

COMMUNICATION

L'intestin métabolique : dualité fonctionnelle des incrétines et de la flore intestinale

MOTS-CLÉS : DIABÈTE. INCRÉTINES. INTESTINS. GLUCOSE

New insights into adipose cell biology

KEY-WORDS (Index Medicus): DIABETES MELLITUS. INCRETINS. INTESTINES. GLUCOSE

Rémy BURCELIN *

L'auteur déclare recevoir des honoraires de Novartis, BMS, MSD, Sanofi, Novo et avoir des parts sociales dans Vaiomer SAS.

RÉSUMÉ

Notre activité de recherche concerne la compréhension des mécanismes moléculaires qui contrôlent la glycémie de l'organisme sain ou diabétique. Le diabète est actuellement considéré comme une épidémie mondiale par l'OMS, qui touchera plusieurs centaines de millions d'individus lors des prochaines décennies. Les stratégies thérapeutiques actuelles ne permettent pas de prendre en charge efficacement l'hyperglycémie et les conséquences cardiovasculaires graves de la maladie. Des paradigmes nouveaux doivent être découverts pour remédier à ce problème de société afin d'initier des stratégies innovantes. Dans ce cadre nous avons considéré, au cours de ces quinze dernières années le rôle de l'intestin dans la régulation de la glycémie. Une originalité de notre travail a consisté à découvrir les mécanismes moléculaires responsables de la détection de l'augmentation de la glycémie lors d'un repas. Nous avons montré en premier lieu que le transporteur de glucose GLUT2 détecte le glucose dans le sang de la veine porte. De manière similaire, une hormone, le Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) est sécrétée conjointement à l'absorption des nutriments et nous montrons que le récepteur correspondant favorise le rôle de GLUT2 dans sa fonction de détection de la glycémie. Cette information nutritionnelle est alors transmise de l'intestin vers le cerveau via une activation électrique du système nerveux autonome entérique. Nous montrons que la leptine, le neuropeptide Y, ou encore le GLP-1 agissent sur l'hypothalamus et relaient l'information nutritionnelle d'origine entérique vers des organes clés de l'organisme tels que le foie, le pancréas, le muscle, ou encore les vaisseaux sanguins. Cet arc réflexe permet aux tissus d'être informés très rapidement afin qu'ils puissent anticiper l'arrivée

* Institut de Recherche sur le métabolisme et les maladies cardiovasculaires, I2MC, Inserm U1048, Équipe 2, Hôpital Rangueil, BP 84225 — 31432 Toulouse, Cedex, France ; e-mail : remy.burcelin@inserm.fr

Tirés à part : Professeur Rémy BURCELIN, même adresse.

Article reçu le 28 avril 2012, accepté le 14 mai 2012

massive des nutriments sanguins et ainsi prendre en charge le glucose pour que la glycémie soit maintenue à des concentrations physiologiques. La mise en évidence de cet arc réflexe métabolique « anticipateur » a été réalisée grâce à des approches innovantes de physiologie qui ont pour essence de respecter l'intégrité de l'animal, notamment de la souris. Nos travaux ont aussi montré que ces connexions entre tissus sont altérées au cours du diabète. Ainsi, cette nouvelle voie de compréhension de l'équilibre glycémique suggère qu'une approche pharmacologique du réflexe anticipateur pourrait représenter une source de stratégies thérapeutiques. Dans une deuxième étape nous avons recherché les mécanismes moléculaires responsables de l'altération du réflexe anticipateur. Nous montrons qu'un régime diabétogène riche en graisses modifie la flore intestinale et favorise la perméabilité à des facteurs bactériens, les Lipopolysaccharides (LPS). Ces derniers augmentent dans le sang et définissent l'endotoxémie métabolique. Ils sont responsables d'une inflammation à bas bruit qui initie l'insulino-résistance, le développement du tissu adipeux, et le stockage hépatique de lipides. L'administration d'antibiotiques, de probiotiques, ou de prébiotiques inverse l'effet du régime diabétogène sur ces paramètres et sur l'hyperglycémie. Nous mettons en évidence également que des bactéries intestinales transloquent de l'intestin vers les tissus et le sang. L'ADN bactérien correspondant servira à l'élaboration de biomarqueurs prédictifs de la survenue d'un diabète (brevets) ainsi qu'à l'identification de cibles moléculaires de la relation hôte-microbiote. Nous ouvrons une nouvelle voie à la compréhension du métabolisme énergétique et à l'élaboration de stratégies thérapeutiques originales. Basée sur nos travaux quatre entreprises de biotechnologies ont été créées ainsi que de nombreux emplois.

SUMMARY

Our research focuses on the molecular mechanisms controlling glycemia in healthy and diabetic individuals. Diabetes is now considered as a worldwide epidemic by WHO, and is predicted to affect several hundred million people in the near future. Current therapies have failed to prevent or control hyperglycemia, as well as the deleterious cardiovascular consequences of the disease have increased. New paradigms are thus needed to develop novel therapeutic strategies. Over the last 15 years, we have been studying the intestine as a major regulator of the integrated cross-talk between the brain, liver, pancreas, muscles and blood vessels required for glycemic control. As a first example, we identified that during a meal the glucose transporter GLUT2 and the intestinal hormone glucagon-like peptide-1 (GLP-1) are involved in glucose detection by the entero-portal system. This was done using highly innovative experimental techniques in the awake free moving mouse. We then found that the enteric-vagal nervous system transmits this nutritional information towards the brain stem and hypothalamus, where leptin, neuropeptide Y and GLP-1 relay the enteric signal to control the endocrine pancreas (insulin-glucagon secretion), the liver (glycogen metabolism), the vascular system (vasodilation, arterial flow), and muscle metabolism. This "anticipatory metabolic reflex" is altered during diabetes and might thus represent a new pharmacological target. Subsequently, while investigating the molecular mechanisms responsible for regulating this new physiological pathway, we discovered that a fat-rich diabetogenic diet alters the intestinal microbiota and permeability. This leads to an increase in the concentration of plasma lipopolysaccharides (LPS), which causes metabolic endotoxemia responsible for the induction of low-grade inflammation that characterizes type 2 diabetes, insulin resistance, adipose tissue development and hepatic lipid storage. We then showed that bacteria can be translocated from the intestine towards tissues and the bloodstream. Bacterial DNA present in blood was found to be predictive of diabetes, 6-9 years before disease onset (patent), presenting new molecular targets in the microbiota-

