i>	
<37.1	0
37.1-38	1
>38	2
<i>Blood in stool</i>	
trace	1
more than trace	2
<i>Sigmoidoscopy</i>	
non-hemorrhagic	0
friable	1
spontaneous bleed	2

Tableau I. A. Score de Mayo ; B. Score de Powel Tuck

L'indice d'activité de la maladie de Crohn (CAI) (*Tableau II.A.*) et l'indice d'Harvey-Bradshaw (*Tableau II.B.*) permettent d'estimer l'activité de la MC. Le nombre de points obtenus indiquera si le patient est en poussée ou en rémission.

A

Variable	Quantity	Multiple	Total
Number of liquid or soft stools per day		2	
Abdominal pain (0 = none, 1 = mild, 2 = moderate, 3 = severe)		5	
General well being (0 = well, 1 = slightly under par, 2 = poor, 3 = very poor, 4 = terrible)		7	
Number of complications: arthralgias, iritis, erythema nodosum, pyoderma gangrenosa, aphthous ulcerations, anal fissure, anal fistula, anal abscess, fever > 37° past week, intestinal obstruction		20	
Opiates for diarrhea (no = 0, yes = 1,)		30	
Abdominal mass (no = 0, questionable = 2, yes = 5)		10	
Deviation from normal hematocrit (N = 42 for female, 47 for male)		6	
% deviation from standard weight		1	
Total CDAI			

From Best *et al*²²: CDAI < 150 = remission; > 450 = severely ill.

B

— General well being (0=very well; 1=slightly below average; 2=poor; 3=very poor; 4=terrible)
— Abdominal pain (0=none; 1=mild; 2=moderate; 3=severe)
— Number of liquid stools per day (0=0–1 stools; 1=2–3 stools; 2=4–5 stools; 3=6–7 stools; 4=8–9 stools; 5=10+ stools)
— Abdominal mass (0=none; 1=dubious; 2=definite; 3=tender)
— Complications Arthralgia, uveitis, erythema nodosum, aphthous ulcers, pyoderma gangrenosum, anal fissures, new fistulas, abscesses (1 point for each)
— Total score

Remission: HBI score <3 points.
Relapse: HBI score >7 points.

Tableau II.A. CDAI ; B. Indice d'Harvey-Bradshaw

Dans la PRD, une caractérisation, par degré de gravité des effets indésirables aux traitements anticancéreux, (Common terminology criteria for adverse event : CTCAE) (Tableau III.A.) et à l'irradiation (Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group : RTOG) (Tableau III.B.) pour chaque organe a été mis à la disposition des professionnels de santé afin de classer les atteintes des patients. La graduation va du grade 1, représentatif des atteintes légères, au grade 5 qui est la mort du patient. Ils sont utilisés pour mesurer l'acuité de la PRD.

A Acute nausea grade

Grade 0	None
Grade 1	Loss of appetite without alteration in eating habits
Grade 2	Oral intake decreased without significant weight loss, dehydration, or malnutrition
Grade 3	Inadequate oral caloric or fluid intake; tube feeding, TPN, or hospitalization indicated
Acute vomiting grade	
Grade 0	None
Grade 1	1 to 2 episodes in 24 h
Grade 2	3–5 episodes in 24 h
Grade 3	≥6 episodes in 24 h; tube feeding, TPN, or hospitalization indicated
Grade 4	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated
Grade 5	Death

B

RTOG/EORTC grade	Description
Grade 0	No symptoms
Grade 1	Mild diarrhea, mild cramping, bowel movement five times daily. Slight rectal discharge or bleeding
Grade 2	Moderate diarrhea and colic bowel movement >5 times daily Excessive rectal mucus or intermittent bleeding
Grade 3	Obstruction or bleeding requiring surgery
Grade 4	Necrosis/perforation/fistula

RTOG, Radiation Therapy Oncology Group; EORTC, European Organization for Research and Treatment of Cancer.

Tableau III.A. CTCAE ; B. RTOG

Dans tous ces indices, sont retrouvées des informations concernant, le nombre de selle, la présence de sang dans les selles, la sévérité des douleurs abdominales. Certains, comme le CTCAE et le CDAI demandent une évaluation très poussée comprenant de nombreux symptômes, dont des extra-intestinaux (pour le CDAI). Les autres se concentrent sur les manifestations les plus courantes de chacune des pathologies.

Les symptômes des trois pathologies dépendront du niveau d'atteinte et de l'organe qui en est concerné. Un répertoire des différentes manifestations, non exhaustives, de chacune des pathologies est réuni sous forme de tableau (*Tableau IV.*). Le texte qui s'en suit décrira ceux qui sont les plus courants.

B.Symptômes des MICI

1.RCH

La RCH tient son nom du symptôme inévitable dans l'expression de la maladie, soit la présence de sang dans les selles qui sont majoritairement sous forme liquide (diarrhée). Les diarrhées peuvent entraîner des fissures anales ou des irritations de la peau. Ce ne sont cependant pas les seules manifestations présentes dans la maladie. Les symptômes peuvent inclure également des urgences, des incontinences, une augmentation du péristaltisme intestinal, des sécrétions de mucus, des défécations nocturnes, des crampes intestinales (voir *Tableau.7*). La présentation clinique de la maladie dépend de son extension au sein des organes. Les patients avec des rectites présenteront plutôt des urgences et des ténésmes tandis que les symptômes prédominants des patients avec une pancolite seront majoritairement des saignements et des douleurs abdominales. Dix pour cent des patients avec des rectites ou des colites gauches peuvent souffrir de constipation. Lors de l'examen sanguin et rectal des patients il est possible de retrouver des signes d'anémie et de sensibilité de l'abdomen. Aux cours des examens il est possible d'identifier une distension abdominale ou un tympanisme qui sont alors des indicateurs d'une potentielle dilatation du côlon. Les symptômes reflètent la gravité de la maladie. La fièvre et la perte de poids peuvent apparaître comme indicateurs de la gravité des RCH. Bien que rare, certains patients présentent une forme sévère de RCH dès l'initiation de celle-ci. Cela concerne 15% des patients(73). Dans les formes sévères le risque de nécessité d'une colectomie est plus élevé. La colectomie concerne 20 à 25% des patients sévèrement atteints quand le risque de faire l'expérience d'une colectomie 5 à 10 ans après le diagnostic est de 5 à 10% chez les patients atteints de RCH modérée(74).

Il est possible que les patients développent des symptômes extra-intestinaux. L'arthrite est un de ces symptômes le plus rencontré. Il est également courant également de voir des cholangites sclérosantes et de pyoderma gangrenosum. La RCH augmente le risque de développer des thromboembolismes veineux, ce risque est 3 à 4 fois plus élevé chez ces patients.

2.MC

Chez les patients atteints de Crohn les manifestations cliniques les plus communes sont une douleur dans la partie basse à droite de l'abdomen des diarrhées chroniques et une perte de poids. Tous les signes périanaux concernent majoritairement les patients souffrant d'un Crohn colique. Les manifestations périanales sont fréquentes puisqu'elles touchent 1/3 des patients. En règle générale beaucoup de symptômes sont communs entre la maladie de Crohn et la RCH. Notamment les diarrhées, les rectorragies, les douleurs abdominales etc...(voir *Tableau.7*) La différenciation d'un Crohn du côlon d'une RCH repose sur le profil du patient mais aussi, et surtout sur des arguments histologiques obtenus par différents examens.

Alors qu'il est peu fréquent dans le RCH, dans la MC le recours à la chirurgie pour traiter la maladie est courant, 80% des patients en sont concernés(75).

La MC peut également entraîner des symptômes extra-intestinaux. Parmi eux, se présentent des arthropathies, le développement d'ostéoporose, de symptômes oculaires mais aussi des manifestations cutanées (erythema nodosum, et pyoderma gangrenosum) et des maladies hépatobiliaires (notamment la cholangite sclérosante primitive). Le caractère hépatotoxique de certains traitements prescrits dans la MC ajoute un risque au développement de cette hépatotoxicité. Comme pour les patients RCH, la MC augmente le risque de complications thromboemboliques.

La RCH et la MC sont considérées comme des facteurs de risque du développement de cancers colorectaux.

3.PRD

La PRD a été décrite comme une pathologie se divisant en deux phases : la phase aigüe et la phase chronique. Chacune de ces phases présentent des symptômes particuliers. La phase aigüe comprend des nausées, des diarrhées, des tenesmes, des crampes abdominales, des sécrétions de mucus, des urgences fécales, de la perte d'appétit et des saignements. Les saignements touchent 50% des patients qui ont bénéficié d'une radiothérapie pelvienne(66). Ces saignements sont la conséquence de télangiectasies radio-induites qui apparaissent au

niveau de la paroi rectale. La PRD chronique est un facteur de morbidité chez les patients ayant reçu une radiothérapie. Les symptômes tels qu'une motilité intestinale dérégulée, un mauvais transit et une malabsorption sont fréquemment retrouvés. Les patients traités par radiothérapie pour un cancer rectale ont un risque de développer une incontinence fécale. La PRD chronique peut mener à des complications comme des rétrécissements des adhésions des fissures, des saignements et des perforations de la paroi rectale. Ces symptômes sont la résultante de divers processus dont le point de départ est l'obstruction des artères intestinales menant à un défaut d'approvisionnement en oxygène. L'ischémie du tissu pourra avoir pour conséquence l'initiation d'un processus fibrotique(66).

Parmi tous les symptômes décrits ci-dessus certains se manifestent fréquemment. Notamment la diarrhée, les urgences rectales, les saignements et l'incontinence fécale. Ils sont déclarés chez environ 5 à 50% des patients ayant suivi une radiothérapie dans le cadre de cancers pelviens(76).

La PRD, RCH et MC ont en commun des atteintes des organes du tube digestif. En conséquence elles partagent de nombreux symptômes. Il est donc intéressant d'étudier l'endommagement des tissus dans chacune de ces trois pathologies afin de voir si les atteintes histologiques observées chez les patients, présentent des ressemblances.

	Symptômes	Entérite radique		Rectite radique		MC iléal	MC colique	RCH
		Aigue	Chronique	Aigue	Chronique			
Symptômes généraux	nausées	x		x				
	fatigue	x	x	x		x	x	x
	douleurs abdominales	x	x	x	x	x	x	x
	diarrhées	x	x	x	x	x	x	x
	perte de poids		x			x	x	x
	constipation				x	x		x
	anémie		x		x	x	x	x
Atteinte intestin grêle	obstruction intestinales		x			x		
	fistules		x			x		
	incontinences fécales		x			x		
	perte de mucus		x					
	rectorragie		x			x		
	dysmotilité		x					
	sténose intestinale		x			x		
	malabsorption		x			x		
	perforation intestinale		x			x		
Atteinte côlon/rectum	abcès			x			x	x
	mélène						x	x
	rectorragie			x	x		x	x
	tenesme			x	x		x	x
	écoulement mucus				x		x	x
	fistule				x		x	x
	sténose rectale				x		x	x
	perforation intestinale				x		x	x
	augmentation péritaltisme				x			x
	défécation nocturne				x			x
	fissures				x		x	x

Tableau IV. Symptômes présents dans les RCH, MC et PRD (enterite radique proctite radique) en fonction de la localisation dans le tube digestif

IV. Les manifestations histologiques

Les analyses histologiques des prélèvements de patients dans le cadre d'identification des MICI se concentrent sur les deux points essentiels que sont l'état du tissu et la présence de l'inflammation. La localisation des atteintes donne des indications sur la pathologie. Comme il a été spécifié précédemment, dans la RCH les organes atteints sont le côlon, le rectum et dans de rares cas, l'iléum. Les dommages au niveau du côlon se trouvent, plus fréquemment, dans la partie gauche de l'organe. En ce qui concerne la maladie de Crohn, elle peut s'exprimer dans divers organes du tube digestif. Lorsque le côlon est touché, c'est la partie droite de l'organe qui est majoritairement atteinte.

D'un point de vue tissulaire les dommages présents dans l'épithélium des organes digestifs sont facilement identifiables puisque dans la RCH comme dans la MC la muqueuse est dite irrégulière, de plus des ulcérations sont visibles macroscopiquement. S'ajoute à l'apparence générale de la muqueuse des modifications importantes de la morphologie de l'épithélium intestinal et/ou colique. La structure des cryptes épithéliales peut avoir un aspect particulier. Généralement dans les sites lésionnels, les cryptes sont moins longues, et moins nombreuses, caractéristique d'une dystrophie architecturale. Il est possible de retrouver dans les deux pathologies, des *colitis cystica profunda*, caractéristique d'une atteinte profonde de l'épithélium(77,78).

Des distinctions morphologiques existent dans les deux pathologies. Leur identification facilite le diagnostic. L'atteinte épithéliale est généralement diffuse dans la RCH à la différence de la MC où elle est dite discontinue. De plus, la muqueuse dans la MC, peut se trouver boursouflée, ce qui lui donne un aspect pavé(79). Les lésions de la MC peuvent présenter un aspect aphtoïde qui n'est pas retrouvé dans la RCH. Des abcès cryptiques sont identifiables dans la RCH ainsi que dans la MC, même s'ils sont plus rares dans cette dernière(80). Dans la RCH il est possible de constater un abaissement de la production en mucine. De la même manière des métaplasies des cellules de Paneth sont majoritairement identifiées chez les patients RCH. En ce qui concerne l'hypertrophie musculaire, c'est dans la MC qu'elle peut être observée. En comparaison avec la RCH, il est caractéristique à la MC de trouver des rétrécissements des vaisseaux(81).

Au sujet de l'inflammation, les deux pathologies présentent une augmentation d'infiltration de cellules immunitaires dans le tissu. Dans la RCH, l'inflammation se cantonne à la muqueuse et sous-muqueuse dans la majeure partie des cas. Dans le cas de la MC l'inflammation est transmurale, elle peut atteindre les différentes couches du tissu. La présence de plasmocytose basale est fréquente et est un caractère commun aux deux pathologies(82).

Au cours des rémissions il est possible que l'épithélium répare et l'inflammation diminue. Cependant, au cours de la réparation, la muqueuse peut entamer un processus de fibrose. Bien que sa nature et son implication dans les deux pathologies des MICI soit encore peu connue, il semblerait qu'elle soit un facteur de gravité(83).

Dans la PRD, l'aspect histologique présente de nombreux points communs avec les MICI. Il est constaté la présence d'ulcération de la muqueuse. Quand l'épithélium présente encore des cryptes, ces dernières peuvent être irrégulières, déformées et en moins grand nombre(84). En fonction de la dose à laquelle le tissu a été exposé, il est possible de retrouver des atteintes transmursales, allant jusqu'au muscle et même la séreuse. L'atrophie des cryptes est identifiée dans la phase chronique de la maladie. S'ajoute également un changement dans la morphologie des vaisseaux, puisqu'ils présentent un rétrécissement(85).

D'un point de vue inflammatoire, comme dans la MC, un recrutement de cellules immunitaires pouvant être cependant transmurale, est constaté dans la PRD(86).

Dans la phase chronique, une installation de fibrose dans la muqueuse, dans la sous-muqueuse mais aussi dans la séreuse a également été constatée(87).

Il a été décrit qu'avec une simple analyse histologique de prélèvement issu de patients atteints de MICI et de PRD il était très difficile de dire à quelles pathologies était affilié chaque échantillon. Cela montre à quel point ces différentes pathologies présentent de nombreux points communs(88).

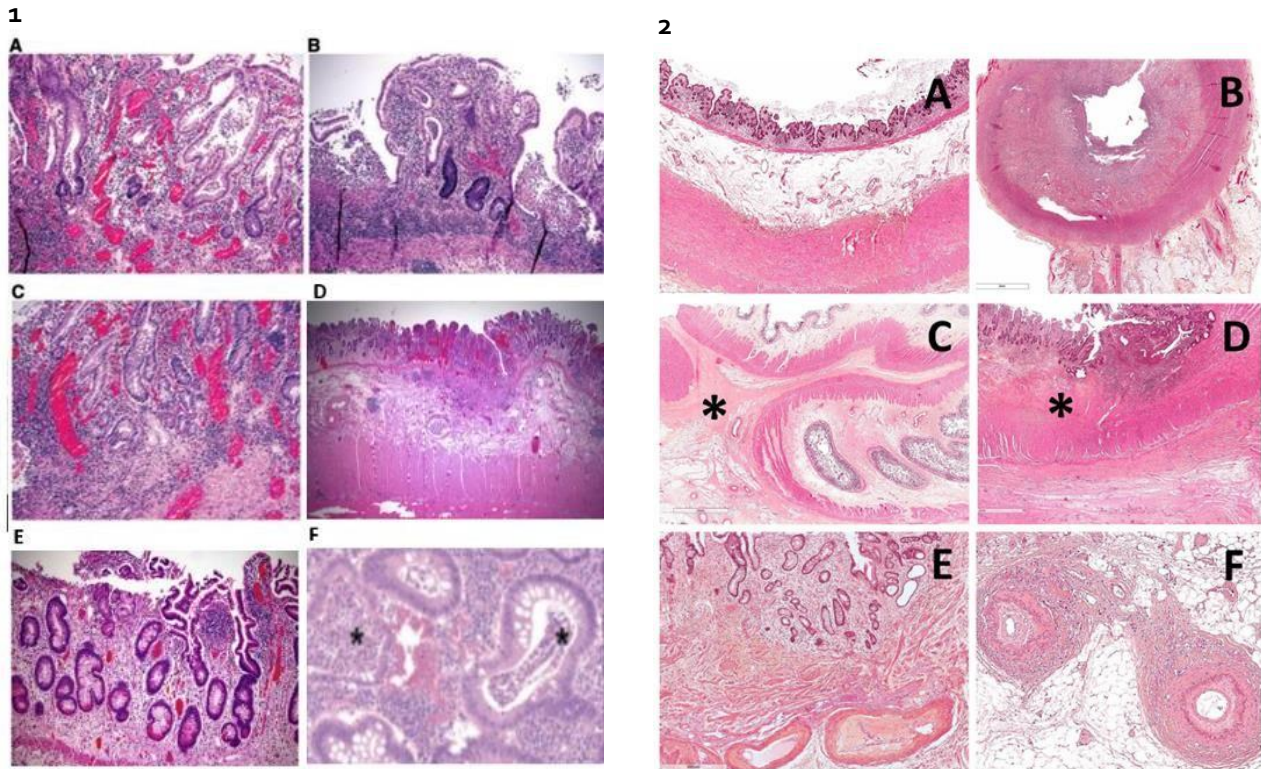


Figure 13.1. Atteinte tissulaire dans les MICI ;

A.B.C Atteinte tissulaire de l'épithélium dans la RCH. A.B distorsion des cryptes de la muqueuse ; C. métaplasie des cellules de Paneth. D.E.F : Atteinte tissulaire dans la MC. D. Ulcère fissurant au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle ; E. muqueuse de l'intestin grêle avec des métaplasie pylorique ; F. abcès cryptique dans la muqueuse(81,89,90).

2.. Aspect histologique de l'entérique radique

A. Lésions épithéliales sévères ; B. Ulcération provoquée par ischiémie de la muqueuse causée par une sténose ; C. Fibrose extra-murale mutilante (*) dans la sous séreuse ; D. Fibrose murale mutilante (*) ; E.F. Lésions vasculaires sévères d'artérite oblitérante au niveau des artères de la sous-muqueuse (E) et de la sous-séreuse (87).

Les atteintes histologiques du tissu dépendent du processus inflammatoire qui s'y produit. Au vu des ressemblances de l'histopathologie que présentent les MICI et la PRD, il est possible qu'elles partagent des mécanismes inflammatoires similaires.

V. Le processus inflammatoire

L'organisme humain dispose de mécanismes de défense, lui permettant de lutter contre tout ce qui peut lui nuire. Le processus englobant ces mécanismes de défense est appelé la réaction inflammatoire. C'est un processus complexe qui fait intervenir différents types cellulaires mais également de nombreux médiateurs chimiques.

Le processus inflammatoire peut avoir un retentissement local et/ou systémique. En fonction de l'origine du déclenchement de l'inflammation, de sa localisation histologique etc. son déroulement peut différer. Il est néanmoins observé un mécanisme systématique qui se déroule en quatre phases : la phase vasculo-exsudative, la phase cellulaire, la phase de déterction et la phase de réparation.

La phase vasculo-exsudative est caractérisée par trois manifestations : la congestion active, l'œdème inflammatoire et la diapédèse.

Au cours de la congestion active, les artères vont augmenter leur diamètre. La vasodilatation conduit à une augmentation du débit sanguin, donc de la quantité de sang à cet endroit. Elle est le résultat d'une relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires. L'ouverture des sphincters pré-capillaires permet de faire circuler plus de sang et, par conséquent de provoquer la congestion active. C'est le système nerveux sympathique qui, régit, majoritairement, le phénomène de congestion active, bien que, la présence de médiateurs chimiques joue également un rôle.

L'œdème est une manifestation traduite par une infiltration de l'eau qui va s'accumuler dans le milieu extracellulaire. Différents phénomènes sont à l'origine de la formation d'un œdème. Dans le cadre de l'inflammation, l'ouverture des sphincters pré-capillaires crée une augmentation de la pression capillaire, puis, la perméabilité des vaisseaux sanguins provoque l'infiltration de liquide. L'histamine, libérée par les cellules de l'inflammation présentes sur le site, est responsable de la perméabilité vasculaire. En ce qui concerne le liquide libéré dans les tissus dans un œdème inflammatoire, il est composé majoritairement de protéines.

Un œdème inflammatoire, possède de nombreux intérêts dans le déroulement de la réaction inflammatoire, il a notamment un rôle de défense se traduisant par diverses fonctions. Il permet de réunir des immunoglobulines, des constituants du système du complément et également des facteurs de coagulation. De plus, l'action de l'infiltration de liquide joue un rôle de dilution des toxines. D'autre part, une limitation du foyer infectieux est effectuée au cours de l'œdème. Le fibrinogène plasmatique par action de la thrombine forme de la fibrine, qui, grâce au facteur XIII, se ramifie. La barrière de fibrine a l'intérêt d'éviter la propagation potentielle d'agent infectieux dans le reste de l'organisme. Enfin, l'hémoconcentration provoquée par l'œdème inflammatoire a pour conséquence de ralentir la circulation et, donc, permettre la diapédèse leucocytaire.

Comme son nom l'indique, la diapédèse leucocytaire met en jeu les leucocytes, elle indique leur passage de la circulation sanguine au site d'infection. La première étape est la margination qui correspond au roulement des leucocytes sur les cellules endothéliales. Une fois rapprochés, les leucocytes peuvent se lier aux cellules endothéliales : c'est la phase d'adhérence. Elle est engagée grâce aux intégrines et à des protéines d'adhésion cellulaire (CAM), comme la cadhérine. Les leucocytes possèdent des récepteurs aux sélectines et aux intégrines. Les sélectines permettent aux leucocytes de se déplacer le long de l'endothélium, quant aux intégrines, elles, jouent le rôle d'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales. Une fois que les deux types cellulaires sont liés, arrive la troisième et dernière phase de la diapédèse leucocytaire : le passage trans-endothélial. Les leucocytes peuvent passer entre deux cellules endothéliales par dissociation local du système de jonction ou par des ouvertures se trouvant au niveau des vaisseaux appelés capillaires sinusoides. Chaque type de cellules immunitaires arrive dans un laps de temps précis. Les premiers à être engagés sont les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et enfin les lymphocytes.

L'afflux des cellules immunitaires, sur le site, crée un granulome inflammatoire. La lésion attire des cellules sanguines mais également des cellules du tissu conjonctif. Ainsi, dans ce granulome, se retrouve respectivement, les cellules sanguines évoquées précédemment : les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et les lymphocytes, et également, les cellules tissulaires que sont les fibroblastes, les cellules endothéliales, les mastocytes et les macrophages. Le granulome évolue en fonction du temps, mais pas seulement, le type d'inflammation a également une influence sur les populations cellulaires qui le forme. Dans un premier temps il sera riche en polynucléaires neutrophiles, emblème de l'inflammation

aiguë. Les polynucléaires neutrophiles ont une durée de vie courte, cela sous-entend, que pour garder un taux de neutrophile stable, il est nécessaire que leur production soit stimulée au cours de cette première phase de réponse cellulaire. S'en suit une augmentation de cellules mononuclées. Par exemple, les monocytes, qui une fois arrivés dans le tissu se différencient en macrophages ou en cellules dendritiques. La durée de vie des macrophages et des cellules dendritiques est plus élevée que celle des polynucléaires neutrophiles. Parmi les cellules mononuclées, il y a également, les cellules de la réponse adaptative : les lymphocytes, B et T. Dans le granulome inflammatoire les lymphocytes B se sont différenciés en plasmocytes, qui correspondent à leur forme mature. Les plasmocytes ont la capacité de sécréter les immunoglobulines là où les lymphocytes B les présentent à leur surface. Alors que les lymphocytes B sont retrouvés dans le sang ou la lymphe les plasmocytes sont exclusivement trouvés dans les tissus. A la suite de la propagation de cellules mononuclées dans le granulome, on retrouve une agglomération de fibroblastes et de cellules endothéliales. A ce stade, le granulome est appelé « bourgeon charnu ».

La réaction inflammatoire, bien qu'essentielle, notamment dans la réparation du tissu, peut, paradoxalement, entraîner des lésions tissulaires. Les leucocytes peuvent libérer des substances pouvant être toxiques à l'organisme. La libération d'enzyme, comme les protéases, en milieu extracellulaire peut être néfaste pour le tissu.

Parallèlement à la phase cellulaire a lieu la détersion. C'est une étape de nettoyage qui est déterminante pour la phase de réparation et cicatrisation qui lui fait suite. En effet, la détersion permet d'éliminer tous les résidus présents sur le site lésionnel, si le processus n'est pas complet, l'inflammation aiguë risque de se perpétuer, autrement dit, de devenir une inflammation chronique. Le processus de la détersion comprend deux mécanismes : le mécanisme interne et le mécanisme externe. Le mécanisme interne correspond à la phagocytose par les macrophages, qui éliminent les grosses particules, et les polynucléaires, qui eux, s'occupent des petites particules. Le mécanisme externe peut être spontané, par liquéfaction du matériel à éliminer et fistulisation de cet ensemble, ou provoqué, par excision chirurgicale.

Comme il a été évoqué précédemment, une détersion complète est l'étape initiale de la réparation du tissu. Les tissus qui ont des capacités régénératives peuvent se rétablir totalement. Ce n'est pas le cas des tissus non régénérants ou ceux qui ont subi une agression trop forte. Dans de tel cas la réparation comprendra une phase de cicatrisation.

La réparation-cicatrisation comprend diverses étapes. C'est un processus complexe dépendant de facteurs de croissances et de la communication cellule-matrice extracellulaire (MEC). Elle a pour but de combler la perte de substance due à la lésion formée préalablement ou au cours de l'inflammation. La première étape est la formation du bourgeon charnu ou « tissu de granulation ».

Le bourgeon charnu a une dynamique similaire à celle du granulome inflammatoire, sa composition change au cours du temps. Faisant suite au granulome inflammatoire, il garde, dans un premier temps, certains constituants de ce dernier. En parallèle, s'effectue une formation de néo-vaisseaux partant de zone proximale au site lésionnel jusqu'à celui-ci. L'augmentation du réseau sanguin au niveau du site lésionnel est proportionnelle, à celle des fibroblastes et de myofibroblastes au même moment. L'angiogenèse aura l'effet d'apporter de l'oxygène, tandis que, les fibroblastes et myofibroblastes, vont fabriquer les constituants de la matrice extra cellulaire (MEC). Initialement, les fibroblastes fabriquent, des glycoaminoglycanes tel que l'acide hyaluronique et le collagène III, ainsi que, de la fibronectine. Ensuite le collagène III cédera sa place à la fabrication de collagène I, collagène le plus abondant dans le corps humain et considéré comme étant plus résistant.

Tous ces mécanismes sont finement régulés, afin, d'obtenir une cicatrice permettant au tissu de retrouver sa fonctionnalité. La rupture de l'équilibre entre production de MEC et sa destruction, provoque le déclenchement de la fibrose. La fibrose est définie comme « une lésion non spécifique d'un organe donné, caractérisée par le développement de la matrice extracellulaire associée à la multiplication des fibroblastes résidents et de ceux issus de la transition épithélio-mésenchymateuse ou endothélio-mésenchymateuse, c'est-à-dire de l'acquisition par des cellules épithéliales ou endothéliales de propriétés et de marqueurs des fibroblastes ». On la rencontre souvent dans les processus inflammatoires, bien que ce ne soit pas les seuls cas où elle est présente. La fibrose peut induire la perte de fonctionnalité de l'organe dans lequel elle se déclenche.

Le déroulement d'un processus inflammatoire peut s'arrêter à l'étape de réparation et de cicatrisation, mais elle peut également se prolonger dans le temps. On retrouve ce phénomène au cours des pathologies chroniques liées au système immunitaire de l'hôte. L'origine du déclenchement de ces pathologies est diverse. La cause peut être externe : une exposition à un toxique, à un agent infectieux, elle peut également être interne : un dysfonctionnement du système immunitaire de l'hôte, mais encore, la cause peut être

idiopathique. C'est le cas des MICI dont l'origine des pathologies est toujours inconnue. Cependant, à l'aide des recherches effectuées depuis plusieurs décennies, des mécanismes liés à l'inflammation dans le cadre de ces pathologies ont été identifiés. On retrouve ces mêmes types de recherche dans le cadre des pathologies chroniques liées à l'irradiation. Bien que l'élément déclencheur soit connu, aucun mécanisme physiopathologique n'a jusqu'ici été mis en évidence. Les MICI et la PRD possèdent, comme il a pu être montré précédemment, de nombreux symptômes et atteintes histologiques communs. Les mécanismes inflammatoires sont en partie responsables de l'expression clinique de ces maladies. Les prochains paragraphes concerneront donc les fonctionnements de l'inflammation par l'étude du rôle qu'ont certaines cellules immunitaires dans ces différentes maladies. Les cellules abordées sont celles présentant des éléments de comparaison dans les trois pathologies.

VI. Les cellules immunitaires

A. Les cellules myéloïdes

1. Les polynucléaires neutrophiles

a. Généralités

Les polynucléaires neutrophiles sont les cellules immunitaires circulantes les plus abondantes dans l'organisme humain puisqu'ils représentent 65% des leucocytes circulants. Ils font partie de la lignée des cellules polymorphonucléaires, comprenant également : les polynucléaires éosinophiles et les polynucléaires basophiles. La particularité de ces cellules est qu'elles possèdent des noyaux polylobés. Les polynucléaires neutrophiles sont présents dans le sang où ils restent environ 24h, avant de rejoindre le tissu en cas d'inflammation. Une fois dans le tissu, ils ont une durée de vie d'environ 1 à 3 jours, ils y acquièrent leur fonction de phagocytose. S'ajoute à leur capacité de phagocytose celle de libérer des messagers chimiques pour les autres leucocytes. Ainsi, les neutrophiles sont des cellules anti-infectieuses et « tueuses ».

