



HAL
open science

Impact des fibres alimentaires et des acides gras à chaîne courte sur le dialogue tube digestif, foie et tissus périphériques, dans le cadre d'une surnutrition.

Ahmed Ben Mohamed

► To cite this version:

Ahmed Ben Mohamed. Impact des fibres alimentaires et des acides gras à chaîne courte sur le dialogue tube digestif, foie et tissus périphériques, dans le cadre d'une surnutrition.. Sciences agricoles. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2018. Français. NNT : 2018CLFAS026 . tel-02997961

HAL Id: tel-02997961

<https://theses.hal.science/tel-02997961>

Submitted on 10 Nov 2020

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

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

*ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE,
AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT*

Thèse

Présentée à l'Université d'Auvergne
Pour l'obtention du grade de Docteur d'Université

Spécialité Nutrition humaine et santé

Soutenue le 6 Décembre 2018

Par

MOHAMED Ahmed Ben

**Impact des fibres alimentaires et des acides gras à chaîne
courte sur le dialogue tube digestif, foie et tissus périphériques,
dans le cadre d'une surnutrition.**

Rapporteurs :

Mme Dominique **HERMIER**, Directeur de Recherche, INRA Unité PNCA-AgroParisTech, Paris
M. Christophe **MOINARD**, Professeur, Université de Grenoble-Alpes
Mme Muriel **THOMAS**, Directeur de Recherche, INRA Unité MICALIS, Paris

Membres :

M. Yves **BOIRIE**, Professeur, Université d'Auvergne, UNH, Clermont-Ferrand
Mme Fabienne **LAUGERETTE**, Maître de Conférences, Unité CarMeN-IUT Lyon 1
M. Didier **REMOND**, Directeur de Recherche, INRA UNH, Clermont-Ferrand
Mme Isabelle **SAVARY-AUZELOUX**, Chargée de Recherche, INRA UNH, Clermont-Ferrand

Directeur de thèse : Didier **REMOND**

Encadrant de thèse : Isabelle **SAVARY-AUZELOUX**

Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019
INRA, Centre de Clermont-Ferrand/Theix
63122 Saint Genès Champanelle

Résumé

Une des causes de l'augmentation de la prévalence de l'obésité et des maladies chroniques au niveau mondial (notamment dans les pays occidentaux) est la consommation de régimes hypercaloriques. A l'inverse la consommation d'un régime riche en fibres alimentaires est favorable à une bonne santé. Or la consommation de fibres alimentaires dans les pays occidentaux (20 g/j en France) est inférieure aux recommandations alimentaires préconisées par les organismes de santé (30 g/j). Un des moyens possibles d'augmenter l'ingestion des fibres est la mise à disposition d'aliments enrichis en fibres, et en particulier de fibres capables d'impacter favorablement sur la santé métabolique (les fibres fermentescibles). L'objectif de ma thèse a donc été de déterminer si, chez des mini-porcs en situation de surnutrition, une supplémentation en un mélange de fibres fermentescibles incluses dans un aliment de consommation courante (le pain) était capable de limiter l'apparition des désordres métaboliques associés au développement de l'obésité. Quatorze mini-porcs femelles ont été nourries 2 mois avec un régime en surnutrition enrichi en saccharose (10% p/p) et huile de palme (10% p/p) supplémenté ou non avec un mélange de fibres (25 g/j, pectine, inuline et amidons résistants) incluses dans un pain (250 g/j). Les animaux ont été cathétérisés au niveau intestinal et hépatique pour mesurer les flux nets splanchniques de nutriments durant l'adaptation aux régimes expérimentaux. Des fèces ont été prélevés pour analyser le microbiote et son activité. A l'euthanasie des animaux (après 56 jours de traitement nutritionnel), des tissus (jéjunum, caecum, foie, muscle, tissu adipeux) ont été prélevés pour un phénotypage métabolique (histologie, transcrits de gènes, protéomique).