host relationship. This should enable the scientific community to discover new functional relationships between the genome and metagenome and thus to develop original preventive and therapeutic strategies for metabolic diseases. Four biotechnology companies have already been created on the basis of our findings.

INTRODUCTION

L'épidémie mondiale de diabète de type 2 est une faillite thérapeutique qui traduit le besoin de nouveaux paradigmes.

Le diabète de type 2 a progressé dans les pays de l'Europe de l'Ouest et aux États-Unis d'Amérique au cours de ces deux à trois dernières décennies de manière fulgurante. Cette affirmation a été répétée et clamée par tous les moyens de communication. Or aujourd'hui, la Fédération Internationale du Diabète (IDF) montre que des précisions alarmantes doivent être à nouveau apportées à cette épidémie (Tableau 1). En effet, celle-ci concerne dès lors non seulement l'ensemble des pays du monde jusqu'aux plus pauvres, mais également les enfants et adolescents. 10-20 % des enfants de moins de huit ans sont en surpoids et comportent désormais un risque triplé de développer un diabète. Au cours du développement de cette épidémie lors des cinq dernières décennies un arsenal de stratégies nutritionnelles préventives et de pharmacologies thérapeutiques a été développé. Les molécules telles que la metformine, les sulfonylurées, les différentes insulines, les inhibiteurs de l'alpha glucosidase, les agonistes PPAR α/γ , les gliptines, et analogues du GLP-1 sont actuellement utilisées par les cliniciens pour circonvenir aux épisodes hyperglycémiques ainsi qu'aux complications cardiovasculaires dont l'impact sur la qualité et la durée de la vie est fortement préjudiciable pour l'individu et pour la société. Ce problème de santé est en plus sociétal. Il témoigne non seulement de l'échec des stratégies thérapeutiques actuelles, mais également de celui des campagnes de prévention par la communication. La sédentarité, la pollution, le stress, la mauvaise qualité de la nutrition, et les contraintes environnementales sont les ingrédients qui mettent en exergue l'inadéquation socio-métabolique et la progression de la maladie. Les raisons des échecs sociaux et thérapeutiques sont sûrement multiples et trouvent leurs substrats dans la complexité et le caractère multi-organique et intégré à l'environnement social de la maladie. Les médicaments actuels ne traitent que les conséquences des défauts cellulaires, tel que la sécrétion d'insuline, l'insulino-résistance, ou encore la production hépatique de glucose et la sécrétion des incréti-nes. L'origine de ces défauts mécanistiques n'est pas connue. Ainsi l'utilisation séquentielle des molécules contrôlant les fonctions cellulaires altérées aboutit tôt ou tard à une escalade thérapeutique et à l'amoncellement des molécules au fond du panier de soin. Le constat est que de nouveaux paradigmes sociaux et scientifiques doivent être trouvés pour remédier à cette épidémie.

Je traiterai en priorité quelques hypothèses concernant ces nouveaux paradigmes scientifiques.

TABEAU 1. — Prévision de la prévalence du diabète dans le monde en million d'individus entre 2000 et 2030

Années/Pays	Europe	Amériques	Méditerranée orientale	Asie du Sud Est	Afrique	Pacific occidental
2000	33,3	33	15,2	46,9	7	82,7
2030	48	66,8	42,6	119,5	18,2	190,5

En millions de patients

Source : International diabetes federation 2009.

UN BESOIN DE NOUVEAUX PARADIGMES DONT LES ORIGINES POURRAIENT ÊTRE INTESTINALES

Le diabète de type 2 une maladie multi-organique caractérisée notamment par une sécrétion d'insuline insuffisante, une réduction de l'action de l'insuline, une production de glucose hépatique trop importante et une absence de freination de la sécrétion de glucagon. Des combinaisons en associations variables de tous ces déficits caractérisent les patients diabétiques. Chaque combinaison spécifique de ces déficits fonctionnels définit ainsi autant de sous-groupes de diabétiques. C'est la notion de diversité (ou hétérogénéité) de la maladie métabolique. Ainsi, nous pouvons intuitivement conclure qu'une prise en charge coordonnée de tous ces déficits fonctionnels pourrait aboutir à un contrôle efficace de la glycémie. Or, les données épidémiologiques sur les effets des traitements thérapeutiques nous rappellent qu'il n'en est *de facto* rien. Ceci est probablement dû au fait que les origines des défauts cellulaires ne sont pas connues. Ainsi, de nouvelles thérapeutiques ne seront efficaces que si elles agissent sur les causes des maladies métaboliques, qui restent cependant à découvrir. Dans ce but les décennies précédentes ont vu l'émergence de programmes ambitieux visant à séquencer l'ensemble du génome humain afin d'identifier les origines génétiques des maladies. Or les études d'association génétiques et phénotypiques n'expliquent que 1-5 % de l'incidence des maladies métaboliques [1]. Il faut alors prendre en compte l'influence épigénétique de l'environnement représentée par les excès nutritionnels, la pollution, le stress social, et la sédentarité.