Le système immunitaire développe, au cours de sa formation, une tolérance envers les différents microbiotes présents dans l'organisme humain. C'est pourquoi, les tissus juxtaposés aux endroits où résident les microbiotes, ne sont pas colonisés par toutes les cellules immunitaires. Dans ce cas-là, le système immunitaire est en anergie. Ainsi, en condition physiologique les neutrophiles ne sont pas présents dans l'épithélium intestinal. En revanche, ils sont les premiers sur site en cas de rupture de la barrière épithéliale. Effectivement, la barrière épithéliale sépare la lumière de l'épithélium intestinal. La lumière intestinale est riche en micro-organismes qui forment le microbiote. En cas de passage d'un micro-organisme de la lumière à l'épithélium, les neutrophiles sont recrutés par les cellules immunitaires tissulaires pour détruire l'élément perturbateur à l'homéostasie intestinale.

Les neutrophiles possèdent différents phénotypes en fonction de l'environnement dans lequel ils se trouvent. Ainsi, au cours d'un processus inflammatoire ils peuvent avoir, un phénotype pro- ou anti-inflammatoire. En condition d'inflammation « normale » (non intégré à une pathologie inflammatoire), les neutrophiles, sécrètent des signaux dans le but de recruter d'autres leucocytes. Ensuite, les neutrophiles adoptent un phénotype qui entraîne leur apoptose et/ou leur phagocytose par les macrophages(91).

Dans le cas de processus inflammatoire chronique, un défaut dans l'élimination des

neutrophiles a été observé. Le phénotype majoritaire identifié alors est le « phénotype N2 » protumoral(92), dont, une des caractéristiques, est la diminution de l'expression du récepteur de FAS. Le récepteur de FAS (FasR) est une protéine transmembranaire qui, quand elle est liée à son ligand (FasL), peut induire l'apoptose de la cellule. Ainsi, en diminuant l'expression de ce récepteur, les neutrophiles inhibent une voie permettant leur destruction. La défaillance dans le processus d'élimination des neutrophiles entraîne une accumulation de leucocytes sur le site lésionnel et empêche l'initiation du mécanisme de réparation.

Au vu des conditions d'inflammations chroniques présentées dans les pathologies telles que les MICI et la PRD, l'engagement d'une défaillance dans le processus d'élimination des neutrophiles sur le site d'inflammation pourrait être un des mécanismes présents dans ces maladies.

b.MICI

Le degré d'implication des neutrophiles dans les MICI n'est pas élucidé. Cependant, leur population semble avoir un comportement dysfonctionnel dans ces maladies. Effectivement, alors qu'ils semblent en grande quantité dans les RCH, leur fonctionnalité apparait comme diminuée dans la MC(92–94). Deux voies peuvent être empruntées par les neutrophiles pour traverser la barrière endothéliale, la voie trans-cellulaire (à l'intérieur des cellules) et la voie para-cellulaire (entre les cellules). Ainsi, un passage excessif de ces cellules peut entraîner une dégradation de l'état des protéines de jonction, donc des cellules. En conséquence la perméabilité vasculaire est augmentée. De plus, l'accumulation des neutrophiles provoque un excès de libération de molécules pro-inflammatoires par les neutrophiles eux-mêmes, mais également par les cellules épithéliales environnantes. La viabilité des cellules épithéliales dans cet environnement inflammatoire diminue fortement. Par conséquent, s'ajoute à l'augmentation de la perméabilité de la barrière vasculaire celle de la barrière épithéliale. Les lésions retrouvées chez les patients RCH peuvent être la conséquence du passage, en excès, des neutrophiles de la circulation jusqu'au tissu(95). Une étude de 2001 a mis en lumière une des voies de passages empruntées par les neutrophiles pour rejoindre le site d'inflammation, chez des patients contrôles et des patients souffrant de RCH (RCH+). La voie étudiée est la liaison des intégrines CD11 et CD18 avec le récepteur ICAM-1 des cellules endothéliales. Les résultats de l'utilisation d'un anticorps bloquant l'intégrine CD11 montrent une diminution moyenne de 50% de la transmigration des neutrophiles chez les patients contrôles contre une diminution de 20% pour les patients RCH. Alors que chez les patients contrôles la transmigration des neutrophiles semblent être effectuée, en grande partie, par la

liaison CD11/ICAM-1, celle des patients RCH+ semblent emprunter une voie différente(96). Ainsi, dans les RCH, en plus d'avoir un nombre anormalement élevé de neutrophiles, ces derniers semblent emprunter des voies de transmigration différentes que celle retrouvée en condition physiologique.

L'hypothèse de la responsabilité de la transmigration des neutrophiles dans la formation des lésions épithéliales dans les MICI est renforcée par la présence en concentration élevée d'enzymes impliquées dans la voie des leucotriènes. Les leucotriènes, impliqués dans l'inflammation, sont les leucotriènes B₄ (LTB₄). Leur rôle est de recruter les leucocytes, dont les neutrophiles en premier lieu, là où le tissu intestinal est inflammé. En définitive, les neutrophiles arrivent sur le site de l'inflammation et relâchent des ROS, qui contribuent à augmenter l'endommagement du tissu. Les ROS ne sont pas les seuls éléments produits par les neutrophiles, participant à l'atteinte du tissu. La myélopéroxydase retrouvée également en concentration élevée chez les patients atteints de MICI favorise également la dégradation de l'état de l'épithélium(97).

L'activité pro-inflammatoire des neutrophiles est ensuite contrebalancée par une activité anti-inflammatoire par ces mêmes cellules. Une fois après avoir recruté les leucocytes, les neutrophiles sont stimulés pour produire des molécules anti-inflammatoires. Parmi elles, la Lipoxine A₄, dont le rôle est d'inhiber le recrutement des neutrophiles, ainsi que, leur migration du sang jusqu'au tissu(98). L'activité anti-inflammatoire des neutrophiles, en condition physiologique est marquée également par leur production en annexine A1. L'annexine A1 déclenche l'efferocytose des cellules qui la produisent. En libérant cette molécule, les neutrophiles engendrent leur apoptose réalisée par les macrophages(99).

Dans les MICI, ces deux mécanismes anti-inflammatoires se sont révélés être inactivés. Chez des patients souffrant de RCH sévères, un défaut de production de lipoxine a₄, anti-inflammatoire produit par les neutrophiles, a été décelé. Ainsi, les neutrophiles, dans cette expression de la maladie, n'ont aucun signal leur permettant d'inhiber leur recrutement(99).

Dans le cadre cette fois de la MC, il a été observé que le taux d'Annexine A1 était réduit par rapport aux contrôles, conduisant alors à un défaut de l'élimination des neutrophiles(100). Dans chacune des MICI un mécanisme empêchant l'élimination des neutrophiles au cours du

processus inflammatoire a été observé. Cela donne ainsi des pistes sur la présence inexpliquée de grande quantité neutrophiles pouvant être responsable de la pérennisation de l'inflammation retrouvée dans les MICI.

c.PRD

Les pathologies liées à l'irradiation sont encore trop peu connues. Ainsi la documentation les concernant est moins fournie que celles trouvée dans les MICI. Dans le cadre de l'implication des neutrophiles dans le développement de lésions radio-induites la documentation concerne majoritairement le poumon. Ainsi, certaines références évoquées par la suite, concerneront des études réalisées dans le poumon. Bien que l'intestin et le poumon soit deux organes bien distincts en termes de fonctionnalité ils partagent tout de même des points communs. Ce sont deux organes ayant une surface d'échange entre l'intérieur et l'extérieur. De plus ces deux organes possèdent des microbiotes et donc potentiellement des analogies sur la structure épithéliale et les fonctions immunitaires mises en œuvre pour éviter toutes proliférations de micro-organisme dans le tissu.

En comparaison avec les MICI, des événements et certains mécanismes impliqués dans l'action des neutrophiles sont similaires. Notamment en termes de nombre de neutrophile. Pour ce point-là, des études concernant l'intestin sont disponibles. L'atteinte du tissu intestinal par les rayonnements ionisants a pour effet la rupture de la barrière vasculaire et épithéliale. Les neutrophiles sont les premiers à atteindre le site lésionnel, leur nombre, après irradiation est donc normalement élevé. Dans les jours, voir les semaines suivant une exposition aux rayonnements ionisants se déroule un phénomène d'hyperperméabilité. L'implication de l'interaction entre leucocyte et cellule endothéliale peut être positive et engendrer un processus de réparation, mais il semblerait qu'elle puisse également être un des responsables du développement de la chronicité de l'inflammation après irradiation(101,102). Un taux élevé de neutrophiles dans le temps entretient l'altération de la barrière et donc entraîne une hyperperméabilité.

Comme dans les MICI la colonisation pérenne de neutrophiles dans les tissus après une exposition à des rayonnements ionisants pourrait engendrer la persistance d'un taux élevé en ROS et en myéloperoxydase produit par ces cellules (*Tableau.V.*). Weiber et al, confirment le maintien d'un taux élevé de myéloperoxydase plusieurs mois après l'irradiation(103,104).

Une étude a démontré que l'utilisation de la tépoxaline, un inhibiteur des enzymes pro-

inflammatoires (la cyclo oxygénase et la lipoxy-oxygénase) chez des animaux ayant reçu une irradiation abdominale de 10Gy permettait de diminuer le recrutement des neutrophiles. Parmi les molécules pro-inflammatoires visées par la tépoxaline se trouve la leucotriène B₄. Pour confirmer cette action, des mesures du leucotriène B₄, ont été réalisées au cours du traitement à savoir 2h et 4h après irradiation. Les mesures démontrent une diminution notable du LTB₄ chez les animaux traités (environ 30 pg/mL) / par rapport aux irradiés sans traitement (environ 280pg/mL) (*Tableau.V.*). La diminution de LTB₄ concorde avec celle des neutrophiles mesurée par le taux de MPO présent dans le tissu intestinal après traitement. Qui plus est, l'étude démontre, à l'échelle de l'organe, que l'inhibition des molécules pro-inflammatoires comme le LTB₄, mènent à la diminution de son atteinte 6h après irradiation. Ainsi, la présence en grande quantité de médiateurs de l'inflammation comme les ROS, la MPO et le LTB₄, est, dans un premier temps, essentielle pour un déroulement classique de la réponse inflammatoire, mais, à long terme, des taux élevés de ces molécules s'avèrent toxique pour le tissu(105).

Comme pour les MICI, l'acquisition d'un phénotype anti-inflammatoire par les neutrophiles semblent défaillant après une exposition des poumons à l'irradiation. Une étude expérimentale a analysé l'effet de l'apport de lipoxine A₄ chez des souris après qu'elles aient reçu une irradiation d'une zone spécifique des poumons, réalisée par un irradiateur pour petit animal. Cette étude démontre qu'après deux semaines suivant une irradiation de 75Gy, l'administration de LXA₄ permet, en partie, de bloquer l'inflammation. La conséquence du traitement est une atteinte moins sévère de la zone irradiée par rapport aux animaux irradiés mais non traités. L'atteinte est mesurée par des analyses structurales et fonctionnelles. L'étude montre également l'impact de l'irradiation sur le taux de LXA₄. Des analyses ELISA sont réalisées sur des prélèvements de sang de souris deux et six semaines après irradiation. Il est mis en évidence, qu'après irradiation, pour les deux points de mesure, le taux de LXA₄ dans le sang soit diminué, par rapport aux animaux contrôles(106) (*Tableau.V.*). On peut se poser la question de l'importance de ces facteurs anti-inflammatoires produits par les neutrophiles dans l'induction des lésions digestives après irradiation.

Pour ce qui est de l'anexine A₁, il semblerait que les rayonnements ionisants aient un effet, direct ou indirect, sur sa production. En effet, une étude clinique démontre qu'après avoir bénéficié d'un traitement aux glucocorticoïdes, des patients, atteints de lésions pulmonaires radio-induites (RILI) voient leur état s'améliorer. Les glucocorticoïdes sont des anti-inflammatoires stéroïdiens, leurs effets positifs semblent cohérents avec le contexte

inflammation englobant la RILI. Cependant l'étude souligne que les glucocorticoïdes permettent une augmentation de l'annexine-A1 au cours du temps par rapport aux taux avant traitement. Cette augmentation est corrélée à la diminution de molécules pro-inflammatoires comme l'IL-6 et la MPO, le taux de neutrophiles restant cependant inchangé(107). Il semblerait donc, qu'une exposition aux rayonnements ionisants engendre la diminution de la protéine annexine A1 pouvant expliquer ainsi un défaut dans l'élimination des neutrophiles à long terme après irradiation (*Tableau.V.*). Les molécules anti-inflammatoires produites par les neutrophiles apparaissent comme essentielles pour engager un processus inflammatoire fonctionnel. Leur diminution dans les MICI comme dans des pathologies liées à l'irradiation semblent être un processus empêchant une bonne réparation du tissu.

Dans les MICI comme dans les pathologies liées à l'irradiation, les neutrophiles semblent jouer un rôle important dans le développement des lésions. Le taux élevé de neutrophiles retrouvé dans ces pathologies peut s'expliquer par des défaillances dans la production de molécules qui régulent leur nombre. Cependant, les processus de dérèglements de l'inflammation semblent nombreux. Ainsi des traitements ciblés sur un mécanisme risqueraient de ne pas être suffisants pour traiter les différentes maladies.

	Crohn	RCH	PRD
neutrophiles	dysfonctionnels	+	+
myélopéroxydase	Pas de donnée	+	+
ROS		+	+
Leukotriène B ₄	+	+	+
Lipoxine A ₄	Pas de donnée	-	inactive
Annexine A1	-	-	Semble -

Tableau V. Tableau résumé des mécanismes impliquant les neutrophiles dans les trois pathologies.

2. Les macrophages

a. Généralités

Les macrophages sont des cellules de l'immunité innée dont la principale fonction est la phagocytose d'éléments, pouvant être néfaste pour l'organisme, les pathogènes, les toxiques mais aussi certaines cellules. Il existe deux populations de macrophages partageant des fonctions différentes. Dans les tissus sains se trouvent les macrophages résidents tandis que la circulation sanguine est peuplée de précurseurs de macrophage, appelés alors monocytes, issus de la moelle osseuse. Les macrophages résidents auraient une origine embryonnaire et auraient la capacité de se renouveler. Dans la majorité des tissus les macrophages résidents font très peu appel aux monocytes pour conserver leur population. Cependant, dans les intestins, la majorité des macrophages résidents sont issus de monocytes, venus dans le tissu qui acquiert un phénotype de macrophages résidents. Les intestins sont les organes où le nombre de macrophages résidents est le plus élevé chez l'Homme. Dans la muqueuse intestinale, les macrophages sont présents en grand nombre. Ils représentent la majorité des leucocytes peuplant les intestins⁽¹⁰⁸⁾. Le phénotype des macrophages est dépendant de l'environnement dans lequel ils se trouvent. Les macrophages ont une grande diversité concernant les fonctions qu'ils peuvent exercer. Les trois populations décrivant le mieux les fonctions principales sont les Classically Activated Macrophages (CAM μ s), ou M1, les Alternatively Activated Macrophages (AA-M μ) ou M2 et les Regulatory Macrophages (RM μ). L'action de ces trois types de macrophages sont des fonctions pro-inflammatoires, de défense, de réparation, de cicatrisation, et enfin, anti-inflammatoires. Les voies d'activation ne sont pas les mêmes pour chacune de ces populations (Figure 20.). Les CAM μ s seraient activés par l'interféron- γ (IFN- γ), des lipo-saccharides ou des ligands aux TLR. Les TLR sont des récepteurs importants dans l'inflammation innée. Ils reconnaissent des molécules présentes ou produites par des micro-organismes. En ce qui concerne les AA-M μ , ils sont eux-mêmes divisés en quatre sous types nommés M2a, M2b, M2c et M2d. Alors que les M2a sont activés par les interleukines 4 et 13, pour les M2b c'est la présence de complexes immuns de TLR ou d'agoniste au récepteur de l'interleukine 1 qui les stimulent. En ce qui concerne les M2c, leur activation se fait par la présence de l'interleukine-10, de TGF β ou de glucocorticoïdes. Enfin, les M2d, sont les macrophages associés aux tumeurs et se voit induits par, la combinaison de l'activation de TLR et de l'agoniste au récepteur de l'adénosine A₂,

tissulaires. On peut émettre l'hypothèse que les macrophages pouvant produire ces cytokines, pourraient être responsables de leur augmentation⁽¹¹¹⁾.

Par ailleurs une étude s'est penchée sur le fonctionnement de la voie de l'IL-10 chez des patients atteints de MC. Ainsi les récepteurs à l'IL-10 et la concentration en IL-10 ont été mesurés après stimulation de cultures de monocytes issus du sang de patient MC et de patients contrôles. La stimulation des cultures de monocytes s'est faite par l'exposition à un liposaccharide ainsi qu'à différente concentration d'IL-10. Pour se faire ils ont mesuré le signal émis par une liaison entre l'IL-10 et l'IL-10R (phosphorylation de STAT3). Également, ils ont mesuré le taux d'IL-10 dans la culture après que les monocytes cultivés aient été exposés à du LPS. En conclusion, Les auteurs ont constaté que par rapport aux patients contrôles, les patients atteints de MC présentaient une expression de l'IL-10R et une production en IL-10 diminuée⁽¹¹²⁾. Une étude expérimentale, démontre que lorsque la voie de signalisation IL10-IL10R des macrophages est perturbée, une inflammation spontanée de la muqueuse se développe. Cette manifestation est caractéristique des MICI⁽¹¹³⁾. Cette étude corrobore l'hypothèse selon laquelle une défaillance de la voie de l'IL-10 conduirait à une inflammation du tissu.

L'action pro-inflammatoire et anti-inflammatoire des macrophages n'est pas seulement induite par les cytokines qu'ils produisent. Les protéines Wnt jouent également un rôle essentiel dans l'induction de l'inflammation et la réparation par l'activation de la voie de signalisation wnt dans les cellules épithéliales. Ce sont une famille de protéines importante dans le développement et le maintien de l'homéostasie de l'organisme. C'est un système protéique complexe composé de 19 types de protéines. Il existe deux groupes de protéines Wnt : les Wnt canoniques et les non canoniques. Les récepteurs des protéines Wnt sont constitués par un assemblage de deux récepteurs. Parmi ces deux récepteurs, l'un est un dérivé de la famille des récepteurs frizzled (FZD), tandis que le second peut être, un récepteur aux lipoprotéines de faible densité reliées à une protéine 5 ou 6 (LRP5/6), dans le cas de la voie canonique où un récepteur à tyrosine kinase RYK, un récepteur à l'homologue 1 de la neurotrophine (NRH1), au récepteur 2 orphelin affilié aux tyrosines kinases (ROR2) ou au récepteur 7 affilié aux protéines-tyrosine-kinase (PTK7) dans les voies non canoniques. Lorsque l'épithélium intestinal est exposé à un stress il présente une perte de ces cellules épithéliales. S'en suit une phase de régénération et de prolifération dans laquelle la voie Wnt a été identifiée comme un acteur important du processus. Tous les macrophages ne produisent pas des Wnt, seuls ceux issus de la moelle osseuse. (Figure 15.) D'après les études,

les protéines Wnt impliquées dans la réparation de l'épithélium intestinal semblent être celles de la voie qui activent la β -caténine(114).

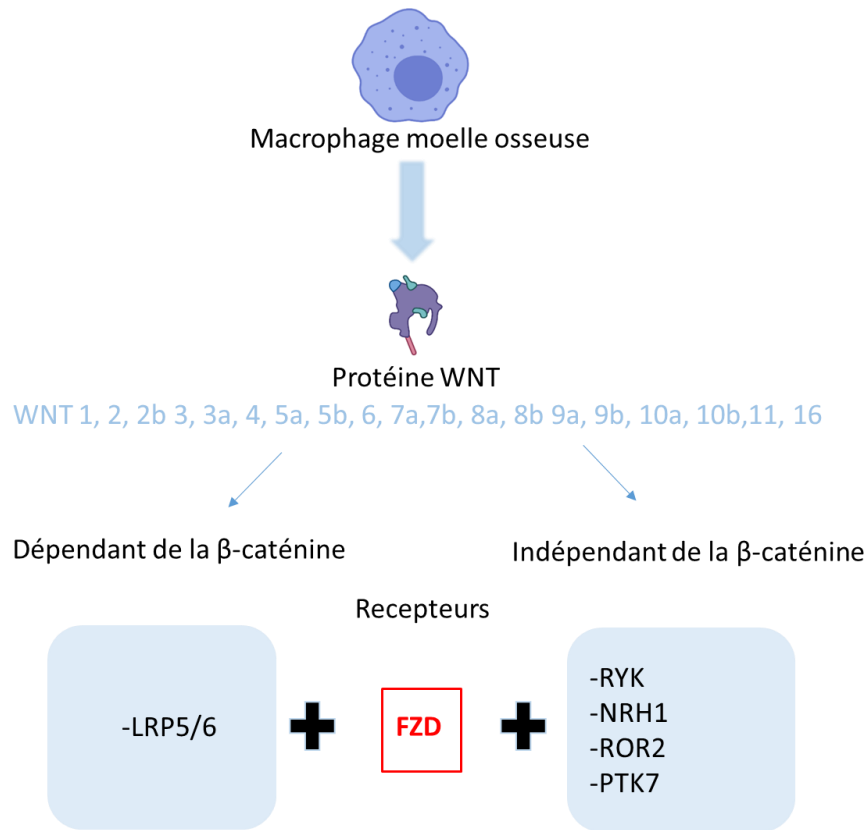


Figure 15. La voie des protéines WNT.

Dans le cadre des MICI, Cosin-Roger et al., se sont intéressés au rôle des macrophages dans les lésions provoquées par l'administration de TNBS. Avec des modèles de souris WT et des souris déficientes en STAT6 (STAT6^{-/-}), ils montrent que la voie STAT6 provoque l'expression des M2 dans la muqueuse lésée avec administration de TNBS. Ils démontrent également que l'administration de TNBS chez les WT engendre une augmentation des protéines WNT2, 7b et 10a, qui n'est pas retrouvée chez les STAT6^{-/-}. Une corrélation est effectuée entre la présence de CD206 et de β -caténine menant à la conclusion que ce sont les M2 qui en produisant des protéines WNT provoquent la production de β -caténine par les cellules épithéliales. Ils ont cherché à comprendre l'implication de la voie WNT dans la lésion du tissu après administration de TNBS. Pour se faire ils ont administré du TNBS ainsi qu'un agoniste aux récepteurs des WNT chez des souris STAT6^{-/-}. Les résultats démontrent que l'activation de la voie des WNT permet une meilleure réparation de la muqueuse inflammée chez ces animaux. De plus ils ont administré des macrophages M2a issus du péritoine de souris WT et de souris STAT6^{-/-} à des souris STAT6^{-/-} deux jours après un traitement au TNBS. Ils ont constaté que les souris à qui des macrophages d'animaux WT ont été administrés, présentent moins de lésions et moins de cytokines pro-inflammatoires. De plus, ces mêmes souris, ont une expression des gènes des récepteurs aux WNT canoniques augmentée. D'autre part, les niveaux mesurés de β -caténine sont plus élevés chez ces animaux par rapport aux souris qui ont reçu des macrophages des animaux STAT6^{-/-}. Ainsi cette étude permet de mettre en évidence l'importance des macrophages M2 et de la voie des WNT dans la réparation de l'épithélium après une agression(115).

Cependant bien que la voie des WNT semble jusqu'ici, permettre une réparation tissulaire, il semblerait que leur accumulation puisse également être impliquée dans une réparation excessive du tissu et ainsi être délétère pour son bon fonctionnement. Dans le cas de la MC, la voie WNT2b- β caténine, est impliquée dans le développement de la fibrose, qui elle-même, est à l'origine des sténoses retrouvées chez ces patients(116). En ce qui concerne la RCH, la voie WNT-1- β caténine a été incriminée dans la formation des formes sévères de la maladie. Un fort taux de M2 et de WNT1 a été retrouvé dans la muqueuse inflammée de ces patients(117). L'augmentation de M2 et de WNT1 a été mise en parallèle avec un défaut de différenciation des entérocytes.

c.PRD

Les MICI ne sont pas les seules pathologies où l'on retrouve une augmentation des sous populations de macrophages au phénotype pro-inflammatoire, ce phénomène a également été identifié dans les tissus tumoraux dits pathologiques ou non-tumoraux dits « sains » ou exposés à des rayonnements ionisants. En ce qui concerne les tissus tumoraux, il s'y présente des macrophages appelés tumor associated macrophage (TAM), qui y sont la population de cellules immunitaires la plus abondantes. Leurs phénotypes sont similaires à ceux retrouvés dans l'organisme en condition physiologique, soit M1, phénotype pro-inflammatoire, et M2, phénotype anti-inflammatoire. En clinique, la polarisation des TAM après irradiation a été évaluée chez des patients atteints d'un cancer du rectum stade 3. Des échantillons des patients ont été récoltés après leur radiothérapie néo adjuvante. Après analyse, le ratio M1/M2 s'est avéré fortement augmenté, par rapport aux patients malades n'ayant pas reçu de radiothérapie, imputant ainsi, le défaut de polarisation des macrophages de M1 à M2 à l'exposition aux rayonnements. Ces résultats vont dans le même sens que ceux présentés dans des études expérimentales chez des souris atteintes d'un cancer du sein ou d'un cancer de la prostate où dans ce contexte l'irradiation augmente le taux de macrophages M1. Dans ces deux études l'effet de l'irradiation est évalué dans un contexte tumoral et l'on pourrait ainsi penser que l'augmentation du phénotype M1 pourrait être la conséquence d'une exposition à l'irradiation dans cet environnement spécifique(118). Or, dans des modèles d'irradiation sans tumeur, des résultats similaires sont obtenus(119,120). En parallèle de ces études, d'autres travaux montrent que la déplétion des macrophages, préalable à une irradiation thoracique, réduit les lésions observées(121). L'inflammation présente après irradiation s'avère néfaste pour le tissu. D'après les résultats décrits précédemment, il semblerait que les macrophages M1 soient un acteur important dans le processus inflammatoire radio-induit, donc, qu'ils participent à la dégradation du tissu(121).

De la même façon que ce qui a été décrit pour les MICI, il semblerait que l'irradiation modifie la production d'IL-10. Une étude expérimentale rapporte que le taux d'IL-10 dans la muqueuse colique de rat est fortement diminué jusqu'à six mois après une irradiation colorectale fractionnée (dose totale de 12Gy délivrée en trois fractions). Bien que les animaux ne développent pas de lésions après le protocole d'irradiation utilisé dans cette étude, le déséquilibre immunitaire constaté pourrait tout de même représenter une atteinte radio-induite, cependant moins sévère que celle retrouvée dans la PRD(122). Une autre étude sur

l'irradiation colorectale de rat, fait état, de l'amélioration de l'état des animaux après une administration d'un agent provoquant la polarisation des macrophages d'un phénotype M₁ vers un phénotype M₂. L'action de polarisation fait suite à une augmentation de la production en IL-10. L'étude va plus loin puisqu'elle démontre une corrélation entre l'augmentation de l'IL-10 produite par les macrophages, avec la prolifération et la régénération des cellules épithéliales(120). Les résultats de ces différentes études insistent sur le rôle essentiel des macrophages M₂ et leur production en IL-10 dans le rétablissement d'un épithélium sain après une exposition à l'inflammation. Bien que le récepteur à l'IL-10 ne soit ici pas évoqué, une dysfonction de la voie de l'IL-10 est constatée, de la même façon que ce qui avait été décrit pour les MICI.

Les MICI ne sont pas les seules pathologies où la voie des protéines WNT semble jouer un rôle. Il est connu que les protéines Wnt émanant des macrophages ont la particularité d'être libérées via des vésicules extracellulaires. Dans l'étude de Subhrajit et al., une administration de vésicules extracellulaires, issues d'une culture de macrophage de souris WT, a été administrée à des souris irradiées. Les animaux présents dans l'étude sont génétiquement modifiés pour ne pas produire de protéines Wnt. Le traitement par vésicules extracellulaires a permis de diminuer le taux de mortalité des souris traitées. Les tests Elisa ont révélé la présence de Wnt 5a, 6 et 9b. S'ajoute à cela, le constat de l'activation, mesurée via une analyse immunohistochimique, de la β -caténine chez les souris ayant reçu le traitement par vésicules extracellulaires. Ainsi l'activation de la voie β -caténine par des protéines Wnt, semble entraîner un effet bénéfique pour le tissu endommagé, dans les MICI mais également après l'irradiation(121).

Longtemps après l'exposition à des rayonnements ionisants les protéines Wnt semblent impliquées dans un processus de réparation excessif, comme il a été décrit dans les MICI. La voie WNT1- β caténine est incriminée dans la formation de fibrose pulmonaire radio-induite. La fibrose peut mener au dysfonctionnement de l'organe atteint si celle-ci est trop étendue. Certaines études imputent à la fibrose le développement vers des formes sévères des pathologies chroniques liées à l'irradiation(123). Cela implique que la voie des Wnt dans l'irradiation peut engendrer, à long terme, des phénomènes indésirables.

Ainsi, dans la PRD et les MICI, l'implication des macrophages semble avoir un effet positif au court terme et négatif au long terme. Bien que les mécanismes puissent être différents entre chacune des pathologies de nombreux médiateurs sont communs.

	Crohn	RCH	PRD
Rapport M1/M2	+	+	+
IL-10	-	Pas de donnée	-
Induction Réparation via WNT/ β caténine	efficace	efficace	efficace
Fibrose WNT/ β caténine	+	+	+

Tableau VI. Tableau résumé des mécanismes impliquants les macrophages dans les trois pathologies.

Ainsi, dans les trois pathologies, s'ajoutent aux mécanismes physiopathologiques des neutrophiles ceux des macrophages. Bien que ces voies cellulaires semblent spécifiques à chaque type cellulaire, la tendance générale suivie est la même à savoir une augmentation dans les phénotypes pro- inflammatoires et un dysfonctionnement de ceux impliqués dans la réparation tissulaire.

3. Mastocytes

a. Généralités

Les mastocytes ont souvent été confondus avec les granulocytes basophiles avec qui ils partagent des caractères communs. Le cytoplasme de ces deux types cellulaires est riche en granules comprenant notamment de l'héparine et de l'histamine. Longtemps attachés à la seule réponse allergique, les mastocytes sont désormais connus pour être impliqués dans différents mécanismes de l'inflammation, tels que la défense contre un pathogène mais également la réparation tissulaire.

Dans le modèle murin les mastocytes sont classés en deux catégories. Les mastocytes du tissu conjonctif et les mastocytes de la muqueuse. La différenciation de ces deux types de mastocytes repose principalement sur la nature du protéoglycane constituant leur granule. Les colorants utilisés dans leur marquage sont en conséquence différents. Chez l'Homme les mastocytes sont également séparés en deux catégories, la classification se fait par la composition de leurs granules, notamment en protéases. Ainsi, les mastocytes composés de granules contenant de la tryptase sont appelés mastocytes   tryptase (MCt). La deuxième catégorie comprend au sein de ses granules, de la tryptase, de la chymase, de la carboxipeptidase A3 et de la cathepsine G, le nom qui leur a été attribué est mastocyte chymase/tryptase (MCtc). On les retrouve majoritairement dans les organes présentant une interface entre l'organisme et l'extérieur (peau, poumon, intestin). Les mastocytes présentent une grande hétérogénéité de phénotype. En fonction de leur environnement, ils peuvent être pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires.

b. MICI

De la même façon que pour les autres cellules immunitaires, l'excès de mastocytes dans le tissu pourrait avoir des conséquences néfastes pour ce dernier. En clinique, des taux élevés de mastocytes ont été détectés chez des patients atteints de RCH ou de MC. En expérimental, les résultats retrouvés en clinique ont été confirmés. Dans une première étude utilisant des modèles de souris modifiées génétiquement pour ne pas avoir de mastocytes, les chercheurs, ont démontré que ces souris développaient des lésions moins sévères que celles retrouvées chez les animaux contrôles. Pourtant les animaux déficients en mastocyte présentent tout de même un recrutement de mastocytes dans le tissu après traitement par DSS, cependant en moins grand nombre que chez les animaux contrôles. De plus une corrélation est effectuée entre le taux d'histamine et le développement de lésions sévères, les animaux présentant les plus grandes lésions ont également un taux en histamine plus élevé(124). La majoration du

nombre de mastocytes et celle de la concentration en histamine dans le tissu semblent avoir un effet néfaste pour celui-ci.