Nous avons mis en évidence que la supplémentation en fibres fermentescibles, après 2 mois de surnutrition, permettait de limiter la prise de poids corporelle, l'accumulation de gouttelettes lipidiques dans le foie et stimulait l'activité oxydative des tissus périphériques (comme le muscle). La moindre accumulation de gouttelettes lipidiques dans le foie est associée à une réduction de l'entrée des lipides (Fabp1) et une baisse probable de la lipogenèse (Srebp-1c). Ce mécanisme, confirmé par l'analyse des flux de nutriments, a induit une augmentation de la biodisponibilité en nutriments énergétiques vers les tissus périphériques. Les nutriments en excès sont pris en charge par le muscle via une augmentation de l'activité oxydative (\uparrow ARNm Pgc1 α , Ppar α , Nrf2, Acox, Ucp2, sdha, Cpt1-m). Ces modulations de dialogue foie-muscle avec la supplémentation en fibres pourrait passer par GLP1 et/ou GLP2 synthétisés par les cellules L de l'intestin (\uparrow ARNm de GCG jéjunum) et par une stimulation de la signalisation par les acides gras à chaîne courte (AGCC) dans le caecum (\uparrow ARNm GPR41) mais probablement pas par une action directe des AGCC sur les tissus périphériques. Ces résultats montrent donc une amélioration du profil métabolique des mini-porcs en surnutrition lors de la supplémentation en fibres alimentaires fermentescibles via une réorganisation de l'utilisation des nutriments entre le foie et les tissus périphériques et une adaptation de leurs activités métaboliques. La quantité de fibres et de pain supplémentées dans notre étude, raisonnable, permet d'envisager une étude chez l'homme pour valider ces concepts et la stratégie nutritionnelle.

Mots clés : Fibre fermentescible, acide gras chaîne courte, foie, muscle, tissu adipeux, obésité

Abstract

Hypercaloric diets are one of the causes of the increased obesity prevalence worldwide (and particularly in western countries). Conversely, dietary fibers consumption is associated with a better health status. Yet, dietary fibers consumption in western countries (20 g/d in France) is below the values of dietary fiber intake recommended by health care organizations (30 g/d). One of the ways to increase fiber intake in populations is to supply fiber-enriched foodstuffs, and particularly food products enriched with fibers capable to improve metabolic health (i.e. fermentable fibers). The aim of this thesis was to determine if, in overfed minipigs, dietary fermentable fibers supplementation included in a regularly consumed food (i.e. bread), was capable to limit the obesity-linked metabolic disorders induced by overfeeding. Fourteen female minipigs were overfed for 2 months with a diet supplemented with sucrose (10% w/w) and palm oil (10% w/w) associated with a supplementation (or not) of fibers (25 g/d, pectin, inulin & resistant starch) included in a specially designed bread (250 g/d ingested). Animals were multicatheterized at the gut and hepatic levels for net splanchnic nutrients fluxes measurements over the experimental period. Feces were also sampled for microbiota composition and activity analysis. Animals were euthanized after 56 days of nutritional treatment and tissues sampled (caecum, jejunum, liver, muscle, adipose) for metabolic phenotyping (histology, qRT-PCR, proteomics).

We have shown that fermentable fibers supplementation, in a situation of overnutrition for 56 days, was capable to limit body weight gain and lipids droplets accumulation in the liver. We also observed a stimulation of the oxidative capacity in peripheral tissues (particularly the muscle). The decreased lipids droplets accumulation within the liver was due to a decreased entry of lipids (Fabp1) and a probable decreased lipogenesis (Srebp-1c). This mechanism, confirmed by the analysis of net nutrients fluxes, induced an increased bioavailability of energy nutrients to peripheral tissues. This excess of nutrients was handled by the muscle that increased its oxidative capacity (\uparrow mRNA Pgc1 α , Ppar α , Nrf2, Acox, Ucp2, sdha, Cpt1-m). This altered liver-muscle cross talk could be regulated by an increased release of GLP1 and / or GLP2 by intestinal L cells (\uparrow mRNA jejunum GCG) and stimulation of short chain fatty acids receptor (SCFA) GPR41 in caecum (\uparrow mRNA). A direct action of SCFA directly on peripheral tissues is highly improbable. As a conclusion, fermentable fibers supplementation, even during overfeeding, was beneficial for metabolic health via an impact on tissues cross talk and metabolic activities regulations. The next step would be to test a similar nutritional strategy in human being.

Keywords: fermentable fiber, short chain fatty acid, liver, muscle, adipose tissue, obesity.