Afin de pallier l'ignorance des causes précises des maladies métaboliques des stratégies palliatives visant à traiter les déficits cellulaires fonctionnels ont alors été mises en place. Des stratégies actuelles, basées sur la découverte du rôle d'hormones intestinales appelées incrétines tel que le glucagon like-peptide 1 (GLP-1) [2] et le gastric inhibitory polypeptide (GIP) [3], ont montré des effets très prometteurs sur la prise charge de la glycémie du diabétique. En effet, ces hormones produites par l'intestin au cours d'un repas stimulent la sécrétion d'insuline en réponse à l'hyperglycémie [4]. Sur la base de cet effet appelé incrétine nous pouvons suggérer que l'intestin soit une source, jusqu'à lors négligée, de paradigmes physiologiques qui permettraient un contrôle plus intégré de la glycémie et une efficacité thérapeutique supérieure aux stratégies actuelles.

Au cours de ces quinze dernières années nous avons travaillé sur deux concepts différents issus du fonctionnement de l'intestin et très en amont de la prise en charge directe de l'hyperglycémie. Tout d'abord l'identification du rôle des systèmes de détection entérique du glucose puis celui de la flore intestinale.

LES DÉTECTEURS DE GLUCOSE (OU SENSEURS DE GLUCOSE) DANS LE CONTRÔLE DE LA DISTRIBUTION DU GLUCOSE DANS L'ORGANISME : IMPLICATION AU COURS DU DIABÈTE

Lors de la digestion des nutriments par le tube digestif du glucose est produit dans la lumière intestinale puis absorbé par l'épithélium et libéré dans le flux sanguin de la veine porte qui irrigue le foie (Figure1). Ce dernier est le premier organe filtrant les nutriments hydrosolubles tels que les carbohydrates et les acides aminés. Un gradient de concentration de ces nutriments s'établit ainsi entre le sang de la veine porte et l'artère hépatique [5]. Afin que l'organisme identifie le glucose absorbé par l'intestin des mécanismes cellulaires et moléculaires mesurent ce gradient. Des unités cellulaires, dont l'origine pourrait être nerveuse, sont localisées dans l'endothélium de la veine porte et spécialisées dans la détection des variations de concentration glycémique. Une série de mécanismes physiologiques, axés autour du contrôle du rapport insuline/glucagon, se met en place afin de maintenir la glycémie à une valeur physiologique compatible avec les systèmes enzymatiques et de transports relatifs à l'utilisation du glucose par les cellules. En effet, des variations trop importantes de la concentration du glucose sanguin ne pourraient être détectées par les gluco-détecteurs car les caractéristiques physicochimiques, structurelles et enzymatiques des protéines impliquées dans la détection du glucose sont adaptées à des variations physiologiques de la glycémie. Ainsi, l'hyperglycémie pathologique pourrait entraîner des réactions parasites telles que des glycations aléatoires des protéines (addition de résidus sucrés sur les protéines) et ainsi induire un dysfonctionnement moléculaire délétère pour de nombreuses cellules.

Les glucodétecteurs de la veine porte existent à proximité des terminaisons nerveuses innervant l'endothélium portal [5]. La présence de glucose est détectée par ces cellules ce qui conduit à une activation du nerf vague. Ce dernier véhicule l'information nutritionnelle vers des groupes de cellules nerveuses du tronc cérébral tels que le noyau du tractus solitaire [6]. Cependant, les mécanismes moléculaires responsables de la détection de l'hyperglycémie par ces cellules n'étaient pas décrits. Afin de les identifier nous avons mis au point une technique unique au monde qui consiste, chez la souris éveillée, en une perfusion de glucose à un débit très faible dans la veine porte afin d'activer les systèmes de détection du glucose sans modifier la glycémie [7]. Dans ces conditions l'activation du détecteur du glucose de la veine porte induit un signal nerveux dirigé vers le cerveau puis redistribué vers les vaisseaux et les muscles squelettiques [7]. Cette activation augmente la capture du glucose par les cellules musculaires ce qui provoque une

baisse de la glycémie [7]. Cette baisse associée à l'activation des détecteurs de glucose de la veine porte aboutit en fonction de la durée d'activation, à une hypoglycémie