D'autres molécules, cette fois-ci, spécifiques aux mastocytes, la tryptase et la chymase, ont été l'objet d'études dans le cadre des MICI. Ces deux enzymes sont principalement utilisées en routine pour marquer la présence des mastocytes. Des recherches ont été entreprises pour étudier leur implication potentielle dans le développement de dommages aux tissus. Dans des modèles expérimentaux de DSS et TNBS, lorsque la tryptase ou la chymase sont préalablement inhibées, l'inflammation apparait plus contenue par rapport aux animaux contrôles. Ces deux études expérimentales, encouragent la thèse de l'implication de la tryptase et la chymase dans l'accentuation de l'inflammation dans les MICI, cependant elles ne révèlent pas les mécanismes pouvant être impliqués dans cette toxicité(125,126).

Les mécanismes engageant l'action de la tryptase et la chymase dans le développement de lésions des tissus du tube digestif, ne sont pas bien connus. Toutefois, des études ont été réalisées dans le but de comprendre l'origine de leur caractère néfaste au cours d'une inflammation. Il semblerait que ces enzymes soient liées à l'expression de médiateurs tels que les métalloprotéinases (MMP). Ces enzymes sont des peptidases divisées en deux groupes, les exopeptidases et les endopeptidases (ou métalloprotéinases matricielles). Le point de différenciation entre ces deux types se fait notamment sur l'ion métallique qu'elles portent sur leur site actif. Les métalloprotéinases sont des enzymes protéolytiques, ainsi, lorsqu'elles sont suractiv es la conséquence peut être une désorganisation du tissu concerné. C'est le mécanisme évoqué dans une des études qui a travaillé sur le mécanisme de la chymase impliqué dans le développement des lésions tissulaires colique de patients RCH. Il y est relaté que la chymase est un vecteur de l'activation de la MMP9. Cette hypothèse émane des résultats obtenus par l'inhibition de la chymase dont la conséquence est une diminution en taux de MMP9(127). Or, comme nous l'avons vu précédemment le taux de mastocytes est élevé, en conséquence le taux de tryptase et de chymase l'est également. Si la présence de chymase permet l'activation de la MMP9 alors une forte concentration de cette dernière pourrait suractiver la MMP9 et donc conduire à la désorganisation du tissu. Ainsi, par ce mécanisme, les mastocytes pourraient avoir un rôle dans le développement des lésions tissulaires identifiées dans les MICI.

Il a été constaté que lors d'un processus inflammatoire, certains pools de mastocytes se trouvent à proximité des fibres nerveuses. Ces deux types cellulaires s'échangent des messages pouvant engendrer un contrôle ou une exacerbation de l'inflammation. En 2003, une étude s'intéressant aux mastocytes dans les MICI, évoquait le lien potentiel entre la tryptase et un de ces récepteurs le PAR-2. Il a été figuré précédemment, que le taux de tryptase dans les MICI était particulièrement élevé. Or, il s'avère que dans la RCH, les récepteurs PAR-2 ont été identifiés comme étant également augmentés(128). Les récepteurs PAR-2 sont impliqués notamment dans des mécanismes de réponse à l'inflammation mais également de réparation. De plus les récepteurs PAR-2 sont exprimés par de nombreuses cellules immunitaires, mais également par des neurones. Ainsi, le regroupement de mastocytes autour des fibres nerveuses pourrait indiquer d'une action de la tryptase sur les récepteurs PAR-2 des neurones. La conséquence de cette communication mastocyte-neurone pourrait, dans les RCH, engendrer une amplification de la réponse inflammatoire ou bien enclencher un processus de fibrose comme cette dernière étude en date le suggère(129).

Ce n'est pas la première étude imputant un rôle potentiel des mastocytes dans des processus de réparation excessifs. La capacité des mastocytes à libérer le *fibroblast growth factor* (FGF) dénote de leur implication dans la réparation tissulaire. Une équipe de recherche a réalisé des études permettant de mesurer l'importance de la production de FGF2 par les mastocytes. Pour se faire des animaux chez qui l'expression du FGF2 est inhibée ont reçu une administration de DSS. L'étude relève que les animaux n'exprimant pas le FGF2 présentaient des lésions plus sévères que les animaux contrôles. Ainsi, l'équipe de Xinyang Song et al. est arrivée à la conclusion que le FGF2 était un médiateur essentiel au bon fonctionnement de la réparation tissulaire, après une agression du tissu(130). Cependant en 2018, des chercheurs ont exposé leur interrogation quant au rôle joué par les mastocytes dans la formation de fibrose. Bien que la fibrose présente dans l'intestin au cours de pathologies comme les MICI ne soit pas comprise dans leur réflexion, leurs théories sur l'implication des mastocytes dans la fibrose pulmonaire ou rénale donnent des éléments potentiellement transposables aux systèmes digestifs. De nombreux médiateurs produits par les mastocytes sont abordés y compris le FGF2 qu'ils classent comme médiateur pro-fibrotique. Leur argument repose sur des études rapportant la corrélation des mastocytes FGF2+ avec le dépôt de matrice extracellulaire et l'extension de la fibrose dans un modèle de fibrose pulmonaire(131). Ces résultats peuvent être mis en parallèle avec certains relevant de la clinique dans le cadre de la MC. Il s'avère que des taux élevés de FGF-2 ont été détectés dans des zones fibrotiques

proches de fistules chez des patients atteints de MC. L'étude comportent des échantillons de fistules émanant de patients MC et de patients contrôles. Le FGF-2 n'est retrouvé que dans les échantillons provenant des patients MC et dans les zones fibrotiques.(132). La réunion de toutes ces données permet d'émettre l'hypothèse du rôle pro-fibrotique, néfaste, que pourrait jouer le FGF2, produit par les mastocytes, dans les MICI.

D'après ces éléments il semblerait que le FGF2 soit important à court terme dans les processus de réparation. Cependant, au long terme, il paraît comme étant néfaste puisqu'il pourrait être impliqué dans les processus de fibrose.

c.PRD

Les mastocytes ont également intéressé les chercheurs spécialisés dans les maladies liées à l'irradiation et notamment dans la PRD. En ce qui concerne le taux de mastocyte présent dans des cas de lésions radio-induites du rectum de patients, une étude révèle la présence d'une hyperplasie de mastocyte au niveau de la muqueuse (plus précisément de la *lamina propia*) mais également dans la sous-muqueuse. De plus, une comparaison des atteintes épithéliales radio-induites du côlon est effectuée entre des animaux génétiquement modifiés pour ne pas développer de mastocytes et des animaux contrôles. Les résultats présentés décrivent un score lésionnel moins important chez les animaux ne possédant pas de mastocytes. Ainsi, les mastocytes se voient attribués un rôle néfaste potentiel dans les lésions radio-induites, du moins dans le côlon(133). En ce qui concerne les protéases des mastocytes, une étude observe une augmentation des taux de tryptase après une irradiation colorectale en dose unique de 27Gy(134). Cependant le rôle que peut jouer cette augmentation de tryptase dans l'inflammation n'est pas évoqué. Dans l'étude de Blirando et al, l'ajout de tryptase et de chymase sur des cultures de cellules musculaires lisses coliques humaines entraîne une augmentation de la prolifération de ces cellules. La présence de tryptase et chymase en grande quantité après irradiation pourrait alors expliquer, selon les auteurs, la dystrophie radio-induite de la *muscularis mucosa*. Ces deux protéines seraient alors, en partie, responsables des lésions radio-induites présentes dans le côlon(133).

Concernant la MMP9, une étude clinique de 2002, démontre après analyse de biopsies de patients irradiés, une augmentation dans l'expression de la MMP9. Toutefois, les auteurs précisent que le lien direct entre MMP9 et le développement de la toxicité radio-induite n'est pas établi, un scénario où les MMP promeuvent une réaction anti-inflammatoire et d'après eux également tout à fait envisageable(135).

Le rôle des récepteurs PAR-2 ont également suscité l'intérêt dans le contexte de radiotoxicité intestinale. Une étude expérimentale s'est intéressée spécifiquement à l'expression de cette protéine après irradiation intestinale. Les modèles d'animaux sélectionnés pour cette étude sont notamment des rats Sprague Dawley et des rats déficients en mastocytes. Les résultats présentés font état d'une augmentation de l'expression de PAR-2 chez les Sprague-Dawley après irradiation intestinale. Les animaux déficients en mastocytes, eux, ont une expression de la protéine PAR-2 moins importante que les Sprague Dawley ainsi qu'un changement structural des intestins moins prononcé. En conséquence, cette étude permet d'incriminer la protéine PAR-2 dans les atteintes radio-induites intestinale, mais également les mastocytes. En effet, les mastocytes semblent jouer un rôle dans l'augmentation de l'expression de la protéine PAR-2. Ainsi, les récepteurs PAR-2 sont peut-être stimulés par l'augmentation du taux de tryptase produit par les mastocytes et engendre, en conséquence, une action pro-inflammatoire et ou pro-fibrotique comme cela a pu être évoqué dans des modèles expérimentaux de MICI et de PRD(136).

Parmi les mécanismes impliqués dans la réparation tissulaire pour la PRD, plusieurs équipes se sont intéressées au FGF2. Dans les conséquences de l'irradiation intestinale, en ce qui concerne la réparation au court terme, le FGF2 pourrait également jouer un rôle. Dans un modèle d'induction du syndrome gastro-intestinal par une irradiation corps entier de 10 ou 16Gy, l'administration d'un agoniste au récepteur FGF2 (FGF-P) permet, à court terme, l'augmentation de la survie des animaux. Les animaux ayant reçu le FGF-P présentent une augmentation du renouvellement des cryptes intestinales. S'ajoute aux effets structurels des effets inflammatoires. En effet, la molécule permet de maintenir le taux de cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL-6 ou le TNF α à des doses plus faibles que ce qui est retrouvé chez les animaux non traités. Ces cytokines ont été pointées pour être potentiellement des marqueurs prédictifs au développement des toxicités radio-induites aiguës et chroniques. Dans ce cas leur diminution après irradiation octroierait au FGF-P un effet protecteur. La conséquence de ces actions semble être visible fonctionnellement puisque chez les animaux traités, le fonctionnement gastro-intestinal est a minima préservé par rapport aux animaux non traités(137). Cette étude démontre, le rôle potentiel que pourrait avoir le FGF2 à court terme sur les intestins après irradiation.

Pour ce qui est du rôle potentiellement néfaste du FGF2 au long terme, il a également intéressé des chercheurs. Une étude récente recense les taux de FGF2 dans des biopsies de

patients traités par chimio-radiothérapie ayant développés de la fibrose. Les résultats attestent d'une augmentation de FGF2 chez ces patients lorsqu'ils sont comparés avec des tissus de patient traités par chimiothérapie seule pour le même type de cancer. L'étude est enrichie par des résultats obtenus sur des lignées cellulaires préalablement exposées à une irradiation de 8Gy. Avec leurs résultats, les chercheurs ont pu établir un lien entre présence de FGF2 et développement de la fibrose (analysée par la présence de alpha-SMA et COII). Il a été observé que l'expression de la fibrose diminuait avec l'abaissement du taux en FGF2(138). Ainsi cette étude concorde avec celles réalisées dans les MICI sur le lien entre FGF2 et fibrose.

	Crohn	RCH	PRD
mastocytes	+	+	+
Tryptase/chymase	+	+	+
MMP9	Pas de donnée	+	+
PAR-2	Pas de donnée	+	+
FGF2/fibrose	+	Pas de donnée	+

Tableau VII. Tableau résumé des mécanismes impliquants les mastocytes dans les trois pathologies.

Les mastocytes apparaissent comme étant néfastes dans les trois pathologies. Malheureusement une inhibition totale de leur activité en clinique semble une solution radicale qui n'amènerait sûrement pas à une amélioration de l'état des patients. D'après ce qui a été vu dans les paragraphes précédents la réponse inflammatoire des cellules myéloïdes est dérégulée avec des mécanismes communs pour les MICI et la PRD. Cependant les cellules myéloïdes ne sont pas les seules cellules immunitaires participant à la réponse immunitaires. Elles sont interconnectées avec les cellules lymphoïdes. En conséquence le comportement de ces dernières semble être un élément essentiel à étudier dans les MICI et la PRD.

A. Les cellules lympho ides

1. Généralités

Les cellules lympho ides sont des cellules du système immunitaire, principal type cellulaire retrouvé dans la lymphe de laquelle elles tirent leur nom. Elles se divisent en deux catégories, celles qui font parties du système immunitaire inné (cellules innées lympho ides) et celles qui font partie du système immunitaire adaptatif (lymphocytes T et B).

Les cellules innées lympho ides sont impliquées dans la régulation de la réponse innée et adaptative via la sécrétion de molécules orientant la réponse immunitaire. Elles sont retrouvées majoritairement dans les muqueuses. Leur action ne se limite pas à l'immunité puisqu'elles permettent également de maintenir l'homéostasie intestinale. Elles sont classées en cinq sous types, les cellules natural killer (NKc), les cellules innées lympho ides de type 1 (ICL-1), 2 (ICL-2), 3 (ICL-3) et les « lymphoid tissue inducer » (LTi). Les NKc sont cytotoxiques, retrouvées dans la circulation sanguine, elles ont la capacité de tuer les cellules dysfonctionnelles. Beaucoup de similarités sont retrouvées entre les NKc et les ICL-1, la distinction peut se faire sur la production de perforine produite par le NKc. Les ICL-1 sont des cellules non cytotoxiques retrouvées majoritairement dans les tissus. Comme les NKc, elles nécessitent le facteur de transcription T-bet et produisent de l'IFN- . Les ICL-2 sont des cellules résidentes du tissu produisant les cytokines de type 2 : l'IL-4,5 et 13. Elles sont impliquées dans la réponse à l'infection par des parasites, ainsi qu'à la réparation nécessaire du tissu suite à ces infections. Les ICL-3 se trouvent dans les muqueuses. Elles participent à la réponse immunitaire déclenchée par une infection bactérienne mais également à la communication entre microbiote et tissu. La cytokine majoritaire produit par les ICL-3 est l'IL-22. Tous les types d'ICL possèdent une grande plasticité. En fonction de l'environnement dans lequel elles se trouvent leur phénotype peut changer. Enfin, les LTi sont essentielles à la formation des ganglions lymphatiques et des plaques de Peyer au cours du développement embryonnaire(139) (Figure 16.).

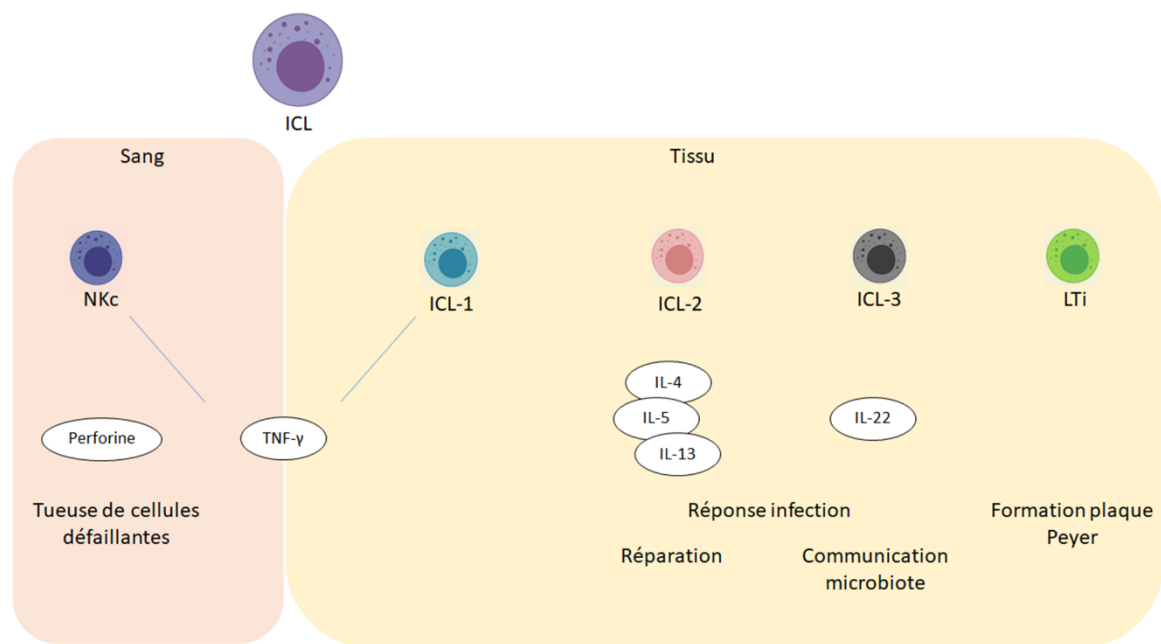


Figure 16. Les différentes ICL

L'immunité adaptative implique une réponse spécifique. Chaque cellule répondra à un antigène précis. Les lymphocytes impliqués dans la réponse adaptative ont une action immune humorale ou cellulaire en fonction de leur type. Ainsi, les lymphocytes B sont les acteurs de la réponse humorale. Leur rôle est de fabriquer des protéines de la famille des immunoglobulines : les anticorps. Afin de pouvoir produire des anticorps, les lymphocytes doivent être activés. C'est au cours de la présentation d'un antigène à un lymphocyte B dit « naïf » que l'activation s'effectue. Suite à cette rencontre le lymphocyte B naïf passe sous la forme de « plasmocyte » qui aura la capacité de produire des anticorps dirigés contre l'antigène concerné. Les lymphocytes B (LB) comptent également deux autres sous type en plus des LB naïf et des plasmocytes : les LB mémoire et les LB régulateur (LBreg). Les LB mémoire sont des cellules différenciées qui ont une durée de vie longue. Ainsi, au cours d'une nouvelle rencontre avec l'antigène qui leur sont spécifiques, la réponse humorale met moins de temps à s'enclencher et donc l'antigène est éliminé plus rapidement. Enfin les LBreg sont des lymphocytes qui régulent la réponse immunitaire, notamment dans les cas de réaction auto-immune. Ils ont été décrits dans des situations de tolérance comme, par exemple, les transplantations. La réponse immunitaire apportée par les lymphocytes B est dépendante de la réponse cellulaire procurée par les lymphocytes T (LT), qui la complète. Les lymphocytes T sont classés en six sous types, les lymphocytes T cytotoxiques (LT killer ou LTCD8), les auxiliaires (LT helper ou LTCD4), les régulateurs (LTreg), les NKT, les lymphocytes associés

aux muqueuses (MAIT) et les lymphocytes $\gamma\delta$ (LT $\gamma\delta$). La classification des lymphocytes T s'établit sur la présence du complexe moléculaire appelé T cell receptor ou TCR. La distinction des sous-types s'effectue sur plusieurs critères. Les lymphocytes T peuvent éliminer directement ou indirectement des cellules considérées comme néfastes. Ils peuvent également, avoir un rôle de régulation et de maintien de l'homéostasie. De plus certains participent exclusivement à la réponse immunitaire adaptative quand d'autres sont des intermédiaires entre réponse innée et adaptative du système immunitaire. Ainsi, les LTCD8, LTCD4, LTreg et les MAIT contribuent uniquement à la réponse adaptative et les NKT et les LT $\gamma\delta$ participent aussi bien à la réponse innée qu'à la réponse adaptative. Les lymphocytes T, seulement capables d'engendrer directement la mort cellulaire sont les LTCD8 et LT $\gamma\delta$. Une de leur action de lyse cellulaire s'effectue via leur production de perforine, protéines formant des pores dans la cellule cible, puis de granzyme, qui pénètre par les nouveaux pores formés et induit l'apoptose de la cellule. Une fois leur action cytotoxique exécutée, ils rentrent dans un processus d'apoptose, à l'exception de quelques LTCD8 qui deviendront des LT mémoires. Les autres lymphocytes T ont un rôle de production de protéines. Les LT auxiliaires, par leur sécrétion en IL-2, stimulent la réponse des autres lymphocytes. L'IL-2 permet la prolifération et la différenciation des populations lymphocytaires. Cependant les LT auxiliaires peuvent sécréter d'autres molécules, en fonction du type interleukine produite, ils auront un profil défini. Ainsi, si le LT auxiliaires produit majoritairement de l'IFN γ et de l'IL-2, il sera distingué comme étant un LTH1, si il produit de l'IL-4,5 ou 13 il sera répertorié comme un LTH2 et enfin si le LT auxiliaire sécrète spécifiquement de l'IL-17 il sera assigné comme un LTH17. Les NKT également produisent des protéines permettant de mobiliser les autres cellules immunitaires, et non exclusivement les lymphocytes. Ainsi les NKT peuvent sécréter de l'IFN γ de l'IL-2 et 4 mais également du GM-CSF et du TNF. Les lymphocytes T décrits jusqu'ici ont un rôle cytotoxique ou non cytotoxique (régulateur), cependant un type de LT possède ces deux capacités réunies, ce sont les Treg. Les Treg sont distingués des autres lymphocytes, ce sont des lymphocytes régulateurs, tous les autres lymphocytes sont des lymphocytes effecteurs. Ils ont pour fonction la tolérance envers les cellules du soi et les cellules du non soi ne représentant pas de danger. Ainsi ils contrôlent la population de lymphocytes T effecteurs. En fonction de ce qu'ils expriment et de ce qu'ils produisent les Treg peuvent avoir trois profils distincts. En conséquence, les Treg exprimant du CD4, CD25 et FOXP3, qui voit leur prolifération accentuée en présence de corticostéroïdes et d'oestrogènes sont des lymphocytes T régulateurs naturels (nTreg). Leur présence permet la tolérance envers les

antigènes du soi. Les nTreg ne sont pas les seuls Treg qui expriment le CD4, le CD25 et le FOXP3, les lymphocytes T régulateurs inducteurs (iTreg) partagent cette caractéristique avec les nTreg. Cependant les iTreg produisent eux du TGFβ et de l'IL-35, ces cytokines ont une action d'inhibition sur les lymphocytes effecteurs. Ils sont majoritairement retrouvés au niveau des plaques de Peyer. La localisation n'est pas une coïncidence, l'intestin est en contact permanent avec la flore commensale. Afin que le système immunitaire ne s'attaque pas aux micro-organismes, les iTreg régulent en inhibant une réponse inadaptée à la situation. Enfin le troisième et dernier profil de Treg sont les lymphocytes T régulateur producteur d'IL-10 (Tr-1). Ils sont distinguables par l'absence de production de FOXP3, cependant, comme les autres Treg, ils expriment le CD4 et le CD25. Leur action principale est de produire de l'IL-10, la cytokine immunorégulatrice majeure. La défaillance ou la diminution du taux de LTreg ont été identifiées comme promoteur de certaines pathologies, notamment des maladies auto-immunes de la peau comme le psoriasis. Le dernier sous type de LT, les MAIT, sont les derniers à avoir été identifiés, ainsi leur implication au sein du système est, pour le moment, peu décrite. Il a été démontré qu'ils participaient à la réponse contre des antigènes émanant de bactéries et non à ceux des virus. De plus il semblerait que ce soient des producteurs d'IL-17 et d'IFNγ. De nombreux éléments sont encore à explorer pour les lymphocytes et plus particulièrement pour les MAIT. (Figure 17.)

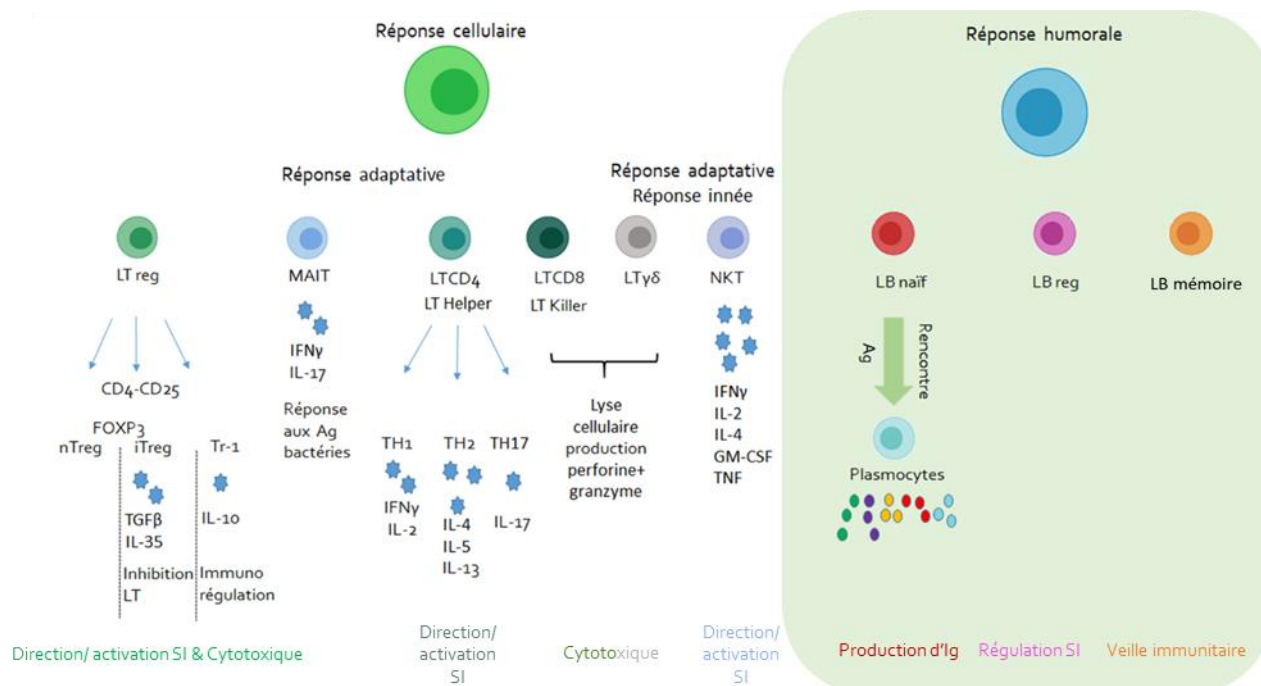


Figure 17. Les différents lymphocytes.

Les lymphocytes sont une population de cellules immunitaires très hétérogène et peuvent être bénéfiques, dans la majorité des cas mais comme toute population de cellules immunitaires, quand ils se retrouvent dans un processus de régulation défailante, peuvent induire des conséquences graves pour les patients.

Les recherches effectuées dans les MICI et la PRD concernant les lymphocytes ne décrivent pas les mêmes sous populations de lymphocytes. Les éléments de comparaison pour cette population immunitaire sont par conséquent peu nombreux. Ainsi dans la description qui s'en suit sur les mécanismes similaires entre les différentes pathologies est relativement limitée.

a.MICI

Les LTh semblent être déséquilibrés dans la physiopathologie des MICI. Dans un premier temps il semble que les LTH17 soient fortement augmentés chez les patients atteints de MICI. Cette augmentation n'est pas seulement numérique puisque les cytokines habituellement produites par ces lymphocytes, l'IL-17, IL-21 et l'IL-22, sont également retrouvées en augmentation dans la muqueuse inflammée des patients MICI. De plus, l'augmentation des TH17 et des cytokines qu'ils produisent est corrélée avec une atteinte sévère mesurée par l'évaluation des symptômes et de l'état du tissu(140).

Les Treg semblent être importants dans la physiopathologie des MICI. Une étude de 2005 démontre que le taux de Treg (iTreg et nTreg) évolue en fonction de l'activité de la maladie du patient. Lorsque les patients sont en rémission le taux en LTreg FOXP3+ dans le sang est augmenté alors que pendant les phases de crise ces mêmes LTreg sont diminués. Il est évoqué que la diminution des LTreg FOXP 3+ dans le sang au cours d'une phase active des maladies pourrait s'expliquer par leur accumulation dans les tissus intestinaux lésés. Or, il semblerait que dans la muqueuse intestinale inflammée le taux de LTreg FOXP 3+ ne soit que légèrement augmenté. Il semblerait qu'au cours de la phase active des MICI il y ait un défaut dans l'activité des Treg(141). Chez des patients avec des maladies de Crohn réfractaires à tout traitement, l'administration de Treg a permis une amélioration de leur état(142). Ainsi un défaut de Treg pourrait être une caractéristique des physiopathologies des MICI.

b.PRD

Comme pour ce qui a été mis en évidence dans les MICI, il semblerait qu'après une irradiation colorectale expérimentale, la réponse lymphocytaire prédominante soit une réponse TH17. Après irradiation le taux de cytokine IL-1 β et IL-6 apparaît comme augmenté. L'augmentation d'IL-17 après irradiation pourrait être en partie responsable de la variation en IL-1 β et en IL-6. Dans la même étude, l'efficacité d'une thérapie par cellules stromales mésenchymateuses est évaluée. Il est démontré que ce traitement permet une diminution des lésions intestinales radio-induites. Après analyse, il s'avère que le taux d'IL-17 est diminué après ce traitement. La réponse TH17, dans cette étude est démontrée comme étant importante dans le développement de lésions épithéliales coliques radio-induites(143).

En ce qui concerne les populations de LTreg après irradiation, les études expérimentales tendent à montrer qu'elles sont impactées de façon quantitative et fonctionnelle. Des études expérimentales *in vitro* et *in vivo* se sont intéressées à l'impact que possède un traitement anti-tumoral de radiothérapie sur les populations de LTreg. Il a été démontré que l'irradiation modifie le phénotype de ces cellules de manière dose dépendante. Ainsi, les LTreg se voient ôter leur pouvoir de régulation puisqu'après irradiation, l'expression de FOXP3 se trouve diminué(144). Une étude a mis en co- culture des cellules CD8+ avec des iTreg irradiées à 10Gy ou avec des iTreg non irradiées. Il a été constaté que la prolifération des CD8 était plus importante dans la co-culture avec les iTreg irradiées(145). En conséquence l'irradiation possède un effet anti-tumoral via l'inhibition des LTreg tumoraux.(144,146) Cependant, les tissus sains exposés à des rayonnements ionisants pourraient alors également avoir une modification dans leur population de LTreg ce qui créerait un dérèglement dans la population immunitaire défavorable pour le tissu. C'est ce que des études expérimentales *in vivo* suggèrent. Dans un modèle d'irradiation abdominale de 10Gy en dose unique, il est observé que le dérèglement immunitaire dans la population de LTreg persiste jusqu'à 90 jours après irradiation avec des phénotypes de LTreg FOXP3+ en baisse. De plus dans un modèle d'irradiation colorectale, il est démontré que bien que la population de LTreg augmente après irradiation, elles sont en incapacité à produire de l'IL-10 et contribuent ainsi au maintien de l'inflammation présente après irradiation(143).