Publications

1. **Mohamed AB**, D Rémond, C Chambon, T Sayd, M Hebraud, F Capel, B Cohade, N Hafnaoui, D Bechet, C Coudy-Gandilhon, C Migné, J David, D Dardevet, J Doré, S Polakof, I Savary-Auzeloux. A mix of dietary fibers improves lipids handling by the liver of overfed minipigs. **Journal of Nutritional Biochemistry**
2. **Mohamed AB**, D. Rémond, A. Bernalier-Donnadille, F. Capel, D. Dardevet, M. C. Michalski, F. Laugurette, B. Cohade, N. Hafnaoui, D. Béchet, C. Coudy-Gandilhon, C. Migné, J. David, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux¹ (2018). A mix of dietary fibers increases mitochondrial activity and lipid oxidation in muscle leading to an activated alanine glucose cycle in overfed mini pigs. *En preparation*
3. Savary-Auzeloux I., **Mohamed A.B.**, Cohade B., Dardevet D., David J., Hafnaoui N., Migne C., Pujos-Guillot E., Rémond D.¹, Polakof S. Overfeeding of Yucatan mini pigs altered greatly the net energy and nitrogen metabolites fluxes within and between the splanchnic and peripheral tissues to limit hyperglycemia. **Nutrients**

Communications orales

1. A. B. Mohamed, D. Rémond, G. Della-Valle, H. Chiron, B. Cohade, J. David, D. Dardevet, J. Doré, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux. **Les fibres alimentaires solubles, en surnutrition, ralentissent la prise de poids et modulent le captage et le relargage des métabolites dans le foie.** Journée Scientifique du CRNH Auvergne 2016, Clermont-Ferrand, France.
2. A. B. Mohamed, D. Rémond, G. Della-Valle, H. Chiron, B. Cohade, J. David, D. Dardevet, J. Doré, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux. **Fibres alimentaires associées à la surnutrition chez le mini porc : quels effets sur l'activité métabolique des tissus et quel impact in fine sur la santé ?** Journée Scientifique du CRNH Auvergne 2017, Clermont-Ferrand, France.
3. A. B. Mohamed, D. Rémond, C. Chambon, T. Sayd, M. Hebraud, F. Capel, B. Cohade, N. Hafnaoui, D. Béchet, C. Coudy-Gandilhon, C. Migné, J. David, D. Dardevet, J. Doré, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux. **Impact des fibres alimentaires sur la santé, dans le cadre d'une suralimentation : focus sur le foie.** Journée de l'École Doctorale des Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement 2018, Clermont-Ferrand, France.
- 4.

Communications affichées

1. A. B. Mohamed, D. Rémond, G. Della-Valle, H. Chiron, B. Cohade, J. David, D. Dardevet, J. Doré, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux. **Les fibres alimentaires, dans le cadre d'une surnutrition, ralentissent la prise de poids et modulent l'utilisation et le relargage des métabolites dans le foie.** JFN 2016, Montpellier, France
2. A. B. Mohamed, D. Rémond, G. Della-Valle, H. Chiron, B. Cohade, J. David, D. Dardevet, J. Doré, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux. **Les fibres alimentaires, dans le cadre d'une surnutrition, limitent le stockage hépatique des lipides.** JFN 2017, Nantes, France
3. A. B. Mohamed, D. Rémond, C. Chambon, T. Sayd, M. Hebraud, F. Capel, B. Cohade, N. Hafnaoui, D. Béchet, C. Coudy-Gandilhon, C. Migné, J. David, D. Dardevet, J. Doré, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux. **Un mélange de fibres alimentaires limite l'impact de la suralimentation sur le métabolisme hépatique des lipides.** 18ème journée scientifique de l'IMBL Lipides Nutrition & Santé 2018, Clermont-Ferrand, France
4. A. B. Mohamed, D. Rémond, A. Bernalier-Donnadille, F. Capel, M. C. Michalski, F. Laugerette, B. Cohade, N. Hafnaoui, D. Béchet, C. Coudy-Gandilhon, C. Migné, J. David, D. Dardevet, S. Polakof, I. Savary-Auzeloux. **A Mix Of Dietary Fermentable Fibers Increases Lipid Oxidation In Muscles And Protects Liver From Lipid Accumulation In Overfed Mini Pig.** 6th World Congress on Targeting Microbiota 2018, Porto, Portugal.