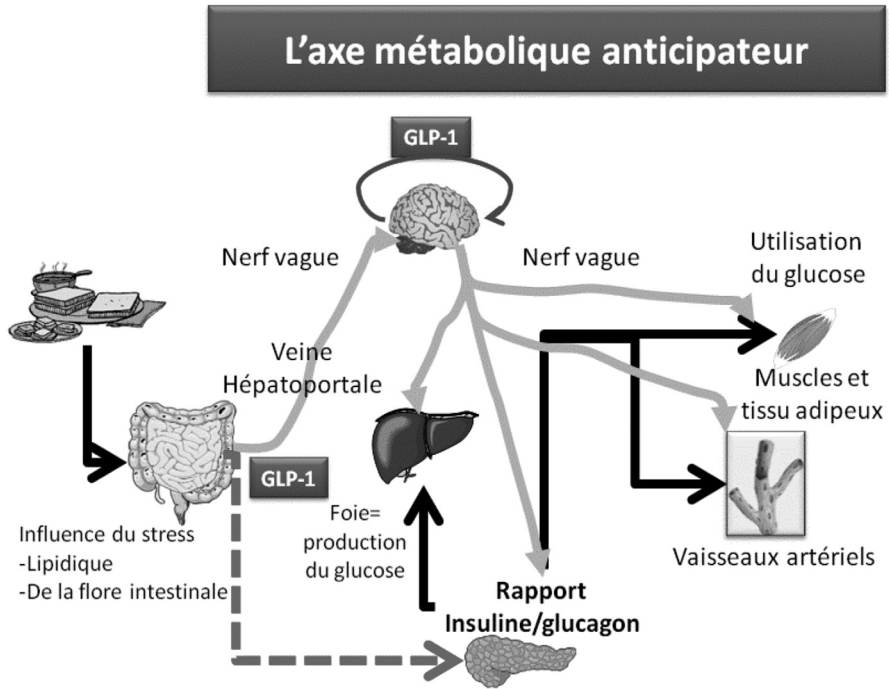


FIGURE 1. — Le réflexe anticipateur

En réponse à l'absorption du glucose, et bien avant que l'hyperglycémie systémique se mette en place, un signal nerveux est produit par des cellules neuronales au voisinage de la veine porte (flèches claires). Ce signal est transmis au cerveau via le nerf vague. Il est renforcé par la libération, au cours d'un repas, d'une hormone intestinale, le GLP-1, dans la veine porte. Celle-ci contribue à l'activation des détecteurs de la veine porte et donc renforce le message nerveux efférent. Le cerveau collecte ces données et génère un nouveau signal d'autoamplification qui dépend également de la présence du GLP-1 dans le cerveau. Enfin, un signal efférent est dirigé vers les tissus périphériques. Parmi ceux-ci, les artères périphériques sont ciblées et les fonctions vasomotrices altérées. Le flux de nutriment étant alors réduit de manière contiguë à la réduction du flux sanguin, ceci contribuerait à diminuer l'utilisation du glucose par les muscles. Le message cérébral neveu est également adressé au pancréas endocrine, où il régule la sécrétion d'insuline et de glucagon, et aux muscles, où il régule l'utilisation du glucose. Le GLP-1, lorsqu'il est produit par dans la veine porte peut également atteindre le pancréas par l'artère correspondante (flèche en pointillés) et contribuer à augmenter la sécrétion d'insuline. Cependant, la concentration de GLP-1 de l'artère mésentérique est fortement réduite. Au cours du diabète, ce qui constitue un cas d'activation excessive des détecteurs de glucose de la veine porte la surproduction de GLP-1 cérébrale aboutit à une diminution de l'utilisation du glucose par les muscles et ainsi une insulino-résistance musculaire. Cet effet est le témoin des prémices du diabète. En réponse à un stress nutritionnel, notamment un repas riche en graisse, les lipides et la flore intestinale pourraient être les mécanismes par lesquels la suractivation de l'axe réflexe métabolique soit initiée ce qui aboutirait à un déséquilibre de la glycémie.

pouvant être considérée comme paradoxale car induite par une perfusion de glucose. En effet, une perfusion similaire de glucose par voie systémique, cette fois-ci, induirait une hyperglycémie. Nous avons interprété ces données en proposant que les gluco-détecteurs initient un « arc réflexe anticipateur » qui permet aux cellules périphériques de se préparer à l'arrivée massive des nutriments. Afin d'identifier les systèmes moléculaires impliqués dans la détection du glucose par les cellules de la veine porte nous avons réalisé la même expérience chez des souris porteuses d'une mutation invalidant le gène du transporteur de glucose GLUT2 [8, 9]. La délétion de ce gène dans les cellules bêta pancréatiques sécrétrices d'insuline abolissait la sécrétion de l'hormone en réponse au glucose, ce qui démontrait son rôle dans la détection du glucose par les cellules pancréatiques [10]. Nous avons ainsi suggéré que GLUT2 contribuait également à la détection du glucose par les cellules de la veine porte. Chez les souris mutantes la perfusion de glucose dans la veine porte n'activait pas les détecteur de glucose ce qui se traduisait par une hyperglycémie plutôt qu'une hypoglycémie comme observée chez les souris témoins. Comme précisé plus haut, un des mécanismes particulièrement important de la régulation de la glycémie est issu de la physiologie de l'hormone Glucagon-like peptide one (GLP-1). Cette hormone est libérée par les cellules L intestinales dans le sang portal. En se fixant sur le récepteur des cellules bêta pancréatiques des îlots de Langerhans, le GLP-1 stimule la sécrétion d'insuline en réponse au glucose ce qui démontre l'effet du GLP-1 sur le système de détection de la cellule bêta pancréatique. Sur la base de ces effets cellulaires nous avons suggéré que le récepteur au GLP-1 était essentiel à la détection du glucose par le senseur porte et avons réalisé les mêmes expériences de perfusion portale du glucose chez des souris dépourvues du récepteur au GLP-1 (Figure 1) [9]. Chez ces souris mutantes et dans ces conditions de perfusion de glucose par la veine porte une hyperglycémie était observée alors qu'une hypoglycémie était obtenue chez les souris témoins validant ainsi le rôle du récepteur au GLP-1 dans l'activation du gluco-détecteur entérique [9].