Les cellules lymphoïdes sont indispensables au bon fonctionnement du processus inflammatoire. Il est évident que dans des pathologies où l'inflammation est exacerbée, un

défaut de ces populations de cellules est présent. Dans les MICI comme dans la PRD, une prédominance des TH17 et une diminution des LTreg FOXP3+ apparaissent. Ce phénomène participe sûrement à l'état d'inflammation constant présent dans ces pathologies.

	Crohn	RCH	PRD
TH17	+	+	+
LTreg	Défaut	Défaut	défaut

VIII. Tableau résumé des mécanismes impliquants les lymphocytes dans les trois pathologies.

Dans les MICI et la PRD, de nombreux processus inflammatoires sont communs. En ressort, une dérégulation générale des différentes populations de cellules immunitaires. De plus, ici il n'a été abordé de façon non exhaustive, seulement les mécanismes communs aux deux pathologies. Les traitements utilisés dans les pathologies ne permettent pas de rémissions totales chez les patients, ainsi la cible d'un mécanisme spécifique apparaît comme une solution potentiellement insuffisante. Une thérapie permettant de jouer sur toutes les populations de cellules immunitaires semblerait être plus adaptée pour contrer ces pathologies.

VII. Microbiote et système immunitaire

A. Une évolution coopérative

Les vertébrés, au cours de leur évolution, ont acquis de nouveaux caractères et notamment le développement du système immunitaire adaptatif. Bien que les vertébrés aient déjà des mécanismes de défense traduits par le système immunitaire inné, le développement du système immunitaire adaptatif a permis d'améliorer leur réponse contre des agents nuisibles. Pendant longtemps, il était théorisé que le simple rôle de mécanisme de défense a justifié l'émergence de cette réponse immunitaire dans l'organisme. Aujourd'hui une nouvelle hypothèse s'impose, associant, l'obtention de la réponse immunitaire acquise à la colonisation microbienne de l'organisme. En développant une immunité spécifique, les organismes ont favorisé le déploiement de quantité d'espèce de micro-organismes qui ont, en retour, octroyés des avantages métaboliques à leur hôte. Le système adaptatif de l'hôte a permis de reconnaître spécifiquement les espèces microbiennes favorables de celles délétères pour l'organisme. Pour se faire des mécanismes de signalisation entre cellules adaptatives et cellules innées ont été créés. Le but de cette communication est de promouvoir ou freiner la clairance de certains micro-organismes par le système immunitaire inné. Cette hypothèse est appuyée par le constat que le microbiote des vertébrés est bien plus diversifié que celui des invertébrés. S'ajoute à cela que malgré les contrastes entre les populations microbiennes peuplant les organes de différents vertébrés, ces derniers possèdent tous une grande diversité microbienne. Or les vertébrés, gnathostomes, sont les seuls êtres vivants à posséder un système immunitaire adaptatif. Ainsi, il est possible de penser, que la diversité microbienne ne va pas sans système immunitaire acquis. De plus, la colonisation des micro-organismes dans le système digestif des vertébrés s'effectue, dans les premières années de la vie, en parallèle du développement du système immunitaire. Afin de confirmer le lien entre microbiote et système immunitaire dans l'établissement de nouveaux mécanismes immuns acquis il serait nécessaire d'effectuer d'autres études sur divers espèces anciennes ou disparues(147).

Malgré le doute qui plane sur la manière dont s'est façonné le système immunitaire adaptatif, aujourd'hui une corrélation entre le système immunitaire et le microbiote a été démontrée à travers de nombreux mécanismes.

B. Microbiote et développement immunitaire

Dans les premiers moments qui suivent la naissance, une colonisation microbienne s'effectue. Au même moment les cellules épithéliales intestinales ainsi que les cellules immunitaires résidentes de l'intestin développent des récepteurs appelés *pattern recognition receptors*. Parmi ces derniers deux types en sont distingués, les récepteurs membranaires, comme par exemple les TLR et les C-type lectin receptor (CLR), et les récepteurs cytosoliques notamment les NOD-like receptors (NLR). La particularité de ces récepteurs est qu'ils reconnaissent des microbes-associated molecular pattern (MAMP), produits des micro-organismes. La communication s'établit alors entre microbiote et système immunitaire(147). Cette communication précoce semble déterminante puisqu'elle permet la formation d'une partie du système immunitaire. En effet, des MAMP, identifiés comme les peptidoglycanes des bactéries à gram -, stimulent la maturation des tissus lympho ides secondaires. Les tissus lympho ides secondaires sont utiles dans le maintien d'une relation de symbiose mutualiste entre microbiote et hôte. Ils se trouvent à l'interface des tissus et de la lumière intestinale où se trouvent les micro-organismes. Ainsi, si une intrusion de quelconques individus microbiens survient, le système immunitaire peut se déployer rapidement *via* ces structures. L'identification du rôle joué par le microbiote dans le développement de ces structures a été établie notamment à travers les résultats de recherches effectuées sur des animaux axéniques. Les structures des organes lympho ides secondaires sont moins développées chez des souris axéniques. Cependant, l'induction d'une colonisation par la bactérie *Bacteroidetes fragilis* chez des souriceaux axéniques semble suffire pour rétablir, dans ces organes, une morphologie proche de celle des souris contrôles(148). Ces résultats mettent en lumière l'étroit lien entre le microbiote et le système dès les premiers moments de la vie.

En plus de permettre le développement de structure accueillant des cellules de l'immunité, le microbiote est impliqué dans la régulation de ces cellules. La production de ces métabolites et l'identification de ses constituants par le système immunitaire et les cellules épithéliales engendrent des réactions pouvant inhiber ou déclencher une inflammation.

C. Microbiote dans la réponse inflammatoire

1. Inhibition de la réponse inflammatoire et régulation du système immunitaire

Différents mécanismes impliquant la reconnaissance d'un métabolite ou d'un constituant de micro-organismes ont été décrits comme ayant une action inhibitrice et régulatrice envers la réponse immunitaire. Les réponses de l'hôte diffèrent en fonction de l'élément microbien qu'il reconnaît.

a. Les produits des micro-organismes peuplant le microbiote

- AGCC :

Les AGCC exercent une action sur les cellules épithéliales intestinales (CIE). Leur reconnaissance par les CIE engendre la production de TGF- β par ces cellules. La production de TGF- β par les CIE conduit par la suite à l'augmentation de la génération de LTreg FOXP3⁺(149). De plus en se liant à des récepteurs couplés à la protéine G qui se trouvent sur le CIE les AGCC déclenchent une régulation négative de la réponse inflammatoire de l'hôte(150).

Les AGCC peuvent également influencer la production d'IL-10 notamment en se liant au récepteur à protéine G GRP43 des cellules TH1. La liaison entraîne une suractivation du facteur de transcription STAT3 et de l'enzyme mTor conduisant à la production d'IL-10 par ces cellules(151).

En plus de moduler la prolifération des lymphocytes régulateurs et la production de cytokine anti-inflammatoire par les TH1, les AGCC ont une action sur la formation des LTCD8 mémoires, essentielle pour répondre au plus vite à un éventuel danger(152).

Les bactéries pouvant produire des AGCC identifiées à l'heure actuelle font partie majoritairement des phyla des *Firmicutes*(153).

Certains mécanismes propres à un AGCC spécifique ont été identifiés notamment pour le butyrate, l'acétate et le lactate.

- Butyrate

Le butyrate est une source énergétique indispensable aux IEC. Il participe, à hauteur de 70%, à l'apport d'énergie fournie aux IEC(154). De plus il agit sur les deux réponses immunitaires, la

réponse innée et l'adaptative. Concernant les cellules de l'immunité innée, le butyrate peut exercer différentes actions menant à la répression de la réponse inflammatoire. La présence de butyrate r fr ne la production de médiateurs pro-inflammatoires des macrophages ainsi que la maturation des cellules dendritiques. Cependant quand il se lie à la GPR109a de ces mêmes cellules le butyrate leur confère un profil anti-inflammatoire. En découle une accumulation de LTreg FOXP3+ et de LTCD4 produisant de l'IL-10 dans le côlon(155).

De plus le butyrate par un mécanisme direct peut déclencher la différenciation de LTreg en LTreg FOXP3+. Cela est engendré par l'acétylation de l'histone H3 déclenché par la détection de butyrate par des LTreg. Histone H3 est le promoteur du gène FOXP3, son acétylation entraîne donc son expression. Ainsi, le LTreg acquiert le phénotype FOXP3+(156).

Parmi les bactéries du microbiote commensal, celles identifiées comme productrices de butyrate sont majoritairement des *Firmicutes* de la famille des *Clostridium* et plus particulièrement les genres *Ruminococcus* et *Faecalibacterium*(153).

- Acétate

L'acétate joue un rôle dans le recrutement et l'attraction des neutrophiles lui permettant de maintenir une certaine tolérance de l'hôte envers le microbiote. Il est à l'initiative également de la production d'IL-10 par diff rent sous type de lymphocytes notamment le TH1 et les LTCD4(151).

- Lactate

Le lactate, en activant le récepteur GPR31 des phagocytes CX3CR1+, induit la protrusion des dendrites de ces cellules. En conséquence ces phagocytes vont pouvoir capturer les micro-organismes dans la lumière intestinale(157).

- Acides biliaires secondaires

Deux récepteurs sont susceptibles d'accepter les acides biliaires secondaires sur les macrophages. Parmi eux le TGR₅ qui après liaison avec un acide biliaire secondaire produit par le microbiote induit une diminution de la production de cytokines pro-inflammatoire par les macrophages selon trois processus :

- En inhibant l'activation de l'inflammasome NLRP₃(158)
- En inhibant le signal émis par le NF-κB(159)
- En induisant la production d'IL-10 via l'activation de la protéine CREB(160).

Le deuxième récepteur est le FXR, qui, lorsqu'il rencontre des acides biliaires secondaires microbiens, entraîne la diminution de l'expression des médiateurs de l'inflammation dépendant du NF-κB dans les macrophages (IL-6, TNF-α, IL-1β et l'iNOS). Le processus impliqué serait une modification de la chromatine qui s'effectue par l'intermédiaire de la protéine NCOR(161).

Les acides biliaires secondaires microbiens pourraient avoir également un impact sur la population lymphocytaire puisqu'ils sont considérés comme impliqués dans l'homéostasie des LTReg RORγT.

- ATP extracellulaire

L'ATP extracellulaire et notamment celui libéré par les micro-organismes est finement régulé par des enzymes spécifiques comme la E-NTPD₁ et la E-NTPD₇(150). Dans les cellules myéloïdes innées, l'hydrolyse de l'ATP extracellulaire E-NTPD-1 conduit à une régulation négative du chimiotactisme des neutrophiles(162). Cette activité immunorégulatrice est complétée par celle consistant à diminuer la production d'IL-8 par les neutrophiles et d'IL-1β par les macrophages. Dans les cellules CIE la réaction enzymatique impliquant l'ATP extracellulaire microbien et le E-NTPD₇ induit l'inhibition de la réponse TH17(163).

b. Les composants bactériens

Le microbiote commensal peut activer des récepteurs TLR couplés à la MyD88, cette activation peut avoir pour conséquence la diminution des déplacements des phagocytes CX₃CR₁ de la *lamina propia* aux ganglions mésentériques. Dans le cas d'un mécanisme spécifique impliquant la fixation de *Clostridium butyrum* au TLR₂/Myd88 il est constaté que cette liaison déclenchait la production d'IL-10 par les macrophages CD11⁺, CD11c, F₄/80(164).

- Les liposaccharides (LPS)

Les liposaccharides ont un rôle pro-inflammatoire. Notamment, quand ils se fixent aux récepteurs TLR₄ des LTCD₄ CD25⁺. En résulte alors une augmentation de la prolifération et de l'activité immunosuppressive de cette population lymphocytaire spécifique(165).

- Le polysaccharide (PSA)

Le PSA est produit par des bactéries telles que la *B.fragilis*. Dans les cellules dendritiques le PSA peut engendrer différents mécanismes permettant la régulation du système immunitaire. Ainsi, lorsque le PSA se lie au récepteur TLR₂ des cellules dendritiques, il active ces dernières qui vont par la suite contribuer à l'équilibre entre TH₁ et TH₂(148,166). Lorsque le PSA se lie au récepteur NOD₂ des cellules dendritiques CD11c, l'expansion de la population des LTreg FOXP₃⁺ IL-10^{high} s'initie dépendamment des cellules dendritiques. Sur cette même population de cellules (LTreg FOXP₃⁺) l'influence de la PSA permet d'augmenter leur production en IL-10(167).

- La flagelline

Le contact entre la flagelline des SFB et les cellules dendritiques mène à la production d'IL-23 par les cellules dendritiques. L'IL-23, sur les ICL₃ les incite à produire de l'IL-22 qui va inhiber l'expansion des SFB(168). Les SFB lorsqu'elles colonisent l'intestin induisent une réponse TH₁₇ conduisant à une inflammation(169).

- Motifs microbiens

Lorsque les récepteurs NOD2 des cellules dendritiques rencontrent des motifs microbiens cela peut initier leur production d'IL-15. L'IL-15 est un messager permettant de maintenir l'homéostasie de la population de lymphocytes intestinaux de type B(170), qui ont démontré, dans des modèles DSS, être à l'origine de la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires limitant la propagation des micro-organismes colonisateurs dans les ganglions lymphatiques(171). L'IL-15 régule également la population des lymphocytes intestinaux de type A qui eux produisent des PAM (DEF1, LYD8 et Reg3γ) lorsqu'elle est libérée par les CIE(172). En conséquence la croissance microbienne est inhibée par l'expansion de ces métabolites dans le milieu intestinal.

Les micro-organismes permettent de maintenir l'homéostasie intestinale nécessaire pour créer la relation mutualiste qu'ils partagent avec leur hôte. Ainsi, l'identification de leurs composants ou de leurs métabolites engendre une réponse immunitaire régulatrice permettant d'éviter tout processus inflammatoire. Cependant, certains éléments microbiens peuvent tout de même déclencher chez l'hôte des réactions pro-inflammatoires.

2.Activation de la réponse inflammatoire

Le même type de métabolites ou de composants microbiens peuvent être à responsable de la régulation de l'homéostasie intestinale ainsi que de l'initiation d'un processus inflammatoire. Plusieurs facteurs rentrent en compte dans l'orientation de la réponse de l'hôte à la fixation de ces produits microbiens. La composition des molécules (donc de l'espèce qui en est à l'origine), est ainsi un élément déterminant, tout comme les récepteurs sur lesquels ils vont se fixer, mais aussi encore, le contexte dans lequel se trouve le microbiome au cours de cette rencontre microbiote-hôte. En conséquence nous retrouverons les éléments évoqués précédemment.

a.Les produits des micro-organismes peuplant le microbiote

- Les acides biliaires secondaires microbiens

Il a été imputé aux acides biliaires secondaires produits par *Clostridium* la diminution de l'expression du gène *Cxcl16* or ce gène entraîne la production du CXCL16 qui est un ligand au CXCR6 pouvant se trouver sur les cellules NKT. En conséquence, la présence de ces acides biliaires secondaires entraîne la suppression du recrutement des cellules NKT. Cependant, au

cours de la période néonatale, la colonisation microbienne peut entraîner une régulation négative du gène *Cxcl16* dans les CIE. Ce processus a été mis en lien avec la diminution du nombre de NKT exprimant du CXCR6 avec pour conséquence le développement d'inflammation intestinale sévère(173).

- ATP extracellulaire

Dans le côlon murin, la rencontre entre ATP extracellulaire des micro-organismes avec les cellules dendritiques CXCR1^{intermediate} CD70+ CD11b+ déclenche la production d'IL-6, IL-23 et TGFβ induisant la différenciation de TH17(174).

b. Les composants bactériens

- La flagelline

La flagelline de certaines bactéries, lorsqu'elle reconnaît le récepteur TLR5 des cellules dendritiques CD11c dans la *lamina propria*, conduit, dans un premier temps, à la production de cytokines pro-inflammatoires par ces cellules dendritiques. Dans un deuxième temps, après cette activation, les cellules dendritiques vont migrer de la *lamina propria* aux ganglions lymphatiques(175).

En ce qui concerne la flagelline appartenant à l'espèce *S. Typhimurium* elle déclenche, chez les phagocytes, la production d'IL1β qui va aller activer l'inflammasome NLRC4(176). Une fois activé, l'inflammasome NLRC4-caspase1 induit la mort du phagocyte par pyroptosis(177).

- Motifs microbiens

Lorsque les cellules stromales reconnaissent un motif microbien, elles peuvent induire le recrutement de macrophages et de cellules dendritiques qui, par leur production de TGFβ, déclenchent le switch des IgM en IgA(178). De la même manière la rencontre de motifs microbiens avec les TLR5 des cellules dendritiques de la LP entraînent la production d'IL-5,6 et d'acide rétinoïque qui provoquent la différenciation des LB naïfs en plasmocytes sécrétant des IgA(179). Dans les LT les motifs microbiens peuvent activer la protéine STAT3 qui engendre la prolifération des LTCD4 et la différenciation des TH17, ce qui a comme conséquence l'initiation d'une inflammation sévère dans l'intestin(180).

En conclusion, il apparaît que le microbiote joue un rôle primordial dans la relation

qu'entretient l'hôte avec son système immunitaire. En fonction de la composition du microbiote, la réponse immunitaire de l'hôte peut être avoir une action différente. Cela indique l'importance de la prise en compte du microbiote par exemple dans les études concernant les pathologies présentant des mécanismes inflammatoires anormaux.

Comme le dénombrent les différents mécanismes décrits précédemment, la réponse inflammatoire est stimulée de façon excessive dans les MICI, comme dans la PRD. En parallèle, les connaissances concernant l'implication du microbiote dans le développement du système immunitaire mais également dans son fonctionnement et son contrôle s'accroissent. Le microbiote semble jouer un rôle important dans l'activation et la régulation du système immunitaire. En conséquence, la composition du microbiote intestinal peut être déterminante dans les excès de stimulation du système immunitaire retrouvés dans des pathologies telles que les MICI et la PRD. Il est ainsi intéressant d'observer les études réalisées sur la composition microbienne dans le cadre de ces trois pathologies.

VIII.Écologie microbienne

L'étude de l'écologie microbienne comprend l'évaluation des taxons présents dans un écosystème et l'analyse des interactions entre chaque micro-organisme dans ce même écosystème. Ainsi des outils ont été créés pour faciliter les mesures de ces différents paramètres. Par exemple, l'indice de Shannon est une référence pour l'évaluation de la diversité des populations peuplant un milieu donné. Il permet de déterminer la richesse spécifique (ou diversité alpha), c'est-à-dire le nombre de taxons (évaluer à n'importe quelle échelle) présents dans un échantillon, mais également la répartition numérique de ces taxons au sein de ce même échantillon (l'équitabilité spécifique). Si l'on cherche à comparer les communautés microbiennes, donc l'alpha diversité, entre deux échantillons alors l'indice utilisé sera celui correspondant à la diversité beta. Elle permet de mesurer les variations en termes de composition en taxons entre des échantillons différents. Dans le but de comprendre la dynamique d'un écosystème, des analyses de diversité fonctionnelle, s'appuyant sur l'étude phénotypique des communautés peuplant un environnement donné, sont couplées avec les analyses des diversités alpha et beta.

A.Application de l'écologie microbienne au domaine médicale

La découverte de plusieurs écosystèmes au sein même de l'organisme humain a fait évoluer

la microbiologie clinique. Les études ne concernaient plus seulement l'analyse d'un seul micro-organisme spécifique mais ceux de plusieurs milliards dans un même milieu. Ainsi les outils permettant d'analyser l'écologie microbienne ont afflué dans les milieux de la recherche clinique. En conséquence les études concernant le microbiote intestinal présentent dans la quasi-totalité des mesures d'alpha et de beta diversité suivies par des études d'identification des différents taxons présents dans les échantillons étudiés. En clinique les analyses effectuées sur le microbiote ont permis de déterminer le comportement de ce dernier en cas de survenue d'événements perturbateurs et donc de comprendre comment le microbiote pouvait passer d'un état de symbiose mutualiste avec son hôte à un état de symbiose parasitique.

B. Notion de résilience du microbiote

Dans un milieu physiologique le microbiote se trouve dans un état considéré comme stable et sain, autrement appelé eubiose, très peu de modification ont lieu dans sa composition. La relation entre hôte et microbiote est alors bénéfique pour les deux entités. Cependant des événements multifactoriels peuvent engendrer des perturbations dans l'état du microbiote. En conséquence, ces populations microbiennes se voient alors modifiées. Cet état de remaniement des communautés du microbiote est transitoire. C'est dans cette phase de transition que la résilience du microbiote rentre en jeu. Car, après l'exposition à un événement perturbateur le microbiote possède la capacité à revenir vers son état de base, stable sain, c'est cela que l'on dénomme résilience du microbiote. Cependant, le microbiote peut également tendre vers un autre état stable, appelé lui, alternatif (ou dysbiose), dont la spécificité est d'être délétère pour l'hôte(181).

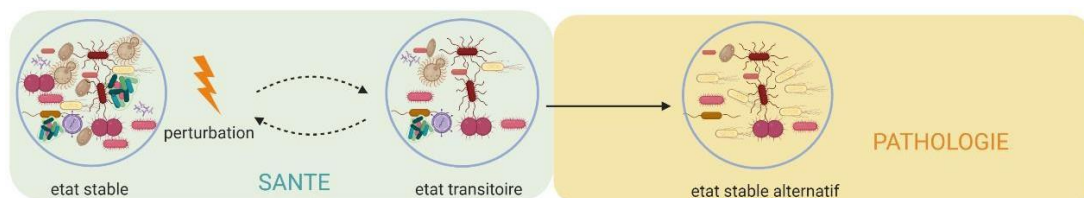


Figure 18. Schéma de la dynamique du passage d'un microbiote sain à un état transitoire et/ou dysbiotique.

La dysbiose est définie comme un état où il y a, une présence excessive de micro-organismes pathogènes, un défaut dans les communautés de micro-organismes bénéfiques et une perte de la structure de l'écosystème (diminution de la richesse spécifique). L'état dysbiotique du microbiote interroge la communauté scientifique et médicale quant à son implication dans le développement de certaines pathologies. En effet, les études effectuées dans diverses maladies (dont les MICI et la PRD) démontrent que la dysbiose du microbiote est une caractéristique présente chez la majorité des patients. Cependant un doute subsiste quant à son origine et son degré de responsabilité dans les pathologies.

Il ne semble pas y avoir de dysbiose universelle à toutes les pathologies concernées mais plutôt des dysbioses spécifiques à chacune d'entre elles. Ainsi il est intéressant d'étudier, pour chacune la signature de cette dysbiose.

IX. Le microbiote dans les MICI et la PRD

A. Le microbiote dans les MICI

Dans les MICI, le microbiote semble subir une perte en diversité puisque les études cliniques démontrent dans la majorité un indice de Shanon diminué pour les patients atteints de MICI par rapport aux patients ne l'étant pas. La signature microbienne générale de la dysbiose dans ces deux pathologies semble similaire, bien que certaines subtilités soient attachées à chaque expression différente des pathologies. Parmi les taxons touchés par cette perte de diversité sont retrouvés en majorité le phylum des *Firmicutes* unanimement dans les deux pathologies. Dans ce phylum, le genre *Roseburia*, de la famille des *Lachnospiraceae* est impacté puisqu'il dénote d'une diminution chez les patients MC et RCH(182). Certaines espèces spécifiques de ce genre ont été identifiées comme subissant une perte d'abondance : *Roseburia hominis* et *R. intestinalis*(183). La dernière est distinguée pour ses propriétés anti-inflammatoires dans la muqueuse intestinale, notamment par sa capacité à convertir de l'acétate en butyrate. Une autre famille des *Firmicutes* est affectée dans les MICI, celle des *Ruminococaceae*(182). Des espèces telles que *Clostridium leptum*, responsable de la production d'acides biliaires secondaires, voit son abondance affaiblie dans les MICI(184). *Faecalibacterium prausnitzii*, autre espèce des *Ruminococaceae* et à qui on attribue des vertus anti-inflammatoires se montre également abaissée, au cours de la MC(184). Un défaut de colonisation de cette bactérie a été identifié chez des patients atteints de RCH en rémission(185). La recolonisation de cette espèce après une rechute est signe d'un maintien de l'état de rémission chez les patients RCH. Alors que la famille des *Ruminococaceae* suit majoritairement une tendance à la diminution dans les MICI, l'espèce des *Ruminococcus gnavus* ne suit pas la même dynamique que ses homologues, puisqu'elle est augmentée. Elle est incriminée, entre autres, dans la production de métabolites pro-inflammatoires et semblent trouver un environnement propice pour son expansion dans la muqueuse inflammée présente dans les MICI, (184).

D'autres phyla sont impactés négativement dans les MICI, celui des *Verrucomicrobia* et des *Actinobacteria*. Dans les *Verrucomicrobia*, une diminution d'une espèce de ce phylum, l'*Akkermansia muciniphila*, qui doit son nom à sa capacité à dégrader la mucine, a été constaté chez des patients MC et RCH. Cette bactérie semble paradoxalement être impliquée dans des processus de maintien de la barrière épithéliale(182). Pour ce qui est des *Actinobacteria* nombreuses de ses familles subissent une perte d'abondance. Parmi elles, les

Bifidobacterium, et plus particulièrement la *B.longum*, sont connues pour avoir des effets bénéfiques sur l'homéostasie intestinale(186). Concernant la famille des *Coriobacteriaceae* elle montre également une diminution dans les MICI pédiatriques(187).

Le phylum des *Bacteroidetes*(183,188) engendre des variations contradictoires en fonction des études dans le cadre des MICI. Certaines espèces de ce phylum sont constamment diminuées dans les MICI, les espèces *Bacteroides fragilis* et *B.vulgatus*(184). Il est cependant noté que parmi les *Bacteroidetes fragilis* certaines peuvent produire le PSA qui, comme il a été précisé précédemment, a des propriétés anti-inflammatoires. Or dans les MICI, les *B.fragilis* produisant ce PSA, sont, elles diminuées(189). Le phylum des *Proteobacteria*, lui, semble augmenter dans les MICI, avec spécifiquement, dans la MC, un accroissement dans la famille des *Enterobacteriaceae* et plus particulièrement de l'espèce *Escherichia.Coli*. La souche spécifique d'*E.coli* adhérente-invasive (AIEC) est augmentée dans la MC mais également dans la RCH qui ne semblait pas concernée par quelconques modifications d'abondance à l'échelle de ce phylum ni à l'échelle de la famille spécifique des *Enterobacteriaceae*(186).

Les études à l'échelle du phylum indiquent une idée générale des changements microbiens qui s'opèrent dans chaque pathologie étudiée. Cependant si l'objectif des études est de démontrer le lien entre variation du microbiote intestinale et physiopathologies il est nécessaire d'approfondir l'analyse de la composition à l'échelle de l'espèce voir de la souche. Dans le cadre des études s'intéressant au microbiote intestinal dans les pathologies de la PRD rares sont celles qui s'intéressent aux modifications des espèces voir des souches. Malgré cela une signature microbienne de la PRD a quelque peu été établie au cours des dernières années.

B.Le microbiote dans la PRD

Le peu d'étude sur la PRD et le microbiote annonce la parcimonie avec laquelle il est souhaitable de traiter ses résultats. Les analyses de microbiotes effectuées chez des patients avant et après radiothérapie ont montré des résultats similaires. Ces résultats font écho avec ce qui a été décrit dans le paragraphe précédent sur les MICI. Parmi les changements microbiens observés sont retrouvés, une diminution des *Firmicutes*. Cette diminution concerne le genre *Roseburia* de la famille des *Lachnospiraceae*, mais également le genre *Faecalibacterium* de la famille des *Ruminococaceae*. Le phylum des *Bacteroidetes* se voit également diminué cependant un de ces genres, les *Bacteroides*, se trouve augmenté(190). Enfin le phylum des *Proteobacteria*, est marqué par une augmentation(191).

Il est possible de mettre en parallèle la dysbiose qui se trouve dans les MICI et la PRD. En effet la tendance générale semble être proche. Pour effectuer une comparaison plus détaillée il est nécessaire d'incrémenter les données microbiennes chez les patients de PRD qui sont peu nombreuses et limitent alors la comparaison.

Bien que le rôle de la dysbiose ne soit défini dans aucune des pathologies, il n'y plus de doute sur son implication. Les études démontrant des changements microbiens chez les patients malades sont une partie de l'argumentation. Une autre se révèle par des études, aux résultats encourageants concernant l'utilisation d'éléments microbiens ou de microbiotes sains pour traiter ces pathologies. L'amélioration des symptômes éprouvés par les patients ayant reçu les traitements confirme que, même si la dysbiose n'est peut-être pas à l'origine de la pathologie, elle l'entretient. De plus, ces études donnent des éléments de réflexion sur le lien entre microbiote et voies cellulaires exacerbées et/ou inhibées chez l'hôte au cours des pathologies.

X. Traitement des MICI et de la PRD par une action sur le microbiote

A. Les probiotiques

La définition des probiotiques établie par l'Organisation Mondiale de la santé (OMS) est la suivante : « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels »(192). En France, les probiotiques ont un statut de complément alimentaire. Ils sont régis par l'autorité de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire d'Alimentation Nationale (ANSES). En conséquence, les probiotiques commercialisés en France ne possèdent aucune indication clinique et ne bénéficient d'aucun remboursement par la sécurité sociale. Selon les études, les probiotiques n'apporteraient aucun bénéfice chez les patients possédant un microbiote en eubiose. Concernant leur efficacité chez les patients qui sont dans une situation de microbiote en transition ou en dysbiose, elle n'est pas bien établie. La diversité des études portant sur les probiotiques quant à la/les souches, la dose, la posologie, la forme galénique rendent difficile l'identification d'un intérêt thérapeutique pouvant leur être attribué. La limite principale des traitements par micro-organismes est de savoir les cultiver afin d'en obtenir une concentration suffisante pour avoir un potentiel thérapeutique, ce qui réduit le nombre de souches pouvant être testées. S'ajoute à cela la difficulté de mettre en œuvre une formulation adaptée leur permettant de ne perdre aucune de leur propriété. Malgré tous ces obstacles, de nombreuses études expérimentales intégrant des probiotiques sont effectuées.

Les domaines cliniques concernés sont larges allant des pathologies de la peau à des pathologies neurodégénératives. Dans le cadre des MICI et de la PRD différentes souches ont suscité l'intérêt des chercheurs les amenant à effectuer des recherches sur leur intérêt thérapeutique potentiel dans ces pathologies.

B. Les probiotiques dans les MICI

Les études expérimentales testant l'efficacité d'une administration de probiotiques dans des modèles de MICI sont nombreuses. Les études sélectionnées sont celles permettant d'effectuer une comparaison avec celles réalisées dans le cadre d'un traitement de la PRD. Ainsi les études qui seront évoquées par la suite concerne cinq souches de bactéries distinctes (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* et *Faecalibacterium prausnitzii*).

Ces études utilisent des modèles de MICI *via* des protocoles d'induction de l'inflammation par DSS ou TNBS associés à une administration de différents probiotiques. Les modèles seront répertoriés dans le tableau qui s'en suit (*Tableau IX.*).