Remerciements

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements aux membres du jury, qui ont accepté de juger ce travail :

M. Yves Boirie (Professeur, Université Clermont-Auvergne, UNH, Clermont-Ferrand) pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être la présidence de mon jury de thèse. Un professeur que je respecte énormément notamment à travers les enseignements dispensés au cours de ma formation universitaire.

M. Christophe Moinard (Professeur à l'Université de Grenoble), *Mme Dominique Hermier*, (Directeur de Recherche, Directeur de Recherche, INRA Unité PNCA-AgroParisTech., Paris), *Mme Muriel Thomas* (Unité Micalis, Paris) pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail.

Mme Fabienne Laugerette, Maître de Conférences à l'unité CaRMen pour avoir accepté d'être membre du jury.

M. Didier Remond, Directeur de Recherches à l'INRA d'avoir dirigé cette thèse ainsi que d'avoir assuré mon encadrement.

Je souhaite également remercier :

M. André Mazur de m'avoir accueilli dans son unité (UNH) ainsi que *M. Pierre Fafournoux*, responsable de l'équipe « iMPROVINg », de m'avoir permis d'effectuer cette thèse au sein de son équipe

Isabelle Savary-Auzeloux, Chargée de recherches à l'INRA et mon encadrante tout au long de cette thèse et qui m'a fait partager son amour pour la recherche et qui a su, ou tout au moins essayé ☺, de m'inculquer la rigueur scientifique. Je la remercie aussi pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'elle m'a prodigués.

Sergio Polakof pour son aide sur les différentes expérimentations animales et à l'avancée des travaux au cours de cette période.

Dominique Dardevet pour tous ces conseils, notamment sur la manière de répondre aux questions concernant mon travail de thèse.

Frédéric Capel et *Jean Paul Rigaudière* pour les explication et l'aide qu'ils m'ont apportée lors du dosage des lipides au niveau hépatique et musculaire

Daniel Béchet et *Cécile Coudy-Gandilhon* pour leur aide sur le dosage des gouttelettes lipidiques hépatiques et le phénotypage des fibres musculaires.

Jérémie David d'avoir assuré ma formation sur les techniques utilisées dans l'équipe et plus particulièrement de m'avoir supporté malgré mes erreurs.

Noureddine Hafnaoui, pour le dosage des acides aminés, *Marianne Jarzaguet* et *Caroline Buffiere* pour leur aide sur les dosages des métabolites par le Pentra C400 – HORIBA.

Michel Hebraud, *Christophe Chambon* (Plateforme d'Exploration du Métabolisme (composante protéomique) et de l'unité MEDiS) et *Thierry Sayd* de l'unité Qualité des Produits Animaux (QuaPA) pour leur implication sur les analyses du profil protéique du foie de nos animaux

Estelle Pujos, *Carole Migné*, *Stéphanie Durand* et *Mélanie Petera* (Plateforme d'Exploration du Métabolisme (composante métabolomique), pour m'avoir formé à l'utilisation de la GC-MS et de m'avoir aidé à mettre au point la méthode de dosage des AGCC plasmatiques par GC-MS.

Annick Bernalier-Donnadille et *Eve Delmas* (Unité de Microbiologie Environnement Digestif et Santé) qui nous ont permis de doser les AGCC cœcaux.

Marie-Caroline Michalski et *Fabienne Laugerette* (Unité Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition) pour les nombreuses discussions qu'on a pu avoir concernant le dosage des endotoxines au niveau plasmatique.

Je remercie également :

L'ensemble de l'équipe de MetaGénopolis en particulier *M. Joel Doré* pour sa participation pour la mise en place de ce projet et pour son aide sur les analyses du microbiote intestinal.

L'ensemble des personnes ayant participé aux différents comités de thèse : *François Blachier*, *Hervé Blottiere*, *Marie-Caroline Michalski*, *Didier Remond*, *Sergio Polakof*, pour les discussions qui nous ont permis de faire évoluer ce travail.

Les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail, notamment : *G Della-Valle*, *H Chiron*, *JP Rigaudière*, *C Delhomme*, *J Hermet*, *Benoît Cohade*

Tous les membres de l'équipe iMPROVINg ainsi que toutes les personnes qui m'ont soutenu et encouragé.