D'autre part nous avons également montré que l'activation du réflexe anticipateur conduisait à une augmentation de la capture du glucose par le muscle squelettique. En utilisant l'approche expérimentale citée ci-dessus nous avons pu démontrer que l'AMP-activated kinase et que le transporteur de glucose GLUT4 étaient responsables de l'utilisation du glucose par le muscle en réponse à l'activation du détecteur de glucose porte [11]. Un point important était que cet arc réflexe issu de la veine porte et conduisant à l'augmentation de l'utilisation du glucose par les muscles ne recrutait pas le récepteur de l'insuline présent sur les cellules musculaires. Ainsi, l'insuline n'était pas mise en jeu. L'identification de ces mécanismes moléculaires indépendants du récepteur de l'insuline ouvrait une nouvelle voie thérapeutique. L'activation du senseur porte pourrait alors contourner l'insulino-résistance en stimulant une voie d'utilisation du glucose par les muscles qui soit indépendante de l'action de l'insuline ce qui permettrait ainsi de diminuer l'hyperglycémie du diabétique.

Une question pertinente consistait à déterminer les mécanismes permettant au signal intestinal, issu de la détection du glucose par les senseurs entériques, d'activer les mécanismes moléculaires musculaires cités ci-dessus. Nous savions d'après les travaux d'Adachi [6] que le système nerveux entérique était connecté au tronc cérébral par le nerf vague. Nous avons analysé les effets d'une perfusion à très faible débit de glucose dans l'intestin et montré que celle-ci induisait une activation de cellules nerveuses de régions très précises du cerveau tel que le noyau du tractus solitaire et les noyaux arqués, latéraux, et ventromédians de l'hypothalamus [12], ce qui démontrait la relation entre l'intestin et le cerveau. Nous avons suggéré que ce réflexe anticipateur pouvait être altéré au cours du diabète. Chez la souris le diabète peut être induit par un régime gras ce qui entraîne une altération de l'axe intestin cerveau [13] et pourrait ainsi correspondre aux premiers événements responsables du développement du diabète en réponse à un déséquilibre nutritionnel. Pour identifier les mécanismes moléculaires impliqués au cours de l'apparition d'un diabète suite à un régime gras nous avons étudié le rôle du récepteur au GLP-1. En effet, les travaux de la littérature montraient que le blocage du récepteur au GLP-1 cérébral par un antagoniste augmentait la prise alimentaire [14] et contrôlait également plusieurs fonctions physiologiques périphériques telles que la production hépatique de glucose et la sécrétion d'insuline [15, 16]. Nous montrions alors dans notre modèle animal et par notre approche de perfusion intragastrique de glucose que cette connexion entre l'intestin et le cerveau était abolie lorsqu'un antagoniste du récepteur au GLP-1 était administré aux souris préalablement à la perfusion intragastrique de glucose. Le GLP-1 est également produit par le cerveau lors d'une charge orale en glucose [15]. Celui-ci active l'axe entéro-cérébral responsable de la sécrétion d'insuline et du contrôle du métabolisme hépatique [15]. Ainsi, le blocage de l'action du GLP-1 cérébral par un antagoniste du récepteur réduisait la sécrétion d'insuline en réponse au glucose alors que simultanément l'utilisation du glucose par les muscles était augmentée. Ces observations démontrent que le GLP-1 cérébral joue un rôle d'interrupteur métabolique en répartissant le glucose issu de l'alimentation vers différents organes pour favoriser ainsi le stockage du glucose par le foie [15]. Ce mécanisme très important permet à l'organisme, au cours de la prise alimentaire, de stocker du glucose dans le foie, qui est par ailleurs le seul organe capable de produire des quantités suffisantes de glucose pour nourrir l'ensemble des tissus de l'organisme au cours du jeûne. La découverte de ce mécanisme physiologique était associée à l'observation que le GLP-1 induisait une vasoconstriction des artères périphériques telles que l'artère fémorale [17, 18]. Cette réduction du flux sanguin diminuait alors la quantité de glucose arrivant aux tissus musculaires et donc favorisait par défaut, l'apport en glucose vers le foie [15, 19]. Nous avons ainsi suggéré qu'au cours du diabète une activation excessive de cet axe cerveau-pancréas pouvait être à l'origine de l'insulino-résistance. Nous avons testé cette hypothèse et montré que la sur-activation du récepteur au GLP-1 cérébral induisait une insulino-résistance périphérique [13]. Par des approches génétiques et pharmacologiques nous avons montré que ces mécanismes moléculaires, liés à la signalisation du GLP-1 dans le cerveau, impliquaient le contrôle de la production d'oxyde nitrique et

dès lors la réduction du stress oxydant (Figure 1). Ainsi, une prise alimentaire excessive induisant une libération trop importante et répétée de GLP-1 dans le cerveau peut être considérée comme un mécanisme initiateur du diabète dû à un régime trop riche en graisses ce qui altère la fonctionnalité de cet axe [12, 13]. Les mécanismes moléculaires correspondants pourraient être associés à un stress lipidique de la cellule épithéliale intestinale. En effet, une perfusion de vingt-quatre heures de lipides induit une peroxydation importante des protéines des entérocytes [20] ce qui conduirait à une reconnaissance anormale du glucose entérique et une activation altérée du réflexe anticipateur.