Souches		Traitement DSS	Traitement probiotiques	Sacrifice
<i>L.acidophilus</i> (193)		DSS (2%) dans eau de boisson de Jo à J7	200µL concentré à 1×10^9 CFU en <i>L.acidophilus</i> par jour de Jo à J7 par gavage	J7
<i>L.rhamnosus</i> (194)		DSS (1,5%) dans eau de boisson de J14 à J21	1×10^9 CFU de <i>L.rhamnosus</i> lyophilisé par jour de Jo à J27 par gavage	J27
<i>L.plantarum</i> (195)		DSS (3,5%) dans eau de boisson de Jo à J7	1×10^9 <i>L.plantarum</i> J15 à J14 par gavage	J14
<i>L.delbrueckii</i> (196)		DSS (2%) dans eau de boisson de J1 à J7	5×10^9 de <i>L.delbrueckii</i> de Jo à J7 par gavage	J8
<i>F.prausnitzii</i> (197)	Protocole modéré	Jo : 200mg/kg de TNBS intrarectale puis J21 : 100mg/kg	1×10^9 de <i>F.prausnitzii</i> de J14 à J23	J24
	Protocole sévère	Jo : 200mg/kg de TNBS intrarectale puis J12 : 100mg/kg	1×10^9 de <i>F.prausnitzii</i> de J8 à J14	J15

Tableau IX. Résumé des protocoles utilisés dans les études expérimentales des probiotiques dans les MICI.

1. Effets des probiotiques sur le tissu intestinal

Dans chaque étude, tous les animaux traités par les probiotiques ont, après traitement, une longueur de côlon plus grande (excepté dans l'étude sur *L. delbrueckii* et *F. prausnitzii*) et des scores histologiques (comprenant la forme des cryptes, l'infiltrat inflammatoire, l'épaisseur de la couche musculaire, la déplétion des cellules à mucus et la présence d'abcès) moins élevés que pour les animaux traités seulement au DSS ou au TNBS. Les probiotiques dans ces modèles aux procédures expérimentales différentes (dose DSS/TNBSS et temps d'induction au DSS/TNBS) semblent favoriser les processus de réparation de l'épithélium.

Certaines de ces études se sont intéressées également à l'intégrité de barrière épithéliale. Ainsi des mesures de protéines de jonctions telles que la claudin-2 (*L. rhamnosus*(194)), la claudin-3, la ZO-1, la Ecadherin-1 et le MUC2 (*L. plantarum*(195)) ont montré une augmentation de ces protéines après l'administration de chacun de ces probiotiques. Ces résultats vont dans le sens de la réparation de l'épithélium et d'un maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale de l'intestin/côlon.

2. Effets des probiotiques sur l'inflammation

Les paramètres inflammatoires analysés après traitement par probiotiques dans des modèles de MICI (DSS/TNBS) diffèrent en fonction des études. Néanmoins chaque étude a évalué l'expression de certaines cytokines connues pour être pro-inflammatoires. Ainsi les cytokines telles que l'IL-6, après traitement par *L. plantarum*(195), *L. delbrueckii*(196) (modèle DSS), ou *F. prausnitzii*(197) (modèle TNBS), et le TNF- α après traitement par *L. rhamnosus*(194) ou *L. plantarum*(195)(modèle DSS) sont diminuées après l'administration des probiotiques. Pour l'IL-1 β , un traitement par *L. rhamnosus*(194) l'augmente alors qu'elle est diminuée suite à des traitements par *L. plantarum*(195)(modèle DSS). D'autres cytokines diminuent. C'est le cas de l'IFN γ après traitement par *F. prausnitzii*(197) (modèle TNBS) et du TGF β après traitement par *L. delbrueckii* (196)(modèle DSS). De plus, dans l'étude sur le traitement avec *L. delbrueckii* (196)(modèle DSS), le TGF β , connu principalement pour avoir des propriétés anti-inflammatoires semble dans ce contexte expérimental avoir des propriétés pro-inflammatoires. Ainsi, toujours dans cette étude la diminution de l'IL6 et du TGF β par *L. delbrueckii* confère à cette souche de bactéries des propriétés anti-inflammatoires(196). Un effet anti-inflammatoire est également observé après traitement par *L. acidophilus*, *L. plantarum* (modèle DSS), *F. prausnitzii* (modèle TNBS) par la mise en évidence d'une

augmentation de la cytokine anti-inflammatoire IL10(193,195,197).

De plus l'inflammation a également été observée par le spectre de la présence des cellules inflammatoires innées, notamment par la mesure de l'infiltrat dans le tissu des neutrophiles (première réponse de l'immunité innée), mais également adaptatives en mesurant les LTreg FOXP₃⁺CD25 (LT anti-inflammatoire). Ainsi pour les animaux traités par *L.acidophilus* ou *L.rhamnonus* il a été observé une diminution du taux de MPO (neutrophiles) dans le côlon et dans les fèces(193,194). Après traitement par *L. delbrueckii* (modèle DSS) ou *F.prausnitzii* (modèle TNBS) c'est une augmentation des LTreg FOXP₃⁺ CD25 dans la rate qui a été rapportée(196,197).

La diminution des paramètres pro-inflammatoires et l'augmentation de ceux anti-inflammatoires observés après traitement par probiotiques peuvent venir de l'action directe des bactéries administrées. Par exemple il a été évoqué précédemment que le butyrate provoquait l'augmentation en taux de LTreg FOXP₃⁺. L'augmentation de ces cellules après traitement par *F.prausnitzii* dans un modèle TNBS peut indiquer que c'est l'administration même de cette bactérie (productrice de butyrate) qui pourrait être à l'origine de l'augmentation de ces LTreg(197). Cependant aucune indication n'est donnée quant à l'implantation des souches administrées dans le microbiote des animaux traités. Il est donc difficile d'attribuer les mécanismes par action directe des bactéries délivrées. Malgré cela des mesures de microbiote ont été réalisés dans ces études après DSS/TNBS et après traitement par probiotiques. Ces mesures de microbiote pourraient donner une information sur l'origine des modifications de l'inflammation après traitement, autre que l'action de la /des souche(s) administrée(s).

3.Effets des probiotiques sur le microbiote

En fonction des études les résultats concernant la composition du microbiote ne se fait pas nécessairement sur les mêmes échelles de taxons. Ainsi certains s'intéressent au phylum d'autres aux genres.

a.Changement dans les communautés microbiennes

Dans l'étude concernant l'effet d'une administration de la souche *L.acidophilus* après induction d'une inflammation par DSS, le microbiote est comparé dans un premier temps entre les animaux contrôles et les animaux DSS. Après DSS certains genres tels que *Bacteroides* et

Mucispirillum sont augmentés quand le genre des *Prevotella* est diminué. Le traitement par *L.acidophilus* permet de rétablir partiellement l'équilibre des communautés avant DSS sans l'atteindre(193).

En ce qui concerne l'étude s'intéressant à l'effet de *L.rhamonius*, le DSS, par rapport aux animaux contrôles induit une diminution du phylum des *Actinobacteria* et une augmentation de celui des *Verrucomicrobia*. Le traitement par *L.rhamnonus* permet de ré-augmenter le phylum des *Actinobacteria*, sans cependant atteindre l'abondance des animaux contrôles. Pour autant il ne provoque aucune différence pour l'abondance des *Verrucomicrobia* qui se trouve inchangé malgré le traitement par *L.rhamnonus*. De plus, après traitement par *L.rhamnonus* une diminution des *Firmicutes* est reportée par rapport aux groupes contrôles et DSS alors que le DSS lui-même n'induit aucune modification de ce phylum dans cette expérience. Les lésions et l'inflammation provoquées par DSS des animaux semblent être améliorées par le traitement avec cette souche bactérienne. Les SFB qui font partie du phylum des *Firmicutes* peuvent engendrer une réponse TH17. La diminution des *Firmicutes* pourrait être due à une diminution spécifique de certains groupes bactériens comme les SFB. Après traitement par *L.rhamnonus*, la diminution des SFB pourrait réduire l'inflammation et les lésions induites par DSS(169,194) par une réduction de la réponse immunitaire de type Th17.

A propos de l'étude qui s'intéresse à l'effet du probiotique *L.plantarum* dans un modèle DSS, les résultats rapportés indiquent une augmentation des genres *Bacteroides* et *Alloprevotella* et une diminution des *Lachnospiraceae*, *Lactobacillus*, *Helicobacter* et *Roseburia*. En conséquence, les changements opérés par *L.plantarum* diffèrent de ceux entraînés par *L.acidophilus*. Cependant, comme pour les autres études les abondances de genres microbiens évoquées sont rétablies partiellement après traitement. Les niveaux n'atteignent cependant pas ceux des animaux contrôles(195).

Enfin, l'administration de *F.prausnitzii* dans un modèle TNBS permet de contrer la diminution en *Bacteroidetes*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et en *F.prausnitzii* engendré par le TNBS(197).

b.Conclusion

L'effet de traitement par probiotiques semble, d'après ces études, améliorer l'état des animaux après induction d'inflammation et de lésions proches de celles observées lors des

MICI. Des études expérimentales sur ces mêmes souches de probiotiques ont également été testées dans l'irradiation. (Figure 19.)

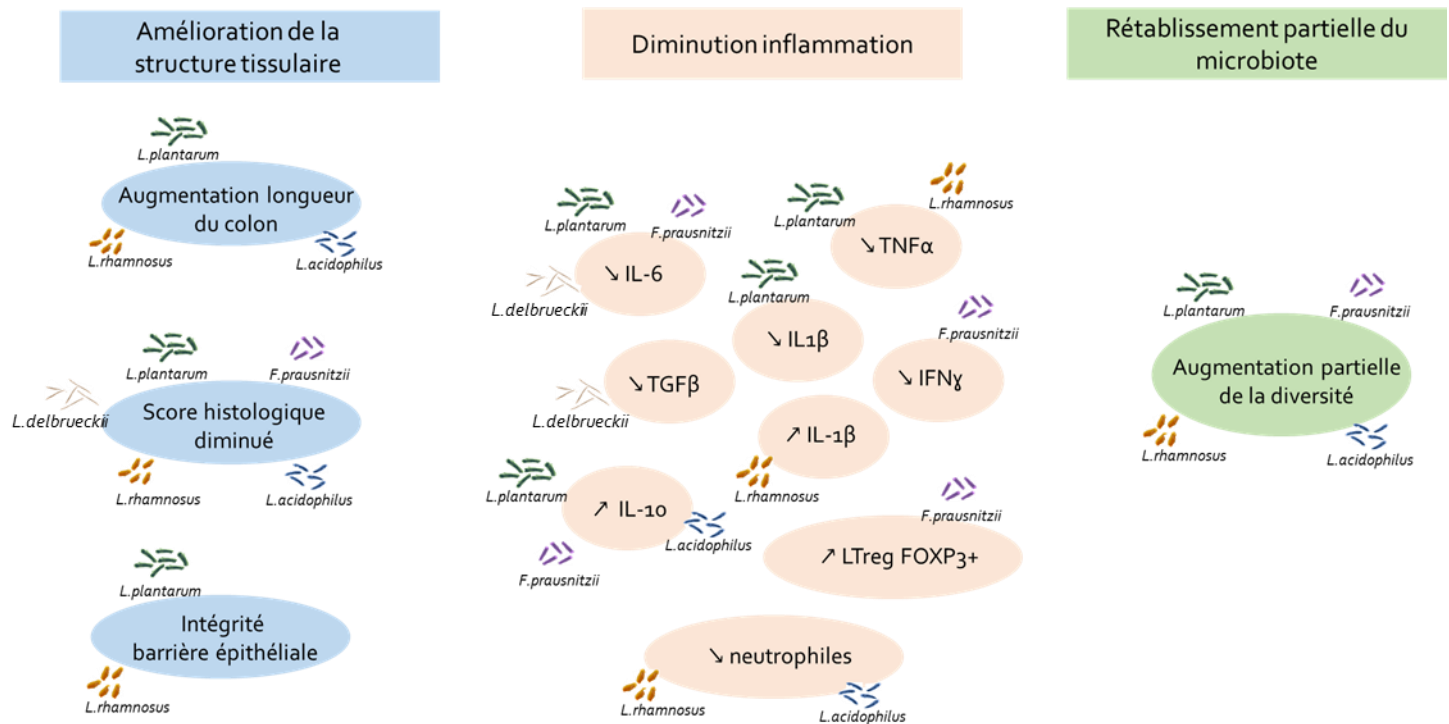


Figure 19. Schéma récapitulatif de l'effet de l'administration de différents probiotiques sur la structure du tissu, l'inflammation et le microbiote dans des modèles DSS/TNBS.

C. Les probiotiques dans la PRD

Souches	Irradiation	Traitement probiotiques	Sacrifice
<i>L. acidophilus</i> (198,199)	Irradiation de 6Gy en corps entier à Jo	Exposition à <i>L. acidophilus</i> sur organoïdes	J1, J3 et J10
	Irradiation dose unique de 10, 15 et 20Gy zone abdomino-pelvienne à J7	1×10^8 CFU de <i>L. acidophilus</i> par jour de Jo à J10	J10
<i>L. rhamnosus</i> (200)	Irradiation de 12Gy corps entier à J3	1×10^9 CFU de <i>L. rhamnosus</i> heat-killed par jour de Jo à J3 par gavage	6h post-irradiation et 84h post irradiation
<i>L. plantarum</i> (201)	Irradiation fractionnée gros intestin : dose totale de 20Gy 1 fraction de 10Gy à J3 1 fraction de 10Gy à J7	1×10^9 <i>L. plantarum</i> deux fois par jour excepté à J11	J15, J18, J22
<i>L. delbrueckii</i> (202)	Irradiation de 11 Gy dans zone abdomino pelvienne à Jo	1×10^{10} de <i>L. delbrueckii</i> de Jo à J7 par gavage	J8
<i>F. prausnitzii</i> (203)	Irradiation de 29 Gy localisée au niveau du côlon à J3.	1×10^9 de <i>F. prausnitzii</i> de J-3 avant IR à J3 après IR	J3 et J6

Tableau X. Résumé des protocoles utilisés dans les études expérimentales des probiotiques dans la PRD.

1. Effets des probiotiques sur l'épithélium

Deux études ont testé l'effet de l'espèce *L.acidophilus* sur du tissu ayant été affecté par une irradiation. Parmi elle une est effectuée *in vitro* et s'intéresse à l'état des organoïdes issus d'intestin de souris exposées ou non à une irradiation de 6Gy en corps entier, et ayant bénéficié ou non d'une administration de *L.acidophilus*(199). Les organoïdes des animaux irradiés sont dits « cryptiques » indiquant un mauvais fonctionnement ainsi qu'une mauvaise différenciation des cellules souches de l'intestin. En revanche, les organoïdes obtenus à partir d'animaux non irradiés et d'animaux irradiés et traités par le probiotique forment des « budding », bourgeonnements composés de cryptes. De plus, alors qu'après irradiation l'expression de marqueurs des cellules souches (lgr5) et de cellules à mucus (muc2) est diminuée, le traitement par *L.acidophilus* rétablit leur expression au niveau de ceux retrouvés dans les organoïdes issus d'animaux contrôles. Ainsi le traitement par *L.acidophilus* possède une action sur la bonne organisation structurelle de l'épithélium intestinal après irradiation. Les résultats de cette étude sont corroborés avec celle réalisée *in vivo* sur des rats irradiés localement au niveau de la zone abdomino-pelvienne aux doses uniques de 10, 15 et 20Gy (selon les groupes) et traités par *L.acidophilus* avant et après irradiation. L'étude s'intéresse à l'intégrité structurale du tissu en mesurant la hauteur des cryptes et l'épaisseur de la muqueuse à différents endroits de l'intestin grêle (duodenum, jejunum et iléon). Les résultats montrent que le traitement par *L.acidophilus* permet de minimiser la réduction de la taille des cryptes et l'épaisseur de la muqueuse induites après irradiation (10, 15 et 20 Gy). Cependant dans le jejunum, cet effet du probiotique n'est observé qu'après une irradiation de 10 Gy(198).

De la même façon que pour *L.acidophilus*, mais après une irradiation abdomino pelvienne de 11Gy, l'administration de *L.delbrueckii* maintient un niveau contrôle du nombre des cryptes et de celui des cellules à mucus dans le jejunum. De plus, cette même étude s'intéresse à l'état de l'intégrité de la barrière épithéliale en mesurant la translocation bactérienne dans les nœuds lymphatiques mésentériques, dans le foie et dans la rate. Après traitement par *L.delbrueckii* cette translocation bactérienne est diminuée par rapport aux animaux irradiés non traités. L'observation des signes cliniques montre une diminution de la diarrhée après traitement par *L.delbrueckii* (5 animaux sur 10 dans le groupe irradié et traité par *L.delbrueckii* vs 10 sur 10 dans le groupe irradié seulement)(202).

Les résultats de ces deux études suggèrent que lorsque le tissu a été exposé à une dose d'irradiation très forte entraînant des dommages irréversibles de ce même tissu (≥ 15 Gy),

L'utilisation thérapeutique d'un probiotique pourrait ne pas être efficace.

L'équipe de Ciorba et al. a testé l'efficacité prophylactique de *L.rhamonus* sur l'épithélium intestinal d'animaux irradiés en corps entier à la dose de 12 Gy. Ils ont observé un effet de ce probiotique sur l'épithélium avec une augmentation de la survie des cryptes et une diminution de l'apoptose des cellules des cryptes(200).

Au laboratoire de radiobiologie des expositions médicales (LRMed) de l'Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire (IRSN), nous avons choisi de tester l'efficacité prophylactique d'un probiotique de nouvelle génération « *F.prausnitzii* » sur des atteintes épithéliales sévères de la zone colorectale après une irradiation localisée de 29 Gy. Le traitement par ce probiotique réduit les altérations structurales mesurées 3 jours après l'irradiation (atypie des cryptes) et l'étendue de l'ulcération mesurée J7 après l'irradiation. Suite au marquage immunohistologique et à la quantification dans l'épithélium du côlon, des cellules progénitrices/souches par SOX9, des tuft cells par DCLK1 (cellules appartenant à la niche des cellules souches épithéliales) et de la prolifération des cellules épithéliales par PCNA, nous avons également démontré une augmentation de la capacité d'auto-renouvellement du tissu épithélial colique par *F.prausnitzii*(203).

Malgré différents protocoles d'irradiation (localisés ou corps entier), l'utilisation de différentes souches de bactéries avec des modalités d'administration variées, les probiotiques semblent réduire les atteintes intestinales et coliques radio-induites.

2.Effets des probiotiques sur l'inflammation

Contrairement à l'observation histologique sur la structure du tissu, peu d'études se sont intéressées aux variations de l'infiltrat des cellules immunitaires après irradiation et traitement par probiotiques. Cependant pour toutes celles qui l'ont effectué les résultats concordent. Ainsi après une irradiation abdomino-pelvienne de 20Gy en deux fractions, abdomino-pelvienne de 11Gy en dose unique et colorectal de 29Gy en dose unique, l'infiltrat de neutrophiles est augmenté par rapport aux animaux contrôles. Dans ces différents modèles le traitement par, *L.plantarum*, *L.delbrueckii*, et *F.prausnitzii* respectivement, permettent de diminuer l'infiltrat de leucocytes dans la muqueuse(201–203). L'infiltrat de neutrophiles est évalué par mesure de la concentration de MPO dans le tissu (*L.plantarum*, *F.prausnitzii*) et leur mobilisation par l'expression GRO/KC, chemo-attractant des neutrophiles. (*F.prausnitzii*)(201,203). Le traitement par *L.delbrueckii* permet également de

diminuer la taille des plaques de Peyer ainsi que la vasodilatation des vaisseaux sanguins radio-induits (irradiation abdomino-pelvienne de 11Gy)(202).

L'effet des probiotiques jouent un rôle dans la réparation mais également dans la modulation de l'inflammation. Il est dorénavant connu que l'irradiation engendre une modification dans les communautés microbiennes. L'apport d'une espèce commensale ayant été impactée par l'irradiation permet d'éviter les désagréments engendrés par la perte de cette espèce spécifique. Des indicateurs comme la présence de SOX9, marqueur des cellules progénitrices/souches, laisse à penser que l'apport de probiotique, permettait la réparation du tissu. Cette capacité de régénération pourrait venir de la modulation des populations cellules inflammatoires par ces probiotiques(203).

Les effets provoqués par les probiotiques peuvent être engendrés par leurs composants et/ou les métabolites qu'ils produisent auprès des cellules épithéliales et des cellules immunitaires. Il est également possible que de par leur présence ils créeraient un environnement favorable à l'expansion de certaines souches qui s'étaient alors étiolées après irradiation. Dans ce cas le retour d'un microbiote en équilibre sain génèrerait un retour vers une symbiose mutualiste, permettant aux tissus de se réparer fonctionnellement. La modulation du microbiote après irradiation et irradiation/traitement probiotique est donc un pilier pour la compréhension de la dynamique du développement de la PRD. Cependant, dans le cadre du traitement par probiotiques après irradiation très peu d'études (synthétisées dans le paragraphe suivant) se sont intéressées à la modification de la composition du microbiote.

3.Effets des probiotiques sur le microbiote

Les deux études expérimentales qui se sont penchées sur l'effet de l'administration de probiotiques sur les populations microbiennes intestinales après irradiation ne démontrent aucun changement à court terme entre les animaux irradiés et les animaux irradiés traités par des probiotiques (*L.rhamnonus*, *F.prausnitzii*)(200,203). Néanmoins, dans ces deux études réalisées à court terme, le microbiote ne semble pas de base être impacté au niveau de sa composition par l'irradiation et ce de quelques heures à 3 jours après l'exposition du tissu aux rayonnements. Cependant, il est difficile d'établir une conclusion générale sur deux études, il serait nécessaire d'incrémenter les résultats pour confirmer cette tendance (Figure 20.).

Les études expérimentales permettant d'étudier les effets de probiotiques dans le cadre de la PRD sont probantes en ce qui concerne l'effet bénéfique que peut apporter l'apport de souches microbiennes en traitement prophylactique. L'état du tissu est ce qui est le plus

observé pour amener les chercheurs à la conclusion des bienfaits des probiotiques dans ces modèles. L'incrémentation de ces résultats avec des données concernant l'inflammation et le microbiote permettrait de comprendre les mécanismes permettant d'obtenir des atteintes tissulaires moins sévères après traitement et ainsi d'établir des moyens de prise en charge des patients mieux adaptés.

Les traitements par les souches de *Lactobacillus* et de *F.prausnitzii* ont des effets sur des modèles expérimentaux de MICI et de PRD. Bien que les données sur l'irradiation soient moins détaillées que celles sur le MICI, les effets semblent similaires. Seul l'effet sur le microbiote ne concorde pas. Cela pourrait être expliqué par des d'analyses réalisées à des temps différents.

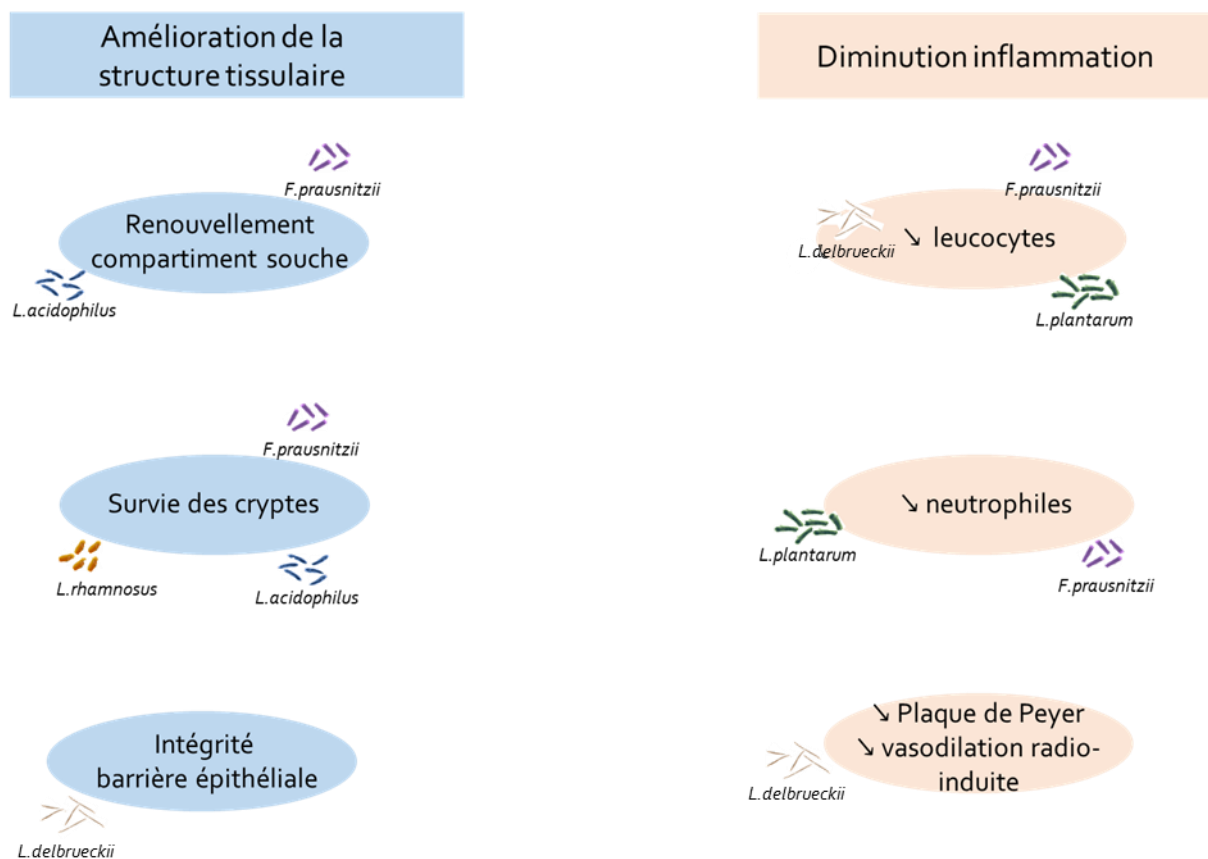


Figure 20. Schéma récapitulatif de l'effet de l'administration de différents probiotiques sur la structure du tissu et l'inflammation dans des modèles d'irradiation.

Des probiotiques ont également fait l'objet d'étude clinique dans la RCH, la MC et la PRD. Après analyse des résultats, les conclusions vont vers une absence d'intérêt thérapeutique des probiotiques pour traiter les MICI par rapport aux médicaments déjà utilisés dans le cadre de ces pathologies. En ce qui concerne la PRD, les probiotiques administrés au cours de la radiothérapie dans les essais cliniques, permettent, pour la majorité des patients, d'améliorer leurs symptômes. Cependant aucune comparaison n'est effectuée par rapport aux autres traitements déjà disponibles. De plus, ces études concernent seulement les effets aigus radio-induits, aucun recul n'est établi en ce qui concerne les effets tardifs, plus handicapants pour les patients puisqu'ils sont chroniques.

Les études expérimentales ont permis de mettre en lumière que l'apport de probiotiques, du moins dans les modèles DSS/TNBS, ne permettait pas de rétablir l'équilibre sain du microbiote présent avant le traitement par DSS/TNBS. Les animaux traités par probiotiques semblent avoir un microbiote en transition puisqu'il est diff rent de celui des animaux non traités mais aussi des animaux contrôles bien qu'il y ait une tendance du microbiote des animaux traités à se rapprocher de celui des animaux contrôles. Cet  tat transitoire pourrait être la limite de l'efficacité des traitements par probiotiques. Si le microbiote se retrouve de nouveau dans un état de dysbiose après être passé dans un état transitoire suite au traitement par probiotiques, les effets bénéfiques présents au cours de cet état transitoire deviendront alors caducs.

Discussion

I. Des pathologies apparentées

Il est apparu, tout au long de ce rapport, que les MICI et la PRD partageaient de nombreux points communs. Tout d'abord, concernant l'aspect clinique, les pathologies rassemblent un nombre important de symptômes similaires. De plus, ajouté aux signes cliniques, les lésions tissulaires présentes chez les patients atteints de MICI et de PRD, ont également de nombreuses caractéristiques communes. Au vu de cette ressemblance il est intéressant de voir si ces différentes manifestations peuvent avoir pour origine des mécanismes physiopathologiques analogues. Il s'avère que des aspects de la physiopathologie d'un point de vue inflammatoire sont comparables dans ces pathologies. Cependant, les éléments de comparaisons restent tout de même limités. Les MICI sont des sujets d'études très référencés contrairement aux pathologies liées à l'irradiation qui ne sont étudiées que par quelques laboratoires dans le monde. Les infrastructures nécessaires pour réaliser des études sur les MICI et sur la PRD, ne demandent pas la même organisation. L'irradiation nécessite des équipements spacieux, coûteux et du personnel spécifique formé à leur utilisation. De plus les modèles de lésions radio-induites intestinales expérimentales sont difficiles à mettre en place. Les patients développent des lésions radio-induites à la suite d'un contexte tumoral. La reproduction expérimentale de ces lésions, de sorte à mimer la clinique, est délicate. Pour autant, au vu des caractéristiques analogues à différentes échelles étudiées, il m'a semblé judicieux de prendre de l'avance sur les recherches de traitement dans la PRD, en s'appuyant de ce qui est déjà connu dans les MICI.

II. Apprendre des thérapies utilisées dans les MICI

Parmi les dernières thérapies qui attisent la curiosité du domaine médical, se trouve le microbiote intestinal. Il s'avère que ce microbiote intestinal pourrait être le dénominateur commun des MICI et de la PRD. Cette hypothèse prend appui sur l'identification d'une même tendance en termes de modification des communautés microbiennes intestinales dans ces différentes pathologies. De plus, l'induction expérimentale d'une MICI échoue lorsque les modèles animaux sont des animaux axéniques. En comparaison des résultats exprimés sur des animaux avec un microbiote dans ces mêmes modèles, les manifestations observées sur les

souris axéniques sont différentes. Il apparaît que l'administration de TNBS chez des souris axéniques ne permet pas d'obtenir des colites chez les animaux(204). Quant à l'administration de DSS chez des souris axéniques, elle provoque une inflammation bien moindre que chez des animaux conventionnels, pourtant la perméabilité semble augmentée(205). La combinaison des éléments concernant le changement de microbiote dans les MICI et un échec de reproduction des différentes conditions caractéristiques réunies de ces maladies malgré les essais d'induction expérimentale (DSS/TNBS) chez des animaux dépourvus de microbiote, mènent à la conclusion que ce dernier est essentiel au développement des MICI. Dans la PRD, une étude s'est intéressée à l'impact que pouvait avoir un microbiote préalablement modifié sur la réponse à l'irradiation. Pour se faire, des animaux WT ont été irradiés par curiéthérapie (4x 5,5Gy). Un changement dans leur communauté microbienne a été observé six semaines après irradiation. Les fèces de ces animaux ont été prélevées à six semaines et ont été transplantées à des animaux axéniques. En parallèle d'autres animaux axéniques recevaient des fèces d'animaux contrôles. Les deux groupes d'animaux ont été, après leur transplantation, exposés à une irradiation. Le constat est que les animaux ayant reçu des fèces d'animaux irradiés présentaient des atteintes plus sévères. Cela met donc le microbiote intestinal en cause dans les lésions intestinales radio-induites(206). Malgré l'inconnue qui subsiste concernant le lien de la dynamique de l'installation des MICI et de la PRD avec des variations éventuelles du microbiote intestinal, il apparaît que ce dernier pourrait participer au développement mais également de la chronicité de ces pathologies inflammatoires. Les thérapies utilisées actuellement dans le traitement des MICI ciblent l'inflammation, notamment avec des molécules comme la mesalazine (PENTASA®) dont le mécanisme d'action est toujours non élucidé, des immunosuppresseurs (anti-TNF α (HUMIRA®), des thiopurines (IMUREL®)) et des corticoïdes (CORTANCYL®). Bien que leurs mécanismes d'action soient attribués à leur action sur l'inflammation, ces traitements agissent aussi sur les populations du microbiote intestinal (207–210). Cependant malgré leurs efficacités, ces traitements ne permettent pas de rémission totale chez les patients. De la même manière les résultats obtenus sur les traitements par probiotiques réalisés en clinique indiquent que leur administration permet d'améliorer les symptômes des patients sans pour autant avoir une efficacité supérieure à celle des médicaments déjà délivrés pour les mêmes indications. Or, expérimentalement, dans des modèles DSS/TNBS il est révélé que l'administration de souches microbiennes peut entraîner une modification de la proportion de plusieurs espèces dans le microbiote intestinal. Cependant, le microbiote des animaux traités

n'arrive jamais à retrouver une composition similaire à celle des animaux contrôles. Les observations faites en clinique avec les thérapies utilisées actuellement et en expérimental avec les études sur les probiotiques peuvent mener à soupçonner que, sans rétablir un état d'équilibre sain du microbiote, les traitements ne pourront jamais atteindre une efficacité totale au long terme. Ainsi, les traitements par transplantation d'un microbiote complet se voient comme une alternative intéressante. C'est pourquoi la thérapie par la transplantation fécale pourrait être pertinente dans ces pathologies.