J'exprime mes plus sincères remerciements :

A mon père et à ma mère qui ont implanté la graine de la science et de l'apprentissage dans mon cœur, ainsi que leur implication dans mon éducation.

Ma petite sœur d'avoir pris soins de moi depuis la M1 jusqu'à l'obtention de mon doctorat, et qui je ne pourrais jamais remercier assez pour les efforts qu'elle a fourni pour mon bien être.

A tous mes amis, qui mon soutenu durant ma thèse et qui j'ai eu l'honneur de côtoyer depuis la licence 2 (Allison, Benjamin, Fatiha, Mehdi...) ou le master (Dano, Kissi, Nada...).

A tous les profs qui ont attisé la flamme de la science en moi et qui m'ont aidé à atteindre mon objectif. Je pense plus particulièrement à *M. Jean-Marc LOBACCARO* (Professeur, Université Clermont-Auvergne, GReD, Clermont-Ferrand) et à *M. Alain BRUHAT* (Directeur de Recherche, INRA, UNH, Clermont-Ferrand).



Sommaire

<u>Introduction</u>	1
<u>Bibliographie</u>	9
I. Fibres alimentaires	10
I. 1. Définition	12
I. 2. Classification des fibres alimentaires.....	12
I. 2 .1. Caractéristique et méthode de quantification des fibres alimentaires	12
I. 2. 2. Les différents types de fibres	13
I. 2. 3. Caractéristiques physico-chimiques des fibres	22
I. 3. Sources alimentaires des différents types de fibres	28
I. 4. Quelles sont les sources alimentaires vectrices de fibres dans les pays industrialisés ?... 28	
I. 4. 1. Aliments vecteurs de fibres dans les pays industrialisés : données qualitatives	28
I. 4. 2. Aliments vecteurs de fibres dans les pays industrialisés : données quantitatives	30
II. Fibres alimentaires et maladies chroniques	31
II. 1. Obésité	33
II. 1. 1. L'obésité dans le monde et en France	33
II. 1. 2. Profils alimentaires associés à une diminution de l'obésité / moindre prise de poids dans les études épidémiologiques : rôle des aliments riches en fibres	33
II. 1. 3. Impact des fibres et aliments riches en fibres sur le poids : études interventionnelles	36
II. 2. Diabète de type 2	36
II. 2. 1. Impact des fibres et aliments riches en fibres sur le diabète : études épidémiologiques	38
II. 2. 2. Impact des fibres et aliments riches en fibres sur le diabète : études interventionnelles	39
II. 3. Maladie cardiovasculaire (MCV)	39
II. 3. 1. Impact des aliments riches en fibres sur les maladies cardiovasculaires : Etudes	

épidémiologique	40
II. 3. 2. Impact des aliments riches en fibres sur les maladies cardiovasculaires : Etudes interventionnelles.....	42
II. 4. Cancers et autres pathologies	43
II. 4. 1. Impact des aliments riches en fibres sur le cancer	43
II. 4. 2. Pathologies inflammatoires intestinales.....	44
III. Effet physiologique des fibres alimentaires.....	45
III. 1. Digestion : généralités	47
III. 2. Impact des fibres alimentaires sur le transit gastro-intestinal	49
III. 2. 1. Fibres insolubles	49
III. 2. 2. Fibres solubles visqueuses	49
III. 2. 3. Fibres solubles non visqueuses.....	51
III. 3. Impact des fibres alimentaires sur la régulation de la satiété :.....	53
III. 3. 1. Fibres et satiété : études chez l’homme	53
III. 3. 2. Les hormones de régulation de l’appétit et fibres alimentaires	55
III. 4. L’effet des fibres sur la digestion et absorption des lipides	58
III. 4. 1. Impact des fibres alimentaires sur la floculation des lipides et l’activité des lipases digestives	58
III. 4. 2. Effet des fibres alimentaires sur l’émulsion des lipides	58
III. 5. Impact des fibres sur la production de métabolites par le microbiote.....	61
III. 5. 1. La composition microbienne de l’intestin	61
III. 5. 2. La production d’AGCC	61
III. 6. Effets au niveau périphérique.....	64
III. 6. 1. La lipémie	64
III. 6. 2. La glycémie et l’insulinorésistance	66
IV. Mécanismes moléculaires impliquant les AGCC, dans la régulation métabolique de l’hôte	70
IV. 1. Absorption et répartition des AGCC dans l’organisme	72
IV. 1. 1. Mécanisme d’absorption des AGCC	72