LA FLORE INTESTINALE, UN MÉCANISME INNOVANT CONTRÔLANT LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE

Les maladies métaboliques diabète et obésité sont associées à une réaction inflammatoire tissulaire de bas niveau et définies comme suit [21, 22]. La concentration de cytokines telles que les interleukines 1β et 6, le $TNF\alpha$, et le PAI-1 est légèrement augmentée dans le sang circulant ce qui témoignerait d'un état inflammatoire de bas niveau. D'autre part des cellules du système immunitaire inné et acquis, notamment les lymphocytes [23], envahissent les tissus et parmi eux le tissu adipeux, le muscle et le foie [24]. En présence d'antigènes, ces derniers étant mal définis, les cellules immunitaires y sécrètent des cytokines inflammatoires dont l'action moléculaire a, entre autres conséquences, d'inactiver le récepteur à l'insuline du muscle et du foie. Cet effet moléculaire contribue à la réduction de l'utilisation du glucose par ces tissus notamment au cours d'un repas [25, 26] (Figure 2). Cette insulino-résistance induite par les cytokines inflammatoires est donc une composante confondante de l'induction du diabète. Une question essentielle concerne l'origine des antigènes qui déclenchent cette réaction inflammatoire métabolique. Pour répondre à cette question nous avons étudié des souris rendues diabétiques par un régime riche en graisses et montrons que ce régime induit un changement profond de l'écologie de la flore intestinale [27]. Ce changement se traduit par une augmentation de l'absorption intestinale d'antigènes bactériens dans le sang circulant tels que les Lipopolysaccharides, ce qui définit une « Endotoxémie Métabolique ». La causalité de ces facteurs bactériens dans l'induction du diabète a été montrée en utilisant des souris dépourvues des gènes dont les protéines correspondantes composent le récepteur aux LPS que sont le CD14 [28] et le TLR4 [29]. Ces souris mutantes ne développaient pas le diabète ni même l'obésité lorsqu'elles étaient nourries par un régime gras. De manière importante la stéatose hépatique et le développement du tissu adipeux étaient aussi totalement prévenues chez ces souris. Inversement, la perfusion continue pendant un mois de faibles débits de LPS par voie sous cutanée induisaient une endotoxémie métabolique constitutive ce qui générerait l'ensemble des caractéristiques métaboliques liées au développement du diabète, telles que l'intolérance au glucose, l'insulino-résistance hépatique et le stockage des lipides dans le foie.

Flore intestinale: un facteur de risque des maladies métaboliques

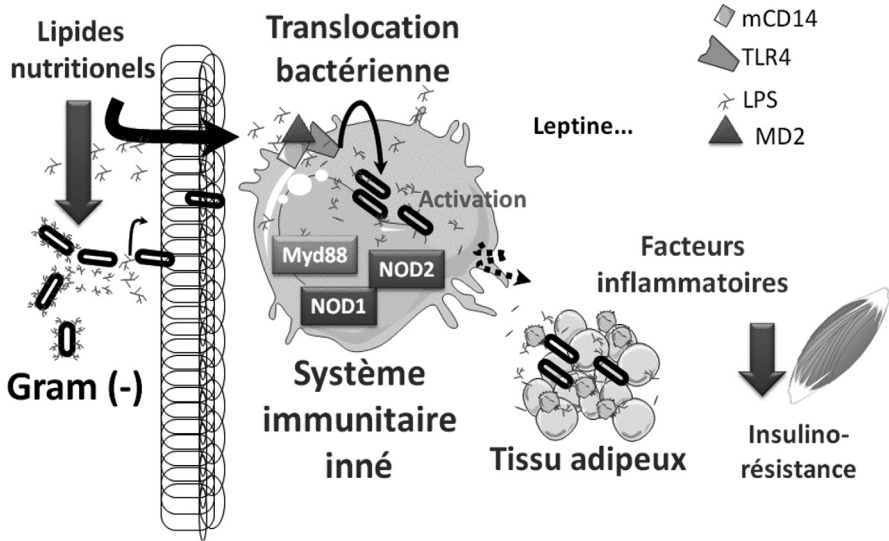


Figure 2 : La flore intestinale : un facteur de risque du développement du diabète

Un régime riche en graisses change la flore intestinale ce qui contribue au passage de facteurs bactériens de type Lipopolysaccharides dans le sang. Ces derniers déclenchent une réaction inflammatoire en activant les cellules immunitaires de l'intestin, puis du stroma vasculaire des dépôts adipeux et du foie. Les cytokines générées induisent une insulino-résistance et le développement du tissu adipeux. Des bactéries entières peuvent être transloquées par des cellules immunitaires jusqu'aux tissus. Des récepteurs (NOD1/NOD2/ TLR4/mCD14/MD2) reconnaissent les déterminants bactériens ce qui active l'adaptateur Myd88 et contribue à l'initiation de la production de cytokines inflammatoires. La leptine contribuerait à la régulation du système immunitaire et donc au contrôle de la réaction immunoinflammatoire prodiabétogène.

Ces résultats démontraient la causalité moléculaire de ces LPS dans l'initiation de la maladie métabolique. Dès lors les LPS sont considérés comme des vecteurs moléculaires capables d'initier la réaction inflammatoire et ainsi l'insulino-résistance, puis le diabète. Pour conforter cette découverte, nous avons manipulé la flore intestinale à l'aide de fibres alimentaires ou d'antibiotiques et montré que le statut du métabolisme énergétique variait en fonction des changements de flore intestinale [30-32]. Le régime diabétogène réduisait notamment le nombre de Bifidobactéries or le traitement de ces souris par des fibres alimentaires inversait le processus. Ainsi, la proportion de Bifidobactéries intestinales était restaurée de manière concomitante avec l'amélioration métabolique [27]. Enfin, la réplétion