III. La transplantation fécale

A. Des effets prometteurs dans les MICI

La TMF est actuellement intégrée dans un protocole thérapeutique clinique. En effet, la TMF est utilisée dans les formes récidivantes de l'infection à Clostridium difficiles. Au vu de l'efficacité clinique de cette méthode, elle a suscité l'intérêt de la communauté scientifique et médicale. En France, un groupe de gastro-entérologues et scientifiques travaille sur le microbiote et notamment sur son potentiel thérapeutique dans les MICI. D'autres équipes dans le monde se sont intéressées à l'effet que pourrait avoir la TMF dans ces pathologies. Depuis 2015, des études cliniques randomisées voient le jour concernant l'utilisation de la TMF dans le cadre des MICI. La majorité s'applique surtout à observer les effets de ce traitement dans la RCH. Quatre études cliniques randomisées sont disponibles concernant l'utilisation de la TMF dans la RCH.

Les deux premières études datent de 2015. Une, est issue d'un laboratoire de recherche Canadien et l'autre Finlandais. Les effectifs des patients dans chaque étude sont de 70 patients et 48 respectivement.

Dans l'étude Canadienne les modalités de traitement consistent en une administration intra rectale via une sigmoïdoscopie d'un échantillon de selle d'un donneur ou de placebo, une fois par semaine pendant six semaines. L'étude intègre seulement deux donneurs. Un certain nombre de patients a reçu les selles du donneur A, le reste des patients celles du donneur B. La septième semaine de l'essai clinique signe la fin du traitement et le temps où les patients sont évalués. A ce temps, 24% des patients du groupe ayant reçu des selles de donneurs sont en rémission contre 5% dans le groupe qui a reçu du placebo. Parmi les neufs patients en rémission au cours de la septième semaine, 8 le sont restés 52 semaines après le début du

traitement, soulignant l'effet au long terme que peut avoir la TMF. Quatre des patients du groupe ayant reçu le traitement ont arrêté leur traitement et reste en rémission jusqu'à la publication de cet article. Après analyse de l'efficacité des transplants en fonction des donneurs il a été mis en évidence que les selles issues du donneurs B avaient permis d'engendrer plus de rémission que les selles issues du donneur A. Cela souligne l'importance de la sélection des donneurs vis-à-vis de leur receveur. Les analyses de microbiote, effectuées chaque semaine après la transplantation indiquent l'augmentation de la diversité chez tous les patients qui ont reçu une TMF. Au cours de cette étude cinq patients ont développé des effets indésirables importants (trois dans le groupe traité et deux dans le groupe placebo). Aucune précision n'est cependant délivrée quant à la responsabilité du traitement par TMF dans le développement de ces effets secondaires. Néanmoins, les résultats sont encourageants pour le traitement par TMF des patients souffrant de RCH. Le traitement semble avoir un rapport bénéfice/risque intéressant. A noter que dans cette étude aucun lavement ni traitement prophylactique par antibiothérapie n'ont été réalisés chez les patients avant transplantation. Ces traitements sont indiqués généralement pour améliorer l'implantation du transplant. Malgré cela les patients ont tout de même eu un taux de réponse positive significatif au traitement avec, au vu de l'augmentation de la diversité microbienne, une implantation de leurs transplants dans le groupe des patients traités. Des questions restent malgré tout en suspens concernant la préparation des patients, le mode d'administration, la fréquence, la sélection des donneurs et des patients(211).

Pour l'étude Finlandaise, les conditions de traitement ne sont pas les mêmes que dans l'étude Canadienne. Tout d'abord les patients ont bénéficié de deux lavements avant de recevoir leur TMF. Un lavement la veille du traitement et un lavement le matin du traitement. L'administration de la TMF s'effectue par sonde nasogastrique jusqu'au duodénum. Le traitement consiste en deux TMF espacées de trois semaines. Les deux groupes de patients intégrés dans cet essai sont : des patients qui ont reçu des selles de donneurs et des patients qui ont reçu leurs propres selles (transplantation autologue). Six et douze semaines après le traitement par transplantation il n'y a pas de différence significative constatée entre les deux groupes en termes d'amélioration de l'état des patients. Cependant l'analyse du microbiote chez les patients transplantés avec des selles de donneurs permet de souligner que certains ont présenté un changement dans leur communauté microbienne alors que d'autres non. Après observation cas par cas une corrélation est faite entre une efficacité évaluée en termes de score lésionnel et de rémission (observée chez un petit nombre de patient), et le

changement dans le microbiote opéré après TMF. Bien que cette étude ne présente pas de résultat positif quant à l'efficacité de la TMF dans le cadre de la RCH, elle donne des éléments de compréhension sur la responsabilité du microbiote dans l'efficacité du traitement par TMF. Le changement de microbiote chez les patients répondeurs peut être une cause ou une conséquence de la rémission des patients. Cependant, il semblerait que le changement de microbiote établi correspond à un shift vers le microbiote qui a été transplanté chez les patients. Cette information donne une indication sur la dynamique de l'effet de la TMF. Elle montre également que l'efficacité de la TMF pourrait passer par la modulation du microbiote qu'elle provoque. Il est important de noter également que l'administration de macrogol, médicament utilisé pour les lavements, entraîne une prolifération des *Proteobacteria* deux jours après l'ingestion chez les patients sains. L'administration de cette molécule juste avant transplantation peut alors engendrer l'installation d'un environnement favorable à ce phylum spécifique de bactéries et donc entraîner des altérations sur les transplants(212).

Une troisième étude sur la TMF dans les RCH, est effectuée en 2017 et inclus 81 patients. L'administration se fait dans un premier temps à l'hôpital à l'aide d'une coloscopie, permettant aux soignants d'administrer le traitement dans l'iléon et/ou le caecum. Par la suite, les patients procèdent à des auto-administrations (lavements) tous les jours cinq jours sur sept pendant huit semaines. La préparation des transplants s'effectue au préalable en mélangeant les selles des différents donneurs. Les échantillons sont stockés à -80° puis à -20° quand ils se trouvent chez les patients pour leur administration journalière. Ainsi se sont des préparations issues de congélation que les patients s'administrent. Huit semaines après l'initiation du traitement 44% des patients ayant reçu la TMF présentent une rémission clinique sans avoir besoin de prendre de traitement par corticostéroïdes, contre 20% dans le groupe placebo. En ce qui concerne la réponse clinique, elle a été observée chez 54% des patients qui ont reçu la TMF contre 23% des patients qui ont reçu le placebo. Enfin la réponse endoscopique a été constatée chez 32% des patients ayant reçu la TMF contre 10% pour ceux qui ont eu le placebo. En ce qui concerne la diversité du microbiote intestinal, elle est augmentée quatre semaines après la transplantation. Cette augmentation est maintenue à huit semaines après TMF. Pourtant, bien que la diversité ait augmenté dès la quatrième semaine, aucune différence en ce qui concerne le pourcentage de rémission n'a été observée à ce temps entre le groupe traité et le groupe placebo. Cette observation peut donner des éléments de réflexions concernant la dynamique du mécanisme d'action de la TMF. Le

rétablissement d'un microbiote en eubiose pourrait mener à une limitation voire une éradication de l'expression de la RCH(213).

Enfin la dernière étude en date est celle de 2019 qui intègre 73 patients. Dans cette étude clinique, l'administration de TMF s'effectue via une colonoscopie dans le côlon droit. Les deux groupes de patients comprennent celui recevant des selles de donneurs et celui recevant leurs propres selles (transplantation autologue). Les patients ont effectué un lavement avant la transplantation, ils se sont vus administrer également du lopéramide, sûrement dans le but de ralentir le péristaltisme intestinal et donc la production de fèces. La préparation des TMF s'est faite en poolant les échantillons de trois à quatre donneurs par transplant. Trois TMF ont été réalisées sur un laps de temps de sept jours. Huit semaines après le début du traitement 32% des patients traités par TMF ont présenté une rémission contre 9% chez les patients placebo. Une réponse clinique a été observée chez 55% des patients qui ont reçu TMF et 23% chez les placebos. Enfin, la rémission endoscopique concerne 11% des patients TMF et 0% des patients placebos. De plus, un suivi des patients a été réalisé jusqu'à douze mois après l'initiation du traitement. A ce temps d'analyse, 42% des patients traités par TMF déjà en rémission à huit semaines, sont restés en rémission à douze mois. Cette dernière étude corrobore les résultats des deux études lui ayant précédés en démontrant une efficacité de la TMF dans le cadre de la RCH(214).

Les meilleurs résultats en termes de rémission sont ceux obtenus dans l'étude de 2017. Il est possible de mettre en parallèle le fait que ce soit l'étude qui comprend le plus d'administration totale de TMF. De plus ces transplantations sont effectuées par les patients eux-mêmes à leur domicile. Il est connu que l'environnement hospitalier, ou médical en règle générale peut engendrer un stress chez les patients et donc troubler les analyses (remarqué dans la mesure de la tension artérielle avec l'effet blouse blanche) et potentiellement l'efficacité des traitements. Après analyse, les deux points qui semblent importants dans l'efficacité de la TMF sont la voie d'administration et la posologie. Les études présentant les résultats les plus encourageants présentent des administrations quotidiennes, ou du moins rapprochées de la TMF, qui s'effectue au niveau rectal. Tandis que celle qui ne présente aucune efficacité a opté pour une administration de la TMF à une faible fréquence au niveau de l'intestin grêle. En conséquence, les conditions à réunir pour une optimisation de l'efficacité du traitement est une administration itérative, rapprochée dans le temps et de préférence au niveau colique.

L'importance de l'endroit de la transplantation peut s'expliquer par le fait que les microbiotes des intestins présentent une grande variabilité en termes de composition en fonction de l'emplacement où ils se trouvent. Dans ce cas, administrer des micro-organismes issus du côlon dans des parties de l'intestin grêle peut potentiellement engendrer une perte de communauté microbienne du transplant au cours de la TMF. De plus, l'autre point essentiel semble être celui des donneurs. Les selles de certains donneurs se sont révélées peu efficaces chez les patients. Un pool de selles de plusieurs donneurs semble avoir un effet thérapeutique meilleur. Ainsi, pour éviter tout risque d'échec du traitement et l'optimiser, il semble au vu de ces études intéressantes qu'une préparation d'échantillons issus de plusieurs donneurs différents soit recommandée.

Au vu des résultats positifs de l'utilisation de la TMF sur les patients atteints de RCH, certaines équipes de recherche se sont intéressées à l'extension d'une potentielle nouvelle indication : la maladie de Crohn.

A l'heure actuelle seule une étude randomisée a été effectuée sur des patients atteints de maladie de Crohn. Cette étude inclut 17 patients, 8 qui ont reçu une TMF et 9 qui ont reçu une solution de sérum physiologique. Avant la procédure de TMF, les patients ont fait un lavement à l'aide de 4L de PEG. Les patients ont reçu une seule administration de TMF qui a eu lieu à l'hôpital par colonoscopie. La TMF, au cours de cette procédure a été délivrée dans le caecum. A la dixième semaine aucune différence n'a été constatée en termes de pourcentage de rémission entre les deux groupes. Pour autant à six semaines l'indice endoscopique de sévérité de la maladie de Crohn (CDEIS) a été diminué dans le groupe des patients transplantés. La CRP mesurée à six semaines était stable chez les patients transplantés par rapport aux patients placebo, qui eux ont expérimenté une augmentation de cette CRP. Dans le même temps le nombre de neutrophiles a été diminué dans le groupe des patients traités. En termes de diversité microbienne, une augmentation a été constatée seulement chez les patients traités. Ainsi, tous ces indices démontrent que la TMF a des effets positifs sur la maladie de Crohn. Cependant, la TMF ne permet pas d'atteindre la rémission chez les patients, ce qui pourrait être expliqué par la réalisation de seulement une TMF et donc une fréquence d'administration trop faible. Cela est étayé par le résultat sur l'analyse du microbiote. En effet, une administration unique ne permet qu'une augmentation de diversité microbienne transitoire puisqu'à 14 semaines après la transplantation où, les valeurs de diversité microbienne sont similaires à celles des patients contrôles. Il est intéressant de noter

que dans cette étude une distinction est faite entre les patients chez qui le microbiote du donneur a été implanté et ceux chez qui il y a eu un échec d'implantation. Il est alors remarqué que chez les patients où la TMF s'est implantée le pourcentage de rémission est plus élevé que pour les patients chez qui il n'y a pas eu d'implantation. Pour ces derniers, les crises sont survenues très rapidement malgré la TMF. Ces observations mettent en évidence que l'implantation peut être un facteur déterminant dans la réussite thérapeutique de la TMF dans la maladie de Crohn. Nous pouvons également supposer qu'une fréquence d'administration élevée pourrait également favoriser l'implantation du microbiote et donc optimiser l'effet thérapeutique escompté. Malgré un échec en termes de taux de rémission chez les patients traités, cette étude montre que la TMF peut être une alternative intéressante aux médicaments dans le cadre de la maladie de Crohn. Il serait cependant prudent d'attendre de nouvelles études regroupant un effectif de patients plus nombreux pour confirmer cette tendance(215).

Etudes	Donneur	Préparation avant TMF	Posologie	Voie d'administration	Microbiote	Rémission
RCH 2015 (211)	2 donneurs , Chaque transplant vient d'un seul donneur.	Aucune préparation.	1x/semaine ; 6 semaines de traitement.	Intra-rectale.	Diversité microbienne ↑ pour tous les patients traités par TMF.	7 semaines après l'initiation du traitement 24% des patients TMF sont en rémission VS 5% des patients placebos. 1 an après l'initiation du traitement, 21% des patients sont en rémission.
RCH 2015 (2012)	13 donneurs, Chaque transplant vient d'un seul donneur.	2 lavements : la veille du traitement et le matin du traitement.	2 TMF espacées de trois semaines.	Sonde nasogastrique jusqu'au duodénum.	Changement microbiote pour certains patients TMF. Corrélation entre changement microbiote et rémission.	12 semaines après l'initiation du traitement pas de différence entre les patients TMF et les patients placebos.
RCH 2017 (213)	14 donneurs, Chaque transplant résulte d'un pool de fèces de ces donneurs.	Aucune préparation.	1 TMF/j ; 5j/7 ; Pendant 8 semaines.	1 TMF par coloscopie dans l'iléon ou la caecum. Le reste des TMF : auto-administration par lavement.	Diversité microbienne ↑ pour tous les patients traités par TMF à 4 et 8 semaines après l'initiation du traitement.	8 semaines après l'initiation du traitement 44% des patients TMF sont en rémission VS 20% des patients placebos.
RCH 2019 (214)	19 donneurs, Chaque transplant résulte d'un pool de fèces 3 à 4 de ces donneurs.	1 lavement, et du lopéramide avant TMF.	3 TMF sur 7j de traitement.	Coloscopie dans côlon droit.	Diversité microbienne ↑ chez les patients traités par TMF par rapport aux patients placebos, à 4 et 8 semaines après l'initiation du traitement.	8 semaines après l'initiation du traitement 32% des patients TMF sont en rémission VS 9% des patients placebo.
MC 2020 (215)	5 donneurs, Chaque transplant vient d'un seul donneur.	1 lavement.	1 TMF.	Coloscopie dans la caecum.	Jusqu'à 10 semaines Augmentation transitoire de la diversité microbienne chez les patients TMF. A 14 semaines après initiation du traitement pas de différence de diversité entre les deux groupes.	10 semaines après l'initiation du traitement, pas de différence entre les patients TMF et les patients placebos.

Tableau XI. Résumé des protocoles cliniques utilisés dans les études sur la TMF dans les MICI.

Malgré la variabilité des protocoles utilisés et des résultats obtenus, les essais cliniques évoqués confirment l'intérêt que pourrait apporter la TMF dans la prise en charge des patients atteints de MICI. L'innocuité de la TMF, qui a été démontrée dans ces études, est un point également important dans la mise en place d'une indication thérapeutique potentielle dans les MICI. L'analyse de ces études permet également de tirer des éléments d'amélioration des protocoles pour des nouveaux essais cliniques. Ainsi, il serait judicieux, de privilégier un protocole de TMF itérative et rapprochée dans le temps et de délivrer le microbiote fécal dans la zone colorectale pour améliorer les chances de son implantation. En ce qui concerne les analyses de microbiote, il serait intéressant de passer sur des analyses de WGS. Le séquençage de tous les ADN des microorganismes permettrait de faire un screening de compatibilité entre donneur et receveur plus précis. Surtout qu'il a été démontré dans une étude récente de 2019, que le règne des fungi pouvait avoir une importance capitale dans l'implantation du microbiote du donneur au cours de la TMF. Cette étude utilise les données des patients intégrés dans l'essai clinique sur la RCH de 2017. L'étude conclut sur l'importance de la présence de *Candida* dans le microbiote des receveurs. Cela permettrait une meilleure implantation du microbiote du donneur et donc une meilleure réponse thérapeutique. Des études comprenant des effectifs de patients plus élevés et des analyses de microbiote en génome complet permettraient une meilleure compréhension de l'efficacité de la TMF sur les MICI.

Au vu du potentiel thérapeutique de la TMF dans les MICI, mais également au regard des analogies que partagent les MICI et la PRD, la TMF pourrait être utilisée en traitement curatif dans la PRD.

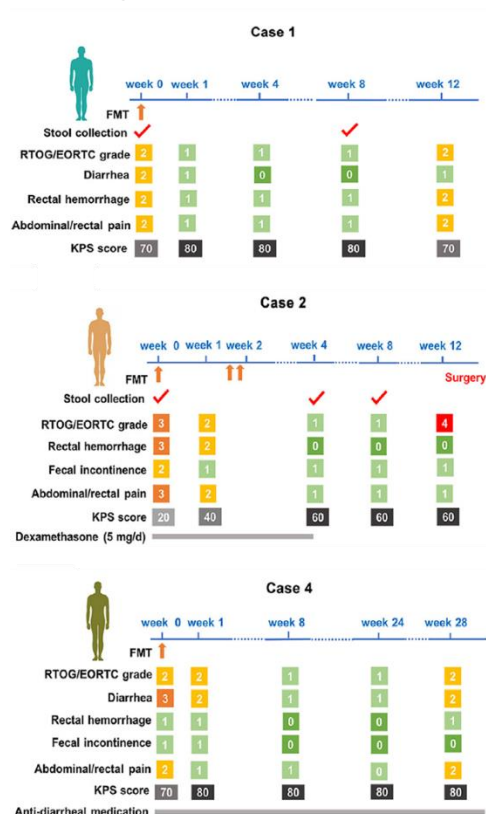
B. La TMF perspective de traitement dans la PRD

1. Curatif

Une étude clinique utilisant la TMF en traitement curatif chez des patientes souffrant de PRD a été réalisée en 2020. Cette étude réunit cinq patientes qui ont bénéficié d'une radiothérapie pour des cancers gynécologiques et qui ont développé une PRD par la suite. Une, deux ou trois TMF selon les cas, issues pour chaque patiente de donneurs différents, leur ont été délivrées par sonde nasojéjunale. Le temps médian entre la fin de la radiothérapie et l'enrôlement dans l'essai clinique est de 21 mois. Les résultats de cette étude relatent que la durée entre le diagnostic de la PRD et l'administration de la TMF n'influence pas sur l'efficacité thérapeutique de cette dernière. La posologie ne semble pas non plus jouer un rôle dans l'efficacité des TMF. Deux points semblent être déterminants, l'âge des patientes et la sévérité du grade clinique de la pathologie. Chez trois patientes sur cinq la TMF a permis de diminuer d'au moins un grade la sévérité de leur PRD (Figure 18.). Concernant les deux patientes chez qui la TMF n'a pas eu d'effet, ce sont les deux doyennes de cette étude clinique. Parmi ces deux femmes l'une d'entre elles présentait le degré de sévérité de PRD le plus élevé des cinq patientes incluses dans l'étude. Le transplant a pu avoir eu du mal à s'implanter puisque les donneurs recrutés ont entre 18 et 24 ans. Le microbiote présente une évolution au cours du temps. En conséquence des donneurs jeunes ne sont peut-être pas compatibles à des receveurs ayant un âge avancé. Cependant, la patiente au grade le plus sévère souffrait en plus d'une encéphalopathie hépatique avec un score de Child-pugh de 9, contre-indiquant ainsi toute chirurgie abdominale. Seulement, la patiente présentait une fistule vésico-sigmoïdienne nécessitant une intervention chirurgicale. Bien que la TMF n'ait pas eu d'effet concluant sur les symptômes abdominaux radio-induits, elle a permis à la patiente de survivre à l'intervention chirurgicale et à diminuer son score Child-pugh à 6 (Figure 18.). Le peu d'effectif de patientes incluses dans cette étude ne permet pas de conclure sur d'éventuelles raisons qui ont conduit à un échec de réponse thérapeutique de la FMT chez ces deux patientes. Malgré tout, cette étude donne une tendance de l'action de la TMF chez des patients qui souffrent de PRD. Il serait intéressant comme cela a été suggéré pour les MICI, d'effectuer des études cliniques randomisées incluant un effectif de patient important ainsi qu'un groupe de patient placebo, pour avoir une idée du champ d'action de la TMF dans la PRD.

Bien qu'il ait eu une amélioration chez les patientes répondeuses au traitement, ce dernier n'a pas permis de guérir les patientes de la PRD. Il est nécessaire de prendre cette observation en compte pour les prochaines études, et ainsi, comme il a été vu pour les MICI, essayer des protocoles thérapeutiques intégrant un nombre de TMF plus élevé et rapproché dans le temps(216).

A. Répondeur



B. Non répondeur



Figure 21. Schéma représentant l'évolution clinique de chaque patiente (216).

En conclusion comme pour les MICI, la TMF semble avoir un potentiel thérapeutique intéressant dans la PRD dans un contexte curatif. Cependant, bien que la découverte d'un traitement curatif soit une aubaine, elle ne concerne qu'une partie des patients, ceux ayant déjà développé une PRD. Bien que les essais cliniques semblent concluants, le développement d'un traitement curatif de la PRD est un véritable challenge thérapeutique.

Une stratégie préventive à savoir une régulation personnalisée du microbiote par TMF, par administration de probiotiques(217) ou encore par modification du régime alimentaire avant la radiothérapie pourrait présenter des avantages pour le patient et pour les soignants. En effet, pendant le traitement par radiothérapie, les patients peuvent développer des effets secondaires non négligeables pouvant altérer leur quotidien. En prévenant, ou diminuant ces manifestations radio-induites, le patient fait face à deux bénéfices. Le premier est que sa qualité de vie ne diminue pas, ou du moins diminue peu, au cours de la radiothérapie. Le deuxième découle du premier et est la réponse du patient au traitement. L'impact psychologique des patients au cours d'un traitement peut avoir un retentissement sur l'efficacité de ce dernier. Ainsi, en améliorant la qualité de vie des patients au cours d'une radiothérapie, il est possible que cela puisse augmenter la réponse du patient à cette dernière. En conséquence, le patient aura suivi un traitement avec un impact moindre sur sa vie quotidienne, et de meilleures chances de réussite thérapeutique. Dans le cas où les effets radio-induits chroniques découlent de l'effet conséquentiel de l'irradiation, la prévention des effets aigus amènerait à celle des effets chroniques. Les patients auraient, dans ce cas, moins de risques de développer des effets radio-induits tardifs. De plus, dans les séquelles intestinales radio-induites, les lésions peuvent être sévères. Jusqu'à aujourd'hui encore, aucun traitement ne s'est révélé assez efficace pour obtenir une réparation complète des tissus. L'avantage d'un traitement préventif est qu'en évitant l'apparition de lésions aussi sévères le challenge thérapeutique curatif (s'il est nécessaire malgré tout) serait moins élevé. Aussi, dans le cadre de la PRD, l'élément à l'origine de la pathologie est connu. Ainsi, il paraît plus simple de déterminer le temps d'intervention pour administrer un traitement préventif. En conclusion, au vu du potentiel préventif que peut apporter la TMF dans ces pathologies, il est essentiel de l'exploiter pour une application médicale.

2.Préventif

En condition expérimentale, des effets bénéfiques de la TMF en préventif (avant irradiation ou le jour de l'irradiation) sont observés sur les lésions radio-induites. Deux études expérimentales miment les atteintes intestinales présentes chez des patients ayant bénéficiés d'irradiation corporelle totale (ICT) en vue d'une greffe de moelle osseuse(218,219). L'ICT n'atteint pas seulement le microbiote mais également toute la lign e des cellules immunitaires. Le but de l'ICT en clinique est de préparer les patients à des greffes pour éviter les risques de rejet en plus de supprimer les substituts de cellules cancéreuses. Au vu du lien étroit qu'entretient le microbiote intestinal avec le système immunitaire, la transplantation d'un microbiote issu de donneur sain ou de donneur qui ont survécu à une ICT, après l'éradication du système immunitaire chez les receveurs peut engendrer une éventuelle génération de cellules immunitaires permettant une relation saine entre ce microbiote transplanté et l'hôte. De même que la transplantation chez les animaux axéniques, celle effectuée sur des souris dont le système immunitaire a été fortement diminué, améliore sans doute l'implantation de la greffe et son action sur le système immunitaire et le tissu. En conséquence, bien qu'elles apportent des éléments de réponse et de réflexion pertinents pour les études sur les lésions radio-induites elles ne sont pas applicables totalement aux modèles de PRD. Néanmoins, dans le modèle murin, l'ICT provoque un syndrôme aigu d'irradiation (SAI) qui engendre, des lésions intestinales radio-induites. Ce modèle permet donc de donner une idée sur le potentiel de réparation que peut avoir la TMF sur l'intestin exposé à l'irradiation. Cependant, le SAI entraîne également des conséquences multi-organes, comme notamment, des atteintes h matopo i tiques. Ainsi, le SAI est une urgence médicale engageant le pronostic vital du patient. La première étude expérimentale, de 2017, démontre que dans un contexte d'atteintes sévères multi-organes, la TMF a un effet thérapeutique en permettant la survie des animaux associé à une réduction des atteintes tissulaires notamment celles de l'intestin (score lésionnel intestinal réduit). Il s'agit ici d'une preuve de principe quant à la capacité de la TMF   réduire la toxicité radio-induite(216).

Une autre étude de 2020, a isolé les animaux qui survivaient à une ICT malgré l'absence de traitement. Le microbiote de ces animaux nommés « elite survivors » a été comparé à celui

des animaux qui n'ont pas survécu à l'irradiation. Les familles des *Lachnospiraceae* et des *Enterococcus* ont été trouvées augmentées chez les animaux « elite survivors » par rapport aux animaux qui ont développé un SAI. Cette observation est intéressante puisque le parallèle peut être fait avec la diminution des *Lachnospiraceae* chez les patients MICI et des certains genres des *Lachnospiraceae* dans la PRD. Les résultats de ces deux études montrent l'importance du microbiote mais aussi l'efficacité que peut avoir une transplantation du microbiote complet dans le cadre des lésions gastro-intestinales induites par une ICT. De plus, ces études soulignent une nouvelle fois, l'importance du choix des donneurs. Dans le cadre des études cliniques, MICI et PRD, mais également dans celui des études expérimentales, cette problématique revient constamment après TMF. Il semble alors que ce soit un point à ne pas négliger dans les futures recherches concernant l'utilisation de la TMF dans un but thérapeutique. Pour se faire, il est essentiel de s'aider des publications concernant des pathologies proches de celle étudiée. Par, exemple pour la PRD, il est avantageux de regarder ce qui a été fait dans les MICI, tant au niveau clinique qu'expérimentale, pour pouvoir avancer plus rapidement. L'inverse est également vrai, bien que la PRD soit tout de même moins documentée que les MICI. En ce qui concerne la TMF dans la PRD, aucune étude expérimentale à ce jour n'a été effectuée pour démontrer si ce traitement pouvait être efficace. C'est la raison pour laquelle au laboratoire LRMed à l'IRSN, un projet sous le format d'une thèse, a été lancé sur l'efficacité de la TMF sur les lésions radio-induites du côlon.

Une différence notoire cependant, peut être relevée entre MICI et PRD. La PRD se développe à la suite d'une radiothérapie intégrée dans un protocole anti-tumorale. L'utilisation du microbiote en traitement préventif devrait alors se faire dans un contexte de cancer abdomino-pelvien ou le microbiote évolue dans un environnement bien particulier.

IV. Microbiote et cancers

A. Un outil thérapeutique

Le lien entre microbiote et cancer est un sujet suscitant beaucoup d'intérêt ces dernières années, notamment en termes d'efficacité des protocoles anti-tumoraux. En effet, en fonction du microbiote et/ou de la présence ou pas de certaines espèces bactériennes le traitement anti-tumoral peut avoir une efficacité plus ou moins importante. Alors que des mécanismes impliquant certaines espèces de micro-organismes dans la réussite d'un traitement anticancéreux par chimiothérapie et immunothérapie ont été mis en évidence, l'engagement du microbiote dans l'efficacité de la radiothérapie reste à démontrer(220,221). Cependant une étude récente démontre que la diversité microbienne est un élément qui semble être important dans la survie au long terme de patientes qui ont bénéficié d'une combinaison chimio-radiothérapie pour des cancers du col de l'utérus(222). Le microbiote intestinal apparaît donc comme un élément essentiel à prendre en compte dans les protocoles anti-tumoraux. Aussi, dans le but de toujours améliorer la survie des patients dans les cancers, il est important d'identifier la composition du microbiote étant le plus adapté à la réussite du traitement pour chaque protocole utilisé. Cela ouvrirait la porte à des stratégies de prise en charge des patients plus adaptées. Il serait alors possible d'aménager les traitements en fonction du microbiote du patient. Mais également, de modifier le microbiote du patient pour obtenir une composition microbienne favorable à une réussite thérapeutique avant l'initiation du traitement. De plus, de manière indirecte la modulation du microbiote avant ou pendant le protocole anti-tumoral pourrait améliorer la réponse thérapeutique des patients. En effet, par une action protectrice envers la toxicité d'un traitement, certains micro-organismes pourraient permettre d'éviter l'apparition d'effets secondaires. Par exemple, expérimentalement, l'augmentation du taux de butyrate chez des animaux recevant de l'irinotécan, molécule utilisée dans des protocoles thérapeutiques pour le cancer du côlon, présentaient moins d'inflammation de la muqueuse caus e par cette molécule(223).  galement dans le contexte de radiothérapie pelvienne, l'administration de probiotiques a permis de diminuer la fréquence des diarrhées radio-induites chez les patients traités(217,224). Comme il a été dit précédemment en améliorant la qualité de vie des patients au cours de leur traitement anti-tumoral, les chances d'avoir une réponse positive au

traitement sont plus grandes.

B. Un outil de diagnostic

Dans un objectif préventif, le microbiote pourrait être utilisé comme biomarqueur au développement de certains cancers et notamment des cancers abdomino-pelviens. Certaines espèces microbiennes spécifiques ont été identifiées comme étant en plus grande quantité chez les patients souffrant de cancers abdomino-pelviens (cancer de la prostate, du col de l'utérus et colorectaux). De plus, la diversité microbienne se trouve diminuée chez ces mêmes patients. Afin de prévenir l'apparition de cancer mais également dans un but de diagnostic précoce, la composition microbienne des patients à risque pour les cancers pelviens pourrait être analys e en routine, tous les deux ans par exemple, en même temps que la détection de l'antigène prostatique spécifique.(225–227).

Le microbiote intestinal suscite énormément d'intérêt dans le milieu médical ces dernières années. Pour cause, il est au cœur du fonctionnement de notre organisme. Ainsi, dans des situations pathologiques, il parait être une alternative thérapeutique intéressante. De par ses actions multifactorielles et le peu d'effets indésirables qu'engendrent jusqu'ici les traitements par microbiote (probiotiques et TMF) testés en cliniques, il apparait comme un traitement d'intérêt. Au-delà de son application thérapeutique, le microbiote pourrait être utilisé également comme un outil de diagnostic. Cependant, des recherches sont encore nécessaires pour augmenter les connaissances dans le domaine de la microbiologie médicale et pouvoir l'utiliser à bon escient.

Conclusion

Au vu de l'importance qu'a le microbiote intestinal au sein de l'organisme humain d'un point de vue nutritionnel, structurel et inflammatoire, l'utiliser pour pallier aux pathologies liées aux organes des intestins apparaît comme une solution pertinente. Dans les MICI comme dans la PRD, aucun traitement permettant la rémission totale n'est disponible pour les patients. Ces maladies sont handicapantes quotidiennement. Les patients souffrent sur le point psychologique et physique. C'est la raison pour laquelle la recherche de traitement curatif est indispensable. L'espoir que suscitent les modifications du microbiote comme traitement dans ces pathologies semble justifié. Les essais cliniques dans le cadre des MICI et de la PRD sont encourageants. Cependant, les connaissances quant à la bonne utilisation du microbiote doivent être élargies notamment dans les protocoles pour une application thérapeutique. L'analyse du microbiote avant administration doit être stricte, afin d'éviter tout risque de transmettre une pathologie véhiculée par le transplant. D'après les études cliniques effectuées dans les MICI et la PRD, il semble que le changement de microbiote soit primordial pour que la TMF soit efficace. Le microbiote du donneur a plus de chance de s'implanter s'il est administré man re fréquente et répétée.

Le microbiote a montré des effets concrets, il est néanmoins essentiel de trouver un protocole optimisé pour gagner en efficacité et éviter toute action pro-tumorale. La thérapie par le microbiote peut être envisagée seule dans certaines indications mais également en co-traitement pour potentialiser l'efficacité clinique d'un autre traitement. Ainsi de nombreuses pathologies pourraient voir intégrer un traitement par microbiote dans leur stratégie thérapeutique. Cela a été vu précédemment comme une alternative intéressante dans le cancer, mais cela peut l'être également avec les thérapies qui existent aujourd'hui pour les MICI et la PRD

Quand des pathologies se ressemblent beaucoup comme les MICI et la PRD, toutes nouvelles informations concernant une de ces pathologies sur l'avancée de recherche de traitement peut potentiellement être prises en compte pour être appliquée aux deux autres pathologies.

Perspectives

Les recherches sur l'effet de la TMF dans le cadre de la PRD sont peu nombreuses. Il est important d'incrémenter les données en expérimental pour confirmer le potentiel de ce traitement en clinique. Ainsi, dans le cadre de mon projet de thèse à l'IRSN, l'effet de la TMF sur des lésions coliques radio-induites est testé. Les protocoles d'irradiation sélectionnés comprennent deux doses d'irradiation totales de 30Gy (délivré en trois fractions de 10Gy tous les deux jours) et 42Gy (délivré en trois fractions de 14Gy tous les deux jours). C'est la première fois au laboratoire LRMed, que des protocoles d'irradiations fractionnées sont effectués. L'intérêt d'appliquer un protocole fractionné dans ce modèle expérimental est de se rapprocher des protocoles utilisés en clinique. Cependant les doses par fraction restent importantes car les modèles murins ont des capacités de réparation plus importantes que l'Homme, leurs tissus régénèrent donc plus vite entre deux fractions. Pour obtenir des lésions proches de celle retrouvées chez les patients PRD, il est donc nécessaire d'utiliser de telles doses d'irradiation. Dans un premier temps, une caractérisation des modèles d'irradiation et d'inflammation à trois temps (J15, J28 et J56) s'est effectuée après irradiation afin de valider les protocoles sélectionnés. Pour déterminer le processus inflammatoire enclenché à la suite de l'irradiation la recherche de la présence de populations de cellules immunitaires spécifiques (neutrophiles, macrophages et mastocytes) a été effectuée.

La littérature, effectuée dans le cadre des lésions intestinales montre une apparition d'une dysbiose après irradiation. Cependant en fonction du protocole d'irradiation utilisé cette dernière n'arrive pas au même moment. Dans ce projet de thèse, le premier point à élucider est donc d'identifier la dynamique d'apparition de la dysbiose après irradiation dans les deux protocoles sélectionnés. Pour se faire, des fèces ont été récupérées à huit temps après irradiation et analysées en génome complet (en collaboration avec MetaGenoPolis de l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE)) pour obtenir une vision précise et globale des changements qui s'opèrent dans toutes les communautés microbiennes. S'incrémentent à ces données de génome complet microbien, ceux des métabolites fécaux microbiens (par analyse métabolomique en collaboration avec Criblage Biologique Marseille (Cribiom))) issus des fèces des mêmes animaux prélevés aux mêmes temps (plusieurs fèces par animaux ont été prélevées à chacun des différents temps d'études).

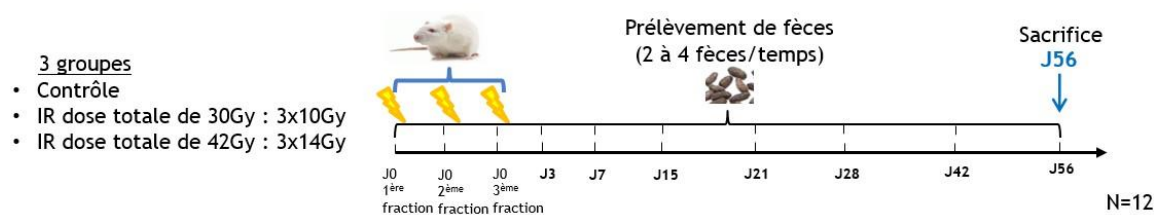


Figure 22. Schéma du protocole expérimental concernant la dynamique d'apparition de la dysbiose.

La dynamique d'installation de la dysbiose est essentielle pour avoir un temps de traitement, aussi bien préventif que curatif. Dans un objectif préventif, le but sera d'éviter l'apparition de cette dysbiose et de regarder si cela permet d'éviter l'installation de lésions sévères et modérées dans le temps. Tandis que l'objectif curatif sera de rétablir un état d'eubiose du microbiote après installation de cette dysbiose dans l'intention de voir si cela amène à une réparation des tissus au long terme. Pour réaliser ces objectifs de traitements préventif et curatif, il est primordial d'établir le protocole d'administration de TMF le plus optimal possible. L'appui de ce qui a été fait dans la littérature dans le cadre des MICI et de la PRD, en clinique comme en expérimental, est donc essentiel pour prendre du recul sur le protocole le plus efficace.

Cette thèse a pour but de déterminer le potentiel thérapeutique de la TMF sur un modèle expérimental de PRD. Les résultats concernant le traitement par TMF *in vivo* amèneront à la conclusion de l'effet de la TMF dans un modèle expérimental de PRD mais également permettront d'identifier un ou des mécanismes d'action à l'origine des effets si ces derniers sont positifs. Cette étude s'inscrit dans le contexte clinique d'une pathologie pour laquelle aucun traitement autre que symptomatique n'est disponible.

Bibliographie

1. Gerbe F, Sidot E, Smyth DJ, Ohmoto M, Matsumoto I, Dardalhon V, et al. Intestinal epithelial tuft cells initiate type 2 mucosal immunity to helminth parasites. *Nature*. janv 2016;529(7585):226-30.
2. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*. juin 2016;17(6):333-51.
3. Ranjan R, Rani A, Metwally A, McGee HS, Perkins DL. Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 22 janv 2016;469(4):967-77.
4. Microbiote intestinale (flore intestinale) | Inserm - La science pour la santé [Internet]. [cité 8 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinale-flore-intestinale>
5. Ciccarelli FD, Doerks T, Mering C von, Creevey CJ, Snel B, Bork P. Toward Automatic Reconstruction of a Highly Resolved Tree of Life. *Science*. 3 mars 2006;311(5765):1283-7.
6. Gordon HA, Bruckner-Kardoss E, Staley TE, Wagner M, Wostmann BS. CHARACTERISTICS OF THE GERMFREE RAT. *CTO*. 1966;64(1-3):367-89.
7. Michel Fons TK Ana Gomez. Mechanisms of Colonisation and Colonisation Resistance of the Digestive Tract Part 2: Bacteria/Bacteria Interactions. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 1 janv 2000;12(2):240-6.
8. Dobson A, Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocin Production: a Probiotic Trait? *Appl Environ Microbiol*. 1 janv 2012;78(1):1-6.
9. Roblin C, Chiumento S, Bornet O, Nouailler M, Müller CS, Jeannot K, et al. The unusual structure of Ruminococcin C1 antimicrobial peptide confers clinical properties. *PNAS*. 11 août 2020;117(32):19168-77.
10. Winston JA, Theriot CM. Impact of microbial derived secondary bile acids on colonization resistance against *Clostridium difficile* in the gastrointestinal tract. *Anaerobe*. oct 2016;41:44-50.
11. Wrzosek L, Miquel S, Noordine M-L, Bouet S, Chevalier-Curt MJ, Robert V, et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biology*. 21 mai 2013;11(1):61.
12. Kumar M, Kissoon-Singh V, Coria AL, Moreau F, Chadee K. Probiotic mixture VSL#3 reduces colonic inflammation and improves intestinal barrier function in *Muc2* mucin-deficient mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 17 nov 2016;312(1):G34-45.
13. Kozakova H, Schwarzer M, Tuckova L, Srutkova D, Czarnowska E, Rosiak I, et al. Colonization

of germ-free mice with a mixture of three lactobacillus strains enhances the integrity of gut mucosa and ameliorates allergic sensitization. *Cell Mol Immunol.* mars 2016;13(2):251-62.

14. Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *J Nutr.* 1 mai 2011;141(5):769-76.
15. Nowacki MR. Cell proliferation in colonic crypts of germ-free and conventional mice--preliminary report. *Folia Histochem Cytobiol.* 1993;31(2):77-81.
16. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell.* 16 mars 2012;148(6):1258-70.
17. Reichardt N, Duncan SH, Young P, Belenguer A, McWilliam Leitch C, Scott KP, et al. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. *The ISME Journal.* juin 2014;8(6):1323-35.
18. Pryde SE, Duncan SH, Hold GL, Stewart CS, Flint HJ. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett.* 1 d c 2002;217(2):133-9.
19. Zhao Z-H, Xin F-Z, Xue Y, Hu Z, Han Y, Ma F, et al. Indole-3-propionic acid inhibits gut dysbiosis and endotoxin leakage to attenuate steatohepatitis in rats. *Experimental & Molecular Medicine.* sept 2019;51(9):1-14.
20. Gentile CL, Weir TL. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. *Science.* 16 nov 2018;362(6416):776-80.
21. Rajili -Stojanovi  M. Function of the microbiota. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 1 f vr 2013;27(1):5-16.
22. Chambers ES, Viardot A, Psichas A, Morrison DJ, Murphy KG, Zac-Varghese SEK, et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut.* 1 nov 2015;64(11):1744-54.
23. Bernalier-Donadille A. Fermentative metabolism by the human gut microbiota. *Gastroent rologie Clinique et Biologique.* 1 sept 2010;34:S16-22.
24. Wallace JL, Motta J-P, Buret AG. Hydrogen sulfide: an agent of stability at the microbiome-mucosa interface. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 01 2018;314(2):G143-9.
25. Ghoshal U, Shukla R, Srivastava D, Ghoshal UC. Irritable Bowel Syndrome, Particularly the Constipation-Predominant Form, Involves an Increase in Methanobrevibacter smithii, Which Is Associated with Higher Methane Production. *Gut Liver.* nov 2016;10(6):932-8.
26. Gao X, Lin S-H, Ren F, Li J-T, Chen J-J, Yao C-B, et al. Acetate functions as an epigenetic metabolite to promote lipid synthesis under hypoxia. *Nat Commun [Internet].* 30 juin 2016 [cité 17 f vr 2021];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4931325/>
27. Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* avr 2015;12(4):205-17.

28. Torres J, Mehandru S, Colombel J-F, Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *The Lancet*. 29 avr 2017;389(10080):1741-55.
29. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 1 nov 2012;491(7422):119-24.
30. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 1 mai 2011;140(6):1785-1794.e4.
31. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*. 23 déc 2017;390(10114):2769-78.
32. Weiser M, Simon JM, Kochar B, Tovar A, Israel JW, Robinson A, et al. Molecular classification of Crohn's disease reveals two clinically relevant subtypes. *Gut*. 2018;67(1):36-42.
33. Fumery M, Singh S, Dulai PS, Gower-Rousseau C, Peyrin-Biroulet L, Sandborn WJ. Natural History of Adult Ulcerative Colitis in Population-based Cohorts: A Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. mars 2018;16(3):343-356.e3.
34. ALD n° 24 - Maladie de Crohn [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 9 mai 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_671094/fr/ald-n-24-maladie-de-crohn
35. Koutroubakis IE, Vlachonikolis IG. Appendectomy and the development of ulcerative colitis: results of a metaanalysis of published case-control studies. *The American Journal of Gastroenterology*. 1 janv 2000;95(1):171-6.
36. Cornish JA, Tan E, Simillis C, Clark SK, Teare J, Tekkis PP. The risk of oral contraceptives in the etiology of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. sept 2008;103(9):2394-400.
37. Khalili H, Higuchi LM, Ananthakrishnan AN, Manson JE, Feskanich D, Richter JM, et al. Hormone therapy increases risk of ulcerative colitis but not Crohn's disease. *Gastroenterology*. nov 2012;143(5):1199-206.
38. Khalili H, Higuchi LM, Ananthakrishnan AN, Richter JM, Feskanich D, Fuchs CS, et al. Oral contraceptives, reproductive factors and risk of inflammatory bowel disease. *Gut*. août 2013;62(8):1153-9.
39. Ananthakrishnan AN, Higuchi LM, Huang ES, Khalili H, Richter JM, Fuchs CS, et al. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Ann Intern Med*. 6 mars 2012;156(5):350-9.
40. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. déc 2010;105(12):2687-92.
41. Virta L, Auvinen A, Helenius H, Huovinen P, Kolho K-L. Association of repeated exposure to antibiotics with the development of pediatric Crohn's disease--a nationwide, register-based finnish case-control study. *Am J Epidemiol*. 15 avr 2012;175(8):775-84.

42. Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, Kashani A, Allin KH, Nielsen T, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. *Nature Microbiology*. nov 2018;3(11):1255-65.
43. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics*. oct 2012;130(4):e794-803.
44. Ho NT, Li F, Lee-Sarwar KA, Tun HM, Brown BP, Pannaraj PS, et al. Meta-analysis of effects of exclusive breastfeeding on infant gut microbiota across populations. *Nature Communications*. 9 oct 2018;9(1):4169.
45. Huurre A, Kalliom ki M, Rautava S, Rinne M, Salminen S, Isolauri E. Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity. *NEO*. 2008;93(4):236-40.
46. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut*. 1 avr 2014;63(4):559-66.
47. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, Higuchi LM, de Silva P, Korzenik JR, et al. A prospective study of long-term intake of dietary fiber and risk of Crohn’s disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology*. nov 2013;145(5):970-7.
48. Amre DK, D’Souza S, Morgan K, Seidman G, Lambrette P, Grimard G, et al. Imbalances in dietary consumption of fatty acids, vegetables, and fruits are associated with risk for Crohn’s disease in children. *Am J Gastroenterol*. sept 2007;102(9):2016-25.
49. Galvez J, Rodríguez-Cabezas ME, Zarzuelo A. Effects of dietary fiber on inflammatory bowel disease. *Mol Nutr Food Res*. juin 2005;49(6):601-8.
50. Chapman-Kiddell CA, Davies PSW, Gillen L, Radford-Smith GL. Role of diet in the development of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. janv 2010;16(1):137-51.
51. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, Higuchi LM, de Silva P, Fuchs CS, et al. Long-term Intake of Dietary Fat and Risk of Ulcerative Colitis and Crohn’s Disease. *Gut*. mai 2014;63(5):776-84.
52. Bernstein CN, Singh S, Graff LA, Walker JR, Miller N, Cheang M. A prospective population-based study of triggers of symptomatic flares in IBD. *Am J Gastroenterol*. sept 2010;105(9):1994-2002.
53. Bonaz BL, Bernstein CN. Brain-Gut Interactions in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 1 janv 2013;144(1):36-49.
54. Les cancers en chiffre [Internet]. Disponible sur: <https://www.frm.org/recherches-cancers/cancers-en-chiffres>
55. Morris KA, Haboubi NY. Pelvic radiation therapy: Between delight and disaster. *World J Gastrointest Surg*. 27 nov 2015;7(11):279-88.

56. Zimmerer T, Böcker U, Wenz F, Singer MV. Medical Prevention and Treatment of Acute and Chronic Radiation Induced Enteritis - Is there any Proven Therapy? A short Review. *Z Gastroenterol.* mai 2008;46(5):441-8.
57. La Radiothérapie [Internet]. Disponible sur: <https://www.cancer.be/les-cancers/traitements/radioth-rapeie>
58. De Ruyscher D, Niedermann G, Burnet NG, Siva S, Lee AWM, Hegi-Johnson F. Radiotherapy toxicity. *Nature Reviews Disease Primers.* 21 févr 2019;5(1):1-20.
59. Azzam EI, Jay-Gerin J-P, Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett.* 31 déc 2012;327(1-2):48-60.
60. TYPES DE FRACTIONNEMENTS / FRACTIONNEMENT EN RADIOTHERAPIE | RADIOTHERAPIE [Internet]. [cité 9 mai 2021]. Disponible sur: <https://radiotherapie.webador.com/fractionnement-en-radiotherapie/types-de-fractionnements>
61. Bryant AK, Banegas MP, Martinez ME, Mell LK, Murphy JD. Trends in Radiation Therapy among Cancer Survivors in the United States, 2000–2030. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1 juin 2017;26(6):963-70.
62. Hauer-Jensen M, Denham JW, Andreyev HJN. Radiation enteropathy—pathogenesis, treatment and prevention. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* août 2014;11(8):470-9.
63. Andreyev HJN. Gastrointestinal problems after pelvic radiotherapy: the past, the present and the future. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* déc 2007;19(10):790-9.
64. Dörr W, Hendry JH. Consequential late effects in normal tissues. *Radiotherapy and Oncology.* 1 déc 2001;61(3):223-31.
65. Andreyev HJN, Wotherspoon A, Denham JW, Hauer-Jensen M. Defining pelvic-radiation disease for the survivorship era. *Lancet Oncol.* avr 2010;11(4):310-2.
66. Andreyev J. Gastrointestinal symptoms after pelvic radiotherapy: a new understanding to improve management of symptomatic patients. *The Lancet Oncology.* 1 nov 2007;8(11):1007-17.
67. Andreyev HJN, Benton BE, Lalji A, Norton C, Mohammed K, Gage H, et al. Algorithm-based management of patients with gastrointestinal symptoms in patients after pelvic radiation treatment (ORBIT): a randomised controlled trial. *The Lancet.* 21 déc 2013;382(9910):2084-92.
68. Kizer NT, Thaker PH, Gao F, Zigelboim I, Powell MA, Rader JS, et al. The effects of body mass index on complications and survival outcomes in patients with cervical carcinoma undergoing curative chemoradiation therapy. *Cancer.* 2011;117(5):948-56.
69. Yeung AR, Pugh SL, Klopp AH, Gil KM, Wenzel L, Westin SN, et al. Improvement in Patient-Reported Outcomes With Intensity-Modulated Radiotherapy (RT) Compared With Standard RT: A Report From the NRG Oncology RTOG 1203 Study. *JCO.* 19 févr 2020;38(15):1685-92.

70. Herold DM, Hanlon AL, Hanks GE. Diabetes mellitus: a predictor for late radiation morbidity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1 févr 1999;43(3):475-9.
71. Loiudice T, Baxter D, Balint J. Effects of Abdominal Surgery on the Development of Radiation Enteropathy. *Gastroenterology*. 1 nov 1977;73(5):1093-7.
72. Syndikus I, Morgan RC, Sydes MR, Graham JD, Dearnaley DP. Late Gastrointestinal Toxicity After Dose-Escalated Conformal Radiotherapy for Early Prostate Cancer: Results From the UK Medical Research Council RT01 Trial (ISRCTN47772397). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1 juill 2010;77(3-2):773-83.
73. Magro F, Rodrigues A, Vieira AI, Portela F, Cremers I, Cotter J, et al. Review of the Disease Course Among Adult Ulcerative Colitis Population-based Longitudinal Cohorts. *Inflamm Bowel Dis*. 1 mars 2012;18(3):573-83.
74. Feuerstein JD, Isaacs KL, Schneider Y, Siddique SM, Falck-Ytter Y, Singh S, et al. AGA Clinical Practice Guidelines on the Management of Moderate to Severe Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. 1 avr 2020;158(5):1450-61.
75. Yamamoto T. Factors affecting recurrence after surgery for Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 14 juill 2005;11(26):3971-9.
76. Fuccio L, Frazzoni L, Guido A. Prevention of pelvic radiation disease. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 6 févr 2015;6(1):1-9.
77. Toll AD, Palazzo JP. Diffuse colitis cystica profunda in a patient with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 1 oct 2009;15(10):1454-5.
78. Saul SH, Wong LK, Zinsser KR. Enteritis cystica profunda: Association with Crohn's disease. *Human Pathology*. 1 juin 1986;17(6):600-3.
79. Gecse KB, Vermeire S. Differential diagnosis of inflammatory bowel disease: imitations and complications. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3(9):644-53.
80. Yu YR, Rodriguez JR. Clinical presentation of Crohn's, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: Symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes. *Seminars in Pediatric Surgery*. 1 déc 2017;26(6):349-55.
81. Chang MD, Liu X. Chapter 5 - Overview of Histopathology of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. In: Shen B, éditeur. *Interventional Inflammatory Bowel Disease: Endoscopic Management and Treatment of Complications* [Internet]. Academic Press; 2018 [cité 11 mai 2021]. p. 49-68. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128113882000051>
82. Magro F, Langner C, Driessen A, Ensari A, Geboes K, Mantzaris GJ, et al. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. nov 2013;7(10):827-51.
83. Canavese G, Villanacci V, Antonelli E, Cadei M, Sapino A, Rocca R, et al. Eosinophilia – associated basal plasmacytosis: an early and sensitive histologic feature of inflammatory bowel disease. *APMIS*. 2017;125(3):179-83.
84. Andreyev HJN, Wotherspoon A, Denham JW, Hauer-Jensen M. "Pelvic radiation disease":

New understanding and new solutions for a new disease in the era of cancer survivorship. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1 avr 2011;46(4):389-97.

85. Qadeer MA, Vargo JJ. Approaches to the prevention and management of radiation colitis. *Curr Gastroenterol Rep*. 16 oct 2008;10(5):507.
86. Haboubi NY, Hasleton PS. Pathology of Radiation Injury. In: Schofield PF, Lupton EW, éditeurs. *The Causation and Clinical Management of Pelvic Radiation Disease* [Internet]. London: Springer; 1989 [cité 11 mai 2021]. p. 17-35. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-1-4471-1704-9_2
87. Didier J, Joly F, Cros J, Guedj N, Panis Y, Cazals-Hatem D. Caractéristiques clinicopathologiques et résultats postopératoires de l'entérite radio-induite : une étude rétrospective de 41 patients. *Annales de Pathologie*. 1 nov 2020;40(6):426-35.
88. Haboubi NY, Kaftan SM, Schofield PF. Radiation colitis is another mimic of chronic inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol*. mars 1992;45(3):272.
89. DeRoche TC, Xiao S-Y, Liu X. Histological evaluation in ulcerative colitis. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. août 2014;2(3):178-92.
90. Gordon IO, Bettenworth D, Bokemeyer A, Srivastava A, Rosty C, de Hertogh G, et al. Histopathology Scoring Systems of Stenosis Associated With Small Bowel Crohn's Disease: A Systematic Review. *Gastroenterology*. 1 janv 2020;158(1):137-150.e1.
91. Beyrau M, Bodkin JV, Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity. *Open Biol*. nov 2012;2(11):120134.
92. Marks DJ, Harbord MW, MacAllister R, Rahman FZ, Young J, Al-Lazikani B, et al. Defective acute inflammation in Crohn's disease: a clinical investigation. *The Lancet*. 25 févr 2006;367(9511):668-78.
93. Fournier BM, Parkos CA. The role of neutrophils during intestinal inflammation. *Mucosal Immunology*. juill 2012;5(4):354-66.
94. Prame Kumar K, Nicholls AJ, Wong CHY. Partners in crime: neutrophils and monocytes/macrophages in inflammation and disease. *Cell Tissue Res*. 1 mars 2018;371(3):551-65.
95. Kucharzik T, Walsh SV, Chen J, Parkos CA, Nusrat A. Neutrophil Transmigration in Inflammatory Bowel Disease Is Associated with Differential Expression of Epithelial Intercellular Junction Proteins. *The American Journal of Pathology*. 1 déc 2001;159(6):2001-9.
96. Vainer B, Brimnes J, Claesson MH, Nielsen OH. Impaired sensitivity to beta 2 integrin-blocking in ICAM-1-mediated neutrophil migration in ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*. juin 2001;36(6):621-9.
97. Giménez-Bastida JA, González-Sarriás A, Espín JC, Schneider C. Inhibition of 5-Lipoxygenase-Derived Leukotrienes and Hemiketals as a Novel Anti-Inflammatory

Mechanism of Urolithins. *Mol Nutr Food Res*. 2020;64(11):e2000129.

98. Colgan SP, Serhan CN, Parkos CA, Delp-Archer C, Madara JL. Lipoxin A₄ modulates transmigration of human neutrophils across intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest*. 1 juill 1993;92(1):75-82.
99. Wéra O, Lancellotti P, Oury C. The Dual Role of Neutrophils in Inflammatory Bowel Diseases. *J Clin Med* [Internet]. 17 déc 2016 [cité 11 mai 2021];5(12). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5184791/>
100. Sena A, Grishina I, Thai A, Goulart L, Macal M, Fenton A, et al. Dysregulation of Anti-Inflammatory Annexin A1 Expression in Progressive Crohns Disease. *PLOS ONE*. 10 oct 2013;8(10):e76969.
101. Panés J, Anderson DC, Miyasaka M, Neil Granger D. Role of leukocyte-endothelial cell adhesion in radiation-induced microvascular dysfunction in rats. *Gastroenterology*. 1 juin 1995;108(6):1761-9.
102. Carter SR, Chen MM, Palmer JL, Wang L, Ramirez L, Plackett TP, et al. Neutrophil Accumulation in the Small Intestine Contributes to Local Tissue Destruction Following Combined Radiation and Burn Injury. *J Burn Care Res*. 1 mars 2016;37(2):97-105.
103. Weiber S, Bjelkengren Gör, Rank F, Jiborn H, Zederfeldt B. Radiation Effects in the Colon: An Experimental Study in the Rat. *Acta Oncologica*. 1 janv 1993;32(5):565-9.
104. Deniz M, Atasoy BM, Dane F, Can G, Erzik C, Çetinel Ş, et al. Radiation-induced oxidative injury of the ileum and colon is alleviated by glucagon-like peptide-1 and -2. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 1 avr 2015;8(2):234-42.
105. Panés, Mollà, Casadevall, Salas, Sans, Conill, et al. Tepoxalin inhibits inflammation and microvascular dysfunction induced by abdominal irradiation in rats. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2000;14(6):841-50.
106. Kim H, Park S-H, Han SY, Lee Y-S, Cho J, Kim J-M. LXA₄ -FPR2 signaling regulates radiation-induced pulmonary fibrosis via crosstalk with TGF- β /Smad signaling. *Cell Death & Disease*. 8 août 2020;11(8):1-13.
107. Han G, Lu K, Xu W, Zhang S, Huang J, Dai C, et al. Annexin A1-mediated inhibition of inflammatory cytokines may facilitate the resolution of inflammation in acute radiation-induced lung injury. *Oncology Letters*. 1 juill 2019;18(1):321-9.
108. Nagashima R, Maeda K, Imai Y, Takahashi T. Lamina propria macrophages in the human gastrointestinal mucosa: their distribution, immunohistological phenotype, and function. *J Histochem Cytochem*. 1 juill 1996;44(7):721-31.
109. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili S-A, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233(9):6425-40.
110. Lissner D, Schumann M, Batra A, Kredel L-I, Kühl AA, Erben U, et al. Monocyte and M1 Macrophage-induced Barrier Defect Contributes to Chronic Intestinal Inflammation in IBD.

Inflamm Bowel Dis. 1 juin 2015;21(6):1297-305.