intestinale en Bifidobactéries par un traitement quotidien aux probiotiques *Bifidobacterium lactis* B420 améliorerait l'équilibre métabolique et particulièrement l'insulino-résistance et ainsi le contrôle glycémique [20]. Les effets métaboliques étaient associés à la réduction de l'inflammation métabolique. Le rôle de la flore intestinale dans le contrôle du poids a également été démontré chez des souris *ob/ob* dépourvues du gène de la leptine. Ce défaut moléculaire provoque un changement de l'écologie de la flore intestinale avec notamment une augmentation du nombre des bactéries appartenant au phylum des Firmicutes et une diminution de celles appartenant aux Bacteroidetes [33]. Ce changement d'écologie microbienne conférerait à l'organisme la capacité de dégrader plus efficacement les fibres intestinales et favorisait ainsi la récupération énergétique par l'hôte et donc l'augmentation du poids. Cette hypothèse n'expliquait cependant pas l'endotoxémie métabolique et les mécanismes moléculaires de l'inflammation associée. Or nous avons récemment observé qu'un régime gras, ainsi que l'absence de leptine augmentait l'adhérence de certains groupes bactériens à la muqueuse intestinale notamment de l'iléon [20]. Les cellules du système immunitaire inné, tel que les cellules dendritiques, phagocytent les bactéries adhérant à la muqueuse puis les transportent vers les ganglions mésentériques et le stroma vasculaire du tissu adipeux et du foie. L'arrivée des antigènes bactériens dans les tissus induit une réaction inflammatoire qui pourrait contribuer à l'insulino-résistance et le développement du tissu adipeux. Les récepteurs aux fragments bactériens tel que le CD14 (récepteur aux LPS), le Nuclear Oligomerization Domain 1 (NOD1) contrôlent la translocation bactérienne et favorisent l'induction du diabète par un régime gras. La régulation de ce processus de translocation bactérienne était également contrôlée par une hormone adipocytaire, la leptine [20]. Des résultats supplémentaires de notre laboratoire montraient qu'un gavage quotidien par un probiotique génétiquement modifié, afin de produire de l'hormone directement dans l'intestin, réduisait l'impact d'un régime gras sur le développement du diabète et de l'obésité [20]. Les mécanismes moléculaires par lesquels la leptine contrôle la translocation bactérienne ne sont pas connus mais pourraient être en relation avec l'effet de l'hormone sur la maturation du système immunitaire.

PERSPECTIVES

L'ensemble de ces arguments récents de la littérature met en évidence que les maladies métaboliques sont liées à une association en combinaisons variables de nombreux facteurs environnementaux qui favorisent la réaction inflammatoire métabolique. Ces facteurs environnementaux sont également dépendants de facteurs génétiques qui peuvent favoriser ou protéger contre les maladies métaboliques. Ainsi, l'identification des antigènes, probablement d'origine bactérienne, et la compréhension des mécanismes immunologiques impliqués dans la reconnaissance de ces antigènes et dans l'induction de la réaction inflammatoire métabolique devraient permettre l'émergence de nouvelles stratégies thérapeutiques. Ces dernières vise-

raient à prévenir le développement des maladies métaboliques et à leur traitement une fois établies.

CONCLUSIONS

La compréhension du rôle de l'intestin en tant qu'organe clé de la répartition de l'information nutritionnelle pour la distribution du glucose vers les tissus effecteurs est maintenant un concept acquis. La compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans cette reconnaissance des nutriments et dans la transmission du signal vers la périphérie est une base importante qui permettra de découvrir de nouvelles stratégies thérapeutiques. Le rôle des incrétines dans l'axe intestin cerveau en est une illustration pragmatique puisque plusieurs stratégies pharmacologiques antidiabétiques sont actuellement sur le marché. Enfin, l'émergence importante du rôle de la flore intestinale sur le contrôle glycémique est une innovation conceptuelle majeure. Les fonctions de plus de trois millions de gènes bactériens sont à découvrir ce qui représente une source majeure de futures hypothèses relatives au contrôle glycémique. Un nouvel espoir existe concernant la prévention et le traitement des maladies métaboliques. Des stratégies basées sur l'utilisation de pré et probiotiques, ou même de vaccins, devraient voir le jour ces prochaines années. Ces solutions très sécuritaires pourront apporter des réponses aux inquiétudes liées à la pharmacologie actuelle.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SPELIOTES E.K., *et al.* — Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nature genetics*, 2010, 42, 937-948.
- [2] HOLST J.J. — The Physiology of Glucagon-like Peptide 1. *Physiol. Rev.*, 2007, 87, 1409-1439.
- [3] DRUCKER D.J. — The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J. Clin. Invest.*, 2007, 117, 24-32.
- [4] BURCELIN R. — The incretins: a link between nutrients and well-being. *The British journal of nutrition*, 2005, 93 Suppl 1, S147-156.
- [5] BURCELIN R. — Apollinaire Bouchardat prize 2003. Glycemic equilibrium and glucose detection. *Journ. Annu. Diabetol. Hotel Dieu*, 2003, 37-52.
- [6] ADACHI A., SHIMIZU N., OOMURA Y., KOBASHI M. — Convergence of hepatoportal glucose-sensitive afferent signals to glucose-sensitive units within the nucleus of the solitary tract. *Neuroscience Letters*, 1984, 46, 215-218.
- [7] BURCELIN R., DOLCI W., THORENS B. — Portal glucose infusion in the mouse induces hypoglycemia. Evidence that the hepatoportal glucose sensor stimulates glucose utilization. *Diabetes*, 2000, 49, 1635-1642.
- [8] BURCELIN R., DOLCI W., THORENS B. — Glucose sensing by the hepatoportal sensor is GLUT2-dependent: *in vivo* analysis in GLUT2-null mice. *Diabetes*, 2000, 49, 1643-1648.