111. Gren ST, Grip O. Role of Monocytes and Intestinal Macrophages in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(8):1992-8.
112. Nunberg MY, Werner L, Kopylov U, Haberman Y, Lahad A, Weiss B, et al. Impaired IL-10 Receptor-mediated Suppression in Monocyte From Patients With Crohn Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66(5):779-84.
113. Zigmond E, Bernshtein B, Friedlander G, Walker CR, Yona S, Kim K-W, et al. Macrophage-restricted interleukin-10 receptor deficiency, but not IL-10 deficiency, causes severe spontaneous colitis. *Immunity.* 15 mai 2014;40(5):720-33.
114. Zhao J, Kim K-A, Abo A. Tipping the balance: modulating the Wnt pathway for tissue repair. *Trends in Biotechnology.* 1 mars 2009;27(3):131-6.
115. Cos n-Roger J, Ortiz-Masi  D, Calatayud S, Hernández C, Esplugues JV, Barrachina MD. The activation of Wnt signaling by a STAT6-dependent macrophage phenotype promotes mucosal repair in murine IBD. *Mucosal Immunol.* 2016;9(4):986-98.
116. Cosin-Roger J, Ortiz-Masi  MD, Barrachina MD. Macrophages as an Emerging Source of Wnt Ligands: Relevance in Mucosal Integrity. *Front Immunol [Internet].* 2019 [cité 15 nov 2020];10.Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02297/full>
117. Cos n-Roger J, Ortiz-Masi  D, Calatayud S, Hernández C, Alvarez A, Hinojosa J, et al. M2 macrophages activate WNT signaling pathway in epithelial cells: relevance in ulcerative colitis. *PLoS One.* 2013;8(10):e78128.
118. Stary V, Wolf B, Unterleuthner D, List J, Talic M, Laengle J, et al. Short-course radiotherapy promotes pro-inflammatory macrophages via extracellular vesicles in human rectal cancer. *J Immunother Cancer.* 2020;8(2).
119. Nadella V, Ranjan R, Senthilkumaran B, Qadri SSYH, Pothani S, Singh AK, et al. Podophyllotoxin and Rutin Modulate M1 (iNOS+) Macrophages and Mitigate Lethal Radiation(LR) Induced Inflammatory Responses in Mice. *Front Immunol.* 2019;10:106.
120. Lacav -Lapalun J-V, Benderitter M, Linard C. Flagellin or lipopolysaccharide treatment modified macrophage populations after colorectal radiation of rats. *J Pharmacol Exp Ther.* juill 2013;346(1):75-85.
121. Yeh M-H, Chang Y-H, Tsai Y-C, Chen S-L, Huang T-S, Chiu J-F, et al. Bone marrow derived macrophages fuse with intestine stromal cells and contribute to chronic fibrosis after radiation. *Radiother Oncol.* 2016;119(2):250-8.
122. Gr eacute O, My MB. Acute and persisting Th2-like immune response after fractionated colorectal γ-irradiation. *World Journal of Gastroenterology.* 14 d c 2008;14(46):7075-85.
123. Kolahian S, Fernandez IE, Eickelberg O, Hartl D. Immune Mechanisms in Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 5 mai 2016;55(3):309-22.

124. Araki Y, Andoh A, Fujiyama Y, Bamba T. Development of dextran sulphate sodium-induced experimental colitis is suppressed in genetically mast cell-deficient Ws/Ws rats. *Clin Exp Immunol.* f vr 2000;119(2):264-9.
125. Hamilton MJ, Sinnamon MJ, Lyng GD, Glickman JN, Wang X, Xing W, et al. Essential role for mast cell tryptase in acute experimental colitis. *PNAS.* 4 janv 2011;108(1):290-5.
126. Hamilton MJ, Frei SM, Stevens RL. The Multifaceted Mast Cell in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 1 d c 2014;20(12):2364-78.
127. Lakatos G, Sipos F, Miheller P, Hritz I, Varga MZ, Juh sz M, et al. The behavior of matrix metalloproteinase-9 in lymphocytic colitis, collagenous colitis and ulcerative colitis. *Pathol Oncol Res.* janv 2012;18(1):85-91.
128. Kim J-A, Choi S-C, Yun K-J, Kim D-K, Han M-K, Seo G-S, et al. Expression of protease-activated receptor 2 in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* juill 2003;9(4):224-9.
129. Liu B, Yang M-Q, Yu T-Y, Yin Y-Y, Liu Y, Wang X-D, et al. Mast Cell Tryptase Promotes Inflammatory Bowel Disease-Induced Intestinal Fibrosis. *Inflamm Bowel Dis.* 19 janv 2021;27(2):242-55.
130. Song X, Dai D, He X, Zhu S, Yao Y, Gao H, et al. Growth Factor FGF2 Cooperates with Interleukin-17 to Repair Intestinal Epithelial Damage. *Immunity.* 15 sept 2015;43(3):488-501.
131. Bradding P, Pejler G. The controversial role of mast cells in fibrosis. *Immunol Rev.* 2018;282(1):198-231.
132. Scharl M, Weber A, F rst A, Farkas S, Jehle E, Pesch T, et al. Potential role for SNAIL family transcription factors in the etiology of Crohn's disease-associated fistulae. *Inflamm Bowel Dis.* sept 2011;17(9):1907-16.
133. Blirando K, Milliat F, Martelly I, Sabourin J-C, Benderitter M, François A. Mast Cells Are an Essential Component of Human Radiation Proctitis and Contribute to Experimental Colorectal Damage in Mice. *The American Journal of Pathology.* 1 f vr 2011;178(2):640-51.
134. Durand C, Pezet S, Eutam ne H, Demarquay C, Mathieu N, Moussa L, et al. Persistent visceral allodynia in rats exposed to colorectal irradiation is reversed by mesenchymal stromal cell treatment. *Pain.* ao t 2015;156(8):1465-76.
135. Hovdenak N, Wang J, Sung C-C, Kelly T, Fajardo LF, Hauer-Jensen M. Clinical significance of increased gelatinolytic activity in the rectal mucosa during external beam radiation therapy of prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 15 juill 2002;53(4):919-27.
136. Wang J, Zheng H, Hollenberg MD, Wijesuriya SJ, Ou X, Hauer-Jensen M. Up-regulation and activation of proteinase-activated receptor 2 in early and delayed radiation injury in the rat intestine: influence of biological activators of proteinase-activated receptor 2. *Radiat Res.* nov2003;160(5):524-35.
137. Zhang L, Sun W, Wang J, Zhang M, Yang S, Tian Y, et al. Mitigation Effect of an FGF-2 Peptide on Acute Gastrointestinal Syndrome after High-Dose Ionizing Radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 mai 2010;77(1):261-8.

138. Zhou J-M, Liang R, Zhu S-Y, Wang H, Zou M, Zou W-J, et al. LncRNA WWC2-AS1 functions ASa novel competing endogenous RNA in the regulation of FGF2 expression by sponging miR-16in radiation-induced intestinal fibrosis. *BMC Cancer*. 1 juill 2019;19(1):647.
139. Vivier E, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell*. 23 2018;174(5):1054-66.
140. Neurath MF. Targeting immune cell circuits and trafficking in inflammatory bowel disease. *Nature Immunology*. ao t 2019;20(8):970-9.
141. Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, Berg E, Giese T, Stallmach A, et al. Peripheral and intestinal regulatory CD4+ CD25(high) T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. juin 2005;128(7):1868-78.
142. Desreumaux P, Foussat A, Allez M, Beaugerie L, H buterne X, Bouhnik Y, et al. Safety and efficacy of antigen-specific regulatory T-cell therapy for patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology*. nov 2012;143(5):1207-1217.e2.
143. Bessout R, Demarquay C, Moussa L, René A, Doix B, Benderitter M, et al. TH17 predominant T-cell responses in radiation-induced bowel disease are modulated by treatment with adipose-derived mesenchymal stromal cells. *J Pathol*. d c 2015;237(4):435-46.
144. Liu R, Xiong S, Zhang L, Chu Y. Enhancement of antitumor immunity by low-dose total body irradiationis associated with selectively decreasing the proportion and number of T regulatorycells. *Cell Mol Immunol*. mars 2010;7(2):157-62.
145. Beauford SS, Kumari A, Garnett-Benson C. Ionizing radiation modulates the phenotype and function of human CD4+ induced regulatory T cells. *BMC Immunology*. 16 avr 2020;21(1):18.
146. Cao M, Cabrera R, Xu Y, Liu C, Nelson D. Gamma irradiation alters the phenotype andfunction of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Cell Biol Int*. mai 2009;33(5):565-71.
147. Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. sept 2012;489(7415):231-41.
148. Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*. 15 juill 2005;122(1):107-18.
149. Bauch  D, Marie JC. Transforming growth factor β : a master regulator of the gut microbiota and immune cell interactions. *Clin Transl Immunology*. 7 avr 2017;6(4):e136.
150. Kayama H, Okumura R, Takeda K. Interaction Between the Microbiota, Epithelia, and ImmuneCells in the Intestine. *Annual Review of Immunology*. 2020;38(1):23-48.
151. Sun M, Wu W, Chen L, Yang W, Huang X, Ma C, et al. Microbiota-derived short-chain fatty acids promote Th1 cell IL-10 production to maintain intestinal homeostasis. *Nature Communications*. 3 sept 2018;9(1):3555.
152. Bachem A, Makhlof C, Binger KJ, de Souza DP, Tull D, Hochheiser K, et al. Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids Promote the Memory Potential of Antigen-Activated CD8+ TCells. *Immunity*. 20 ao t 2019;51(2):285-297.e5.

153. Parada Venegas D, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, et al. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. *Front Immunol* [Internet]. 2019 [cité 12 mai 2021];10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00277/full>
154. LeBlanc JG, Chain F, Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Courau S, Langella P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microb Cell Fact*. 8 mai 2017;16(1):79.
155. Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padia R, Shi H, et al. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity*. 16 janv 2014;40(1):128-39.
156. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. déc 2013;504(7480):446-50.
157. Morita N, Umemoto E, Fujita S, Hayashi A, Kikuta J, Kimura I, et al. GPR31-dependent dendrite protrusion of intestinal CX₃CR1⁺ cells by bacterial metabolites. *Nature*. févr 2019;566(7742):110-4.
158. Guo C, Xie S, Chi Z, Zhang J, Liu Y, Zhang L, et al. Bile Acids Control Inflammation and Metabolic Disorder through Inhibition of NLRP3 Inflammasome. *Immunity*. 18 2016;45(4):802-16.
159. Pols TWH, Nomura M, Harach T, Lo Sasso G, Oosterveer MH, Thomas C, et al. TGR5 activation inhibits atherosclerosis by reducing macrophage inflammation and lipid loading. *Cell Metab*. 7 déc 2011;14(6):747-57.
160. Biagioli M, Carino A, Cipriani S, Francisci D, Marchianò S, Scarpelli P, et al. The Bile Acid Receptor GPBAR1 Regulates the M1/M2 Phenotype of Intestinal Macrophages and Activation of GPBAR1 Rescues Mice from Murine Colitis. *J Immunol*. 15 2017;199(2):718-33.
161. Vavassori P, Mencarelli A, Renga B, Distrutti E, Fiorucci S. The bile acid receptor FXR is a modulator of intestinal innate immunity. *J Immunol*. 15 nov 2009;183(10):6251-61.
162. Corriden R, Chen Y, Inoue Y, Beldi G, Robson SC, Insel PA, et al. Ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1 (E-NTPDase1/CD39) regulates neutrophil chemotaxis by hydrolyzing released ATP to adenosine. *J Biol Chem*. 17 oct 2008;283(42):28480-6.
163. Kusu T, Kayama H, Kinoshita M, Jeon SG, Ueda Y, Goto Y, et al. Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 7 Controls Th17 Cell Responses through Regulation of Luminal ATP in the Small Intestine. *J Immunol*. 15 janv 2013;190(2):774-83.
164. Hayashi A, Sato T, Kamada N, Mikami Y, Matsuoka K, Hisamatsu T, et al. A single strain of *Clostridium butyricum* induces intestinal IL-10-producing macrophages to suppress acute experimental colitis in mice. *Cell Host Microbe*. 12 juin 2013;13(6):711-22.
165. Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, Zelenay S, Haury M, Demengeot J. Regulatory T

- cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 17 f vr 2003;197(4):403-11.
166. Wang Q, McLoughlin RM, Cobb BA, Charrel-Dennis M, Zaleski KJ, Golenbock D, et al. A bacterial carbohydrate links innate and adaptive responses through Toll-like receptor 2. *J Exp Med.* 25 d c 2006;203(13):2853-63.
 167. Chu H, Khosravi A, Kusumawardhani IP, Kwon AHK, Vasconcelos AC, Cunha LD, et al. Gene-microbiota interactions contribute to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Science.* 27 mai 2016;352(6289):1116-20.
 168. Kinnebrew MA, Buffie CG, Diehl GE, Zenewicz LA, Leiner I, Hohl TM, et al. Interleukin 23 production by intestinal CD103(+)CD11b(+) dendritic cells in response to bacterial flagellin enhances mucosal innate immune defense. *Immunity.* 24 f vr 2012;36(2):276-87.
 169. Wang Y, Yin Y, Chen X, Zhao Y, Wu Y, Li Y, et al. Induction of Intestinal Th17 Cells by Flagellins From Segmented Filamentous Bacteria. *Front Immunol* [Internet]. 2019 [cité 12 mai 2021];10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02750/full>
 170. Jiang W, Wang X, Zeng B, Liu L, Tardivel A, Wei H, et al. Recognition of gut microbiota by NOD2 is essential for the homeostasis of intestinal intraepithelial lymphocytes. *J Exp Med.* 21oct 2013;210(11):2465-76.
 171. Ismail AS, Behrendt CL, Hooper LV. Reciprocal Interactions between Commensal Bacteria and $\gamma\delta$ Intraepithelial Lymphocytes during Mucosal Injury. *J Immunol.* 1 mars 2009;182(5):3047-54.
 172. Chen B, Ni X, Sun R, Zeng B, Wei H, Tian Z, et al. Commensal Bacteria-Dependent CD8 $\alpha\beta$ + T Cells in the Intestinal Epithelium Produce Antimicrobial Peptides. *Front Immunol* [Internet]. 16 mai 2018 [cité 12 mai 2021];9. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5964211/>
 173. Olszak T, An D, Zeissig S, Vera MP, Richter J, Franke A, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science.* 27 avr 2012;336(6080):489-93.
 174. Atarashi K, Nishimura J, Shima T, Umesaki Y, Yamamoto M, Onoue M, et al. ATP drives lamina propria T H 17 cell differentiation. *Nature.* oct 2008;455(7214):808-12.
 175. Uematsu S, Akira S. Immune responses of TLR5(+) lamina propria dendritic cells in enterobacterial infection. *J Gastroenterol.* 2009;44(8):803-11.
 176. Franchi L, Kamada N, Nakamura Y, Burberry A, Kuffa P, Suzuki S, et al. NLRC4-driven production of IL-1 β discriminates between pathogenic and commensal bacteria and promotes host intestinal defense. *Nature Immunology.* mai 2012;13(5):449-56.
 177. Miao EA, Leaf IA, Treuting PM, Mao DP, Dors M, Sarkar A, et al. Caspase-1-induced pyroptosis is an innate immune effector mechanism against intracellular bacteria. *Nat Immunol.* d c 2010;11(12):1136-42.

178. Tsuji M, Suzuki K, Kitamura H, Maruya M, Kinoshita K, Ivanov II, et al. Requirement for Lymphoid Tissue-Inducer Cells in Isolated Follicle Formation and T Cell-Independent Immunoglobulin A Generation in the Gut. *Immunity*. 15 ao t 2008;29(2):261-71.
179. Mora JR, Iwata M, Eksteen B, Song S-Y, Junt T, Senman B, et al. Generation of Gut-Homing IgA-Secreting B Cells by Intestinal Dendritic Cells. *Science*. 17 nov 2006;314(5802):1157-60.
180. Fukata M, Breglio K, Chen A, Vamadevan AS, Goo T, Hsu D, et al. The myeloid differentiation factor 88 (MyD88) is required for CD4+ T cell effector function in a murine model of inflammatory bowel disease. *J Immunol*. 1 f vr 2008;180(3):1886-94.
181. Sommer F, Anderson JM, Bharti R, Raes J, Rosenstiel P. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nat Rev Microbiol*. oct 2017;15(10):630-8.
182. Liu S, Zhao W, Lan P, Mou X. The microbiome in inflammatory bowel diseases: from pathogenesis to therapy. *Protein Cell*. 1 mai 2021;12(5):331-45.
183. Guo XY, Liu XJ, Hao JY. Gut microbiota in ulcerative colitis: insights on pathogenesis and treatment. *J Dig Dis*. mars 2020;21(3):147-59.
184. Kaur N, Chen C-C, Luther J, Kao JY. Intestinal dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*. ao t 2011;2(4):211-6.
185. Varela E, Manichanh C, Gallart M, Torrej n A, Borruel N, Casellas F, et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. juill 2013;38(2):151-61.
186. Vich Vila A, Imhann F, Collij V, Jankipersadsing SA, Gurry T, Mujagic Z, et al. Gut microbiota composition and functional changes in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Sci Transl Med*. 19 2018;10(472).
187. Maukonen J, Kolho K-L, Paasela M, Honkanen J, Klemetti P, Vaarala O, et al. Altered Fecal Microbiota in Paediatric Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. d c 2015;9(12):1088-95.
188. Hu S, Vila AV, Gacesa R, Collij V, Stevens C, Fu JM, et al. Whole exome sequencing analyses reveal gene–microbiota interactions in the context of IBD. *Gut*. 1 f vr 2021;70(2):285-96.
189. Blandford LE, Johnston EL, Sanderson JD, Wade WG, Lax AJ. Promoter orientation of the immunomodulatory *Bacteroides fragilis* capsular polysaccharide A (PSA) is off in individuals with inflammatory bowel disease (IBD). *Gut Microbes*. 2019;10(5):569-77.
190. Wang A, Ling Z, Yang Z, Kiela PR, Wang T, Wang C, et al. Gut Microbial Dysbiosis May Predict Diarrhea and Fatigue in Patients Undergoing Pelvic Cancer Radiotherapy: A Pilot Study. *PLOS ONE*. 8 mai 2015;10(5):e0126312.
191. Wang Z, Wang Q, Wang X, Zhu L, Chen J, Zhang B, et al. Gut microbial dysbiosis is associated with development and progression of radiation enteritis during pelvic radiotherapy. *J Cell Mol Med*. 2019;23(5):3747-56.

192. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. ao t 2014;11(8):506-14.
193. Kim W-K, Han DH, Jang YJ, Park S, Jang SJ, Lee G, et al. Alleviation of DSS-induced colitis via *Lactobacillus acidophilus* treatment in mice. *Food Funct*. 7 janv 2021;12(1):340-50.
194. Yeo S, Park H, Seo E, Kim J, Kim BK, Choi IS, et al. Anti-Inflammatory and Gut Microbiota Modulatory Effect of *Lactobacillus rhamnosus* Strain LDTM 7511 in a Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis Murine Model. *Microorganisms*. 4 juin 2020;8(6).
195. Xia Y, Chen Y, Wang G, Yang Y, Song X, Xiong Z, et al. *Lactobacillus plantarum* AR113 alleviates DSS-induced colitis by regulating the TLR4/MyD88/NF- B pathway and gut microbiota composition. *Journal of Functional Foods*. 1 avr 2020;67:103854.
196. Santos Rocha C, Gomes-Santos AC, Garcias Moreira T, de Azevedo M, Diniz Luerce T, Mariadassou M, et al. Local and systemic immune mechanisms underlying the anti-colitis effects of the dairy bacterium *Lactobacillus delbrueckii*. *PLoS One*. 2014;9(1):e85923.
197. Martín R, Chain F, Miquel S, Lu J, Gratadoux J-J, Sokol H, et al. The commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* is protective in DNBS-induced chronic moderate and severe colitis models. *Inflamm Bowel Dis*. mars 2014;20(3):417-30.
198. Ki Y, Kim W, Cho H, Ahn K, Choi Y, Kim D. The effect of probiotics for preventing radiation-induced morphological changes in intestinal mucosa of rats. *J Korean Med Sci*. oct 2014;29(10):1372-8.
199. Sittipo P, Pham HQ, Park CE, Kang G-U, Zhi Y, Ji HJ, et al. Irradiation-Induced Intestinal Damage Is Recovered by the Indigenous Gut Bacteria *Lactobacillus acidophilus*. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 18 ao t 2020 [cité 12 mai 2021];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7461978/>
200. Ciorba MA, Riehl TE, Rao MS, Moon C, Ee X, Nava GM, et al. *Lactobacillus* probiotic protects intestinal epithelium from radiation injury in a TLR-2/cyclo-oxygenase-2-dependent manner. *Gut*. juin 2012;61(6):829-38.
201. Liu Q, Nobaek S, Adawi D, Mao Y, Wang M, Molin G, et al. Administration of *Lactobacillus plantarum* 299v reduces side-effects of external radiation on colon anastomotic healing in an experimental model. *Colorectal Dis*. juill 2001;3(4):245-52.
202. Demirer S, Aydintug S, Aslim B, Kepenekci I, Seng l N, Evirgen O, et al. Effects of probiotics on radiation-induced intestinal injury in rats. *Nutrition*. f vr 2006;22(2):179-86.
203. Lapiere A, Geiger M, Robert V, Demarquay C, Auger S, Chadi S, et al. Prophylactic *Faecalibacterium prausnitzii* treatment prevents the acute breakdown of colonic epithelial barrier in a preclinical model of pelvic radiation disease. *Gut Microbes*. 9 nov 2020;12(1):1-15.
204. Seksik P, Sokol H, Lepage P, Vasquez N, Manichanh C, Mangin I, et al. Review article: the role of bacteria in onset and perpetuation of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol*

Ther. oct 2006;24 Suppl 3:11-8.

205. Hernández-Chirlaque C, Aranda CJ, Ocón B, Capitán-Cañadas F, Ortega-González M, Carrero JJ, et al. Germ-free and Antibiotic-treated Mice are Highly Susceptible to Epithelial Injury in DSS Colitis. *J Crohns Colitis*. 1 nov 2016;10(11):1324-35.
206. Gerassy-Vainberg S, Blatt A, Danin-Poleg Y, Gershovich K, Sabo E, Nevelsky A, et al. Radiation induces proinflammatory dysbiosis: transmission of inflammatory susceptibility by host cytokine induction. *Gut*. 1 janv 2018;67(1):97-107.
207. Xu J, Chen N, Wu Z, Song Y, Zhang Y, Wu N, et al. 5-Aminosalicylic Acid Alters the Gut Bacterial Microbiota in Patients With Ulcerative Colitis. *Front Microbiol* [Internet]. 13 juin 2018 [cité 12 mai 2021];9. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6008376/>
208. Huang EY, Inoue T, Leone VA, Dalal S, Touw K, Wang Y, et al. Using corticosteroids to reshape the gut microbiome: implications for inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. mai 2015;21(5):963-72.
209. Trinchieri G. TNF-shaped microbiota promotes cancer. *Nature Cancer*. juill 2020;1(7):667-9.
210. Liu F, Ma R, Riordan SM, Grimm MC, Liu L, Wang Y, et al. Azathioprine, Mercaptopurine, and 5-Aminosalicylic Acid Affect the Growth of IBD-Associated *Campylobacter* Species and Other Enteric Microbes. *Front Microbiol* [Internet]. 29 mars 2017 [cité 12 mai 2021];8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5372805/>
211. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, et al. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology*. juill 2015;149(1):102-109.e6.
212. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JHA, Duflou A, et al. Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. juill 2015;149(1):110-118.e4.
213. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, Walsh AJ, van den Bogaerde J, Samuel D, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 25 2017;389(10075):1218-28.
214. Costello SP, Hughes PA, Waters O, Bryant RV, Vincent AD, Blatchford P, et al. Effect of Fecal Microbiota Transplantation on 8-Week Remission in Patients With Ulcerative Colitis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 15 2019;321(2):156-64.
215. Sokol H, Landman C, Seksik P, Berard L, Montil M, Nion-Larmurier I, et al. Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study. *Microbiome*. 03 2020;8(1):12.
216. Ding X, Li Q, Li P, Chen X, Xiang L, Bi L, et al. Fecal microbiota transplantation: A promising treatment for radiation enteritis? *Radiother Oncol*. févr 2020;143:12-8.
217. Demers M, Dagnault A, Desjardins J. A randomized double-blind controlled trial: Impact of probiotics on diarrhea in patients treated with pelvic radiation. *Clinical Nutrition*. 1 oct 2014;33(5):761-7.

218. Cui M, Xiao H, Li Y, Zhou L, Zhao S, Luo D, et al. Faecal microbiota transplantation protects against radiation-induced toxicity. *EMBO Mol Med*. 2017;9(4):448-61.
219. Guo H, Chou W-C, Lai Y, Liang K, Tam JW, Brickey WJ, et al. Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites. *Science* [Internet]. 30 oct 2020 [cité 13 mai 2021];370(6516). Disponible sur: <https://science.sciencemag.org/content/370/6516/eaay9097>
220. West NR, Powrie F. Immunotherapy Not Working? Check Your Microbiota. *Cancer Cell*. 14 d c2015;28(6):687-9.
221. Alexander JL, Wilson ID, Teare J, Marchesi JR, Nicholson JK, Kinross JM. Gut microbiota modulation of chemotherapy efficacy and toxicity. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. juin 2017;14(6):356-65.
222. Sims TT, El Alam MB, Karpinets TV, Dorta-Estremera S, Hegde VL, Nookala S, et al. Gut microbiome diversity is an independent predictor of survival in cervical cancer patients receiving chemoradiation. *Communications Biology*. 22 f vr 2021;4(1):1-10.
223. Encarna  o JC, Pires AS, Amaral RA, Gonçalves TJ, Laranjo M, Casalta-Lopes JE, et al. Butyrate, a dietary fiber derivative that improves irinotecan effect in colon cancer cells. *J Nutr Biochem*. 2018;56:183-92.
224. Liu M-M, Li S-T, Shu Y, Zhan H-Q. Probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178870.
225. Curty G, de Carvalho PS, Soares MA. The Role of the Cervicovaginal Microbiome on the Genesis and as a Biomarker of Premalignant Cervical Intraepithelial Neoplasia and Invasive Cervical Cancer. *Int J Mol Sci*. 28 d c 2019;21(1).
226. Ohadian Moghadam S, Momeni SA. Human microbiome and prostate cancer development: current insights into the prevention and treatment. *Front Med*. févr 2021;15(1):11-32.
227. Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. nov 2019;16(11):690-704.

Résumé

La stratégie thérapeutique dans les cancers de la zone pelvienne inclue dans 60% des cas la radiothérapie. L'irradiation des tissus situés autour de la tumeur a des conséquences pouvant survenir plusieurs années après la dernière séance de radiothérapie. Les symptômes ont donné lieu en 2010 à la définition d'une nouvelle pathologie, la « Pelvic Radiation Disease » (PRD). La complexité physiopathologique de la PRD limite l'efficacité des thérapies disponibles. De plus, les recherches effectuées sur la PRD sont peu nombreuses. Si les traitements actuels visent à réduire les symptômes de la PRD, aucun des traitements curatifs en cours de développement semblent efficaces. C'est dans ce contexte qu'il est intéressant de recourir aux travaux effectués dans d'autres pathologies, comme les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), qui comprennent les Rectocolite hémorragiques (RCH) et la maladie de Crohn (MC), avec lesquelles la PRD partagent de nombreuses similarités. La comparaison des trois pathologies d'un point de vue macroscopique et microscopique amène à la conclusion que les traitements utilisés dans les MICI peuvent être appliqués à la PRD. Dans le cadre des MICI, un élément suscite l'intérêt du corps médical et de la communauté scientifique : le microbiote intestinal. Ainsi l'analyse de l'efficacité thérapeutique que peut avoir le microbiote dans ces différentes pathologies permet de démontrer le potentiel clinique que possède la Transplantation de Microbiote Fécale (TMF). C'est dans ce cadre-là qu'un projet de thèse est réalisé au sein du Laboratoire de Radiobiologies des Expositions Médicales (LRMed)   l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN). Cette thèse a pour but de démontrer l'efficacité de la TMF sur les atteintes coliques radio-induites. Ainsi cela permettra de répondre à la problématique clinique qu'est l'absence de thérapie curative disponible dans la PRD.

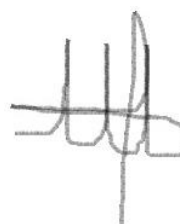
ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) Mallia Geiger

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : **21302118**

N° Thèse : **37**

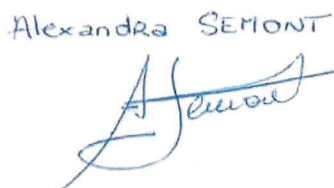
Nom et Prénom : **Geiger Mallia**

Sujet : **Le microbiote intestinal dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales :
application à la Pelvic Radiation Disease.**

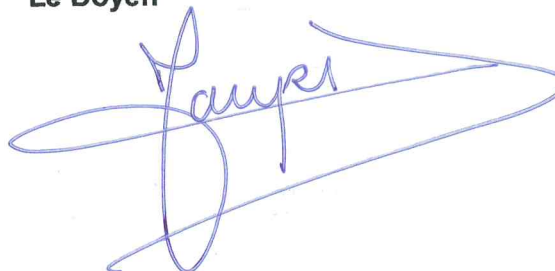
Tours, le : **20 09 2021**

Le(s) Directeur(s) de Thèse :

Philippe LANOTTE


Alexandra SEMONT


**Vu et Transmis :
Le Doyen**



NOM, PRÉNOM de l'étudiant : Geiger Mallia

N° 37

TITRE DE LA THÈSE

Le microbiote intestinal dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales : application à la Pelvic Radiation Disease.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

La stratégie thérapeutique dans les cancers de la zone pelvienne inclue dans 60% des cas la radiothérapie. L'irradiation des tissus situés autour de la tumeur a des conséquences pouvant survenir plusieurs années après la dernière séance de radiothérapie. Les symptômes ont donné lieu en 2010 à la définition d'une nouvelle pathologie, la « Pelvic Radiation Disease » (PRD). La complexité physiopathologique de la PRD limite l'efficacité des thérapies disponibles. De plus, les recherches effectuées sur la PRD sont peu nombreuses. Si les traitements actuels visent à réduire les symptômes de la PRD, aucun des traitements curatifs en cours de développement semblent efficaces. C'est dans ce contexte qu'il est intéressant de recourir aux travaux effectués dans d'autres pathologies, comme les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), qui comprennent les Rectocolite hémorragiques (RCH) et la maladie de Crohn (MC), avec lesquelles la PRD partagent de nombreuses similarités. La comparaison des trois pathologies d'un point de vue macroscopique et microscopique amène à la conclusion que les traitements utilisés dans les MICI peuvent être appliqués à la PRD. Dans le cadre des MICI, un élément suscite l'intérêt du corps médical et de la communauté scientifique : le microbiote intestinal. Ainsi l'analyse de l'efficacité thérapeutique que peut avoir le microbiote dans ces différentes pathologies permet de démontrer le potentiel clinique que possède la Transplantation de Microbiote Féciale (TMF). C'est dans ce cadre-là qu'un projet de thèse est réalisé au sein du Laboratoire de Radiobiologies des Expositions Médicales (LRMed) à l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN). Cette thèse a pour but de démontrer l'efficacité de la TMF sur les atteintes coliques radio-induites. Ainsi cela permettra de répondre à la problématique clinique qu'est l'absence de thérapie curative disponible dans la PRD.

MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY

Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales, Pelvic Radiation Disease, Microbiote

JURY

PRÉSIDENT Pr. Gilles Thibault

MEMBRES :

Pr. Philippe Lanotte

Dr. Alexandra Sémont

Pr. Xavier Treton

DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : 4 juin 2021 à TOURS