- [9] BURCELIN R., DA COSTA A., DRUCKER D., THORENS B. — Glucose competence of the hepatoportal vein sensor requires the presence of an activated glucagon-like peptide-1 receptor. *Diabetes*, 2001, 50, 1720-1728.
- [10] GUILLAM M., HUMMLER E., SCHAERER E., YEH J., BIRNBAUM M., BEERMANNF., *et al.* — Early diabetes and abnormal postnatal pancreatic islet development in mice lacking Glut2. *Nature genetics*, 1997, 17, 327-330.
- [11] BURCELIN R., CRIVELLI V., PERRIN C., DA COSTA A., MU J., KAHN B.B., *et al.* — GLUT4, AMP kinase, but not the insulin receptor, are required for hepatoportal glucose sensor-stimulated muscle glucose utilization. *J. Clin. Invest.*, 2003, 111, 1555-1562.
- [12] KNAUF C., CANI P.D., KIM D.H., IGLESIAS M.A., CHABO C., WAGETA., *et al.* — Role of central nervous system glucagon-like Peptide-1 receptors in enteric glucose sensing. *Diabetes*, 2008, 57, 2603-2612.
- [13] KNAUF C., CANI P.D., AIT-BELGNAOUI A., BENANI A., DRAY C., CABOU C., *et al.* — Brain glucagon-like peptide 1 signaling controls the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and reduces energy expenditure. *Endocrinology*, 2008, 149, 4768-4777.
- [14] TURTON M.D., O'SHEA D., GUNN I., BEAK S.A., EDWARDS C.M., MEERANK., *et al.* — A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, 1996, 379, 69-72.
- [15] KNAUF C., CANI P., PERRIN C., IGLESIAS M., MAURY J., BERNARD E., *et al.* — Brain Glucagon-Like Peptide-1 increases insulin secretion and muscle insulin resistance to favor hepatic glycogen storage. *J. Clin. Invest.*, 2005, 115, 3554-3563.
- [16] SANDOVAL D.A., BAGNOL D., WOODS S.C., D'ALESSIO D.A., SEELEY R.J. — Arcuate GLP-1 receptors regulate glucose homeostasis but not food intake. *Diabetes*, 2008, 57, 2046-2054.
- [17] CABOU C., VACHOUX C., CAMPISTRON G., DRUCKER D.J., BURCELIN R. — Brain GLP-1 signaling regulates femoral artery blood flow and insulin sensitivity through hypothalamic PKC-delta. *Diabetes*, 2011, 60, 2245-2256.
- [18] CABOU C., CANI P.D., CAMPISTRON G., KNAUF C., MATHIEU C., SARTORIC., *et al.* — Central insulin regulates heart rate and arterial blood flow: an endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism altered during diabetes. *Diabetes*, 2007, 56, 2872-2877.
- [19] DUPLAIN H., BURCELIN R., SARTORI C., COOK S., EGLI M., LEPORIM., *et al.* — Insulin resistance, hyperlipidemia and hypertension in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, 2001, 104, 342-345.
- [20] AMAR J., CHABO C., WAGET A., KLOPP P., VACHOUX C., BERMUDEZ-HUMARAN L.G., *et al.* — Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol. Med.*, 2011, 3, 559-572.
- [21] HOTAMISIGIL G.S. — Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 2006, 444, 860-867.
- [22] SHOELSON S.E., LEE J., GOLDFINE A.B. — Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 2006, 116, 1793-1801.
- [23] WINER S., CHAN Y., PALTZER G., TRUONG D., TSUI H., BAHRAMI J., *et al.* — Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat. Med.*, 2009, 15, 921-929.
- [24] WEISBERG S.P., MCCANN D., DESAI M., ROSENBAUM M., LEIBEL R.L., FERRANTE A.W. Jr. — Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, 2003, 112, 1796-1808.
- [25] WINER D.A., WINER S., SHEN L., WADIA P.P., YANTHA J., PALTSENG., *et al.* — B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat. Med.*, 2011, 17, 610-617.
- [26] ARKAN M.C., HEVENER A.L., GRETEN F.R., MAEDA S., LI Z.W., LONG J.M., *et al.* — IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat. Med.*, 2005, 11, 191-198.

- [27] CANI P.D., NEYRINCK A.M., FAVA F., KNAUF C., BURCELIN R.G., TUOHY K.M., *et al.* — Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*, 2007, 50, 2374-2383.
- [28] CANI P.D., AMAR J., IGLESIAS M.A., POGGI M., KNAUF C., BASTELICAD., *et al.* — Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 2007, 56, 1761-1772.
- [29] POGGI M., BASTELICA D., GUAL P., IGLESIAS M.A., GREMEAUX T., KNAUFC., *et al.* — C3H/HeJ mice carrying a toll-like receptor 4 mutation are protected against the development of insulin resistance in white adipose tissue in response to a high-fat diet. *Diabetologia*, 2007, 50, 1267-1276.
- [30] CANI P.D., BIBILONI R., KNAUF C., WAGET A., NEYRINCK A.M., DELZENNE N., *et al.* — Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 2008, 57, 1470-1481.
- [31] MEMBREZ M., BLANCHER F., JAQUET M., BIBILONI R., CANI P.D., BURCELIN R., *et al.* — Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J.*, 2008, 22, 2416-26.
- [32] AMAR J., BURCELIN R., RUIDAVETS J.B., CANI P.D., FAUVEL J., ALESSI M.C., *et al.* — Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008, 87, 1219-1223.
- [33] GILL S.R., POP M., DEBOY R.T., ECKBURG P.B., TURNBAUGH P.J., SAMUEL B.S., *et al.* — Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 2006, 312, 1355-1359.