IV. 1. 2. Répartition des AGCC dans l'organisme	74
IV. 2. Comment les AGCC interagissent avec les tissus pour moduler les métabolismes	76
IV. 2. 1. Interaction entre AGCC et récepteurs spécifiques	76
IV. 2. 2. Le lien entre les AGCC et les HDAC.....	78
IV. 3. Impact des AGCC sur l'intestin	80
IV.3. 1. Peptides intestinaux	80
IV.3. 2. AGCC et Néoglucogenèse intestinale	82
IV.3. 3. Impact des AGCC sur l'Inflammation et Immunité intestinales.....	83
IV. 4. Impact des AGCC sur le foie	85
IV. 5. Impact des AGCC sur le muscle	88
IV. 6. Impact des AGCC sur le tissu adipeux	92
IV. 7. AGCC et régulation intégrée du métabolisme	95
<u>Objectifs de l'étude et stratégie expérimentale</u>	96
I. Contexte général appliqué à la question de recherche abordée.....	98
II. Originalité du travail de recherche et de l'approche utilisée	98
III. Stratégie expérimentale	101
III. 1. Choix des fibres et réalisation du pain expérimental	101
III. 1. 1. Choix des fibres	101
III. 1. 2. Optimisation du pain enrichi en fibres fermentescibles	102
III. 2. Réalisation de l'étude animale : régimes utilisés	104
III. 3. Organisation des résultats obtenus.	106
<u>Présentation des travaux</u>	108
Publication N°1.....	109
Introduction :	111
Matériel et méthodes :	111
Résultats majeurs /discussion :	112
Conclusions / perspectives :	113

Données supplémentaires	145
Publication N°2.....	151
Introduction :	153
Matériel et méthodes :	153
Résultats majeurs /discussion :	155
Conclusion :	156
Données supplémentaires	186
<u>Discussion générale et perspectives</u>	190
I. Résultats majeurs : du phénotype aux effets métaboliques et aux mécanismes de signalisation mis en jeu.....	191
I. 1. Quels effets sur le phénotype ?	191
I. 2. Quels effets sur le métabolisme ?	192
I. 3. Par quels signaux métaboliques ou hormonaux les fibres ont-elles agi sur les différentes voies métaboliques modulées dans le foie, le muscle et le tissu adipeux ?.....	195
I. 4. Quelles questions les résultats de ma thèse ont-ils soulevées ?	196
II. Perspectives.....	198
II. 1. Rôle que pourrait jouer le microbiote et les métabolites qu'il produit sur les effets métaboliques tissulaires.....	198
II. 1. 1. La richesse du microbiote intestinal	198
II. 1. 2. Les métabolites synthétisés par le microbiote intestinal.....	199
II. 2. Impact de la supplémentation en fibres sur les régulations épigénétiques médiés par les HADCs.....	205
II. 3. Stratégie nutritionnelle et supplémentation en fibres fermentescibles : de l'effet bénéfique observé dans l'étude animale à une validation / application chez l'homme	205
<u>Références</u>	208

Liste des figures

Figure 1 : Calories issues des principaux produits consommés dans les pays développés	4
Figure 2 : Evolution de la composition du panier alimentaire en France de 1960 à 2014	4
Figure 3 : Structure de paroi cellulaire végétale. Représentation schématique des principaux composants structuraux polysaccharidiques d'une paroi cellulaire végétale primaire "typique"	14
Figure 4 : Formule chimique de la cellulose	14
Figure 5 : Formule chimique de la β -glucane	14
Figure 6 : Formule chimique de l'Arabinoxylane	16
Figure 7 : Formule chimique de la chaîne principale de la molécule de la Pectine	16
Figure 8 : Formule chimique de la gomme de guar	16
Figure 9 : Formule chimique de l'inuline	18
Figure 10 : Synthèse d'oligosaccharides à partir d'autres sucres (44)	18
Figure 11 : Degré de fermentescibilité des fibres alimentaires dans le colon (66)	25
Figure 12 : Prévalence mondiale de l'obésité ($IMC \geq 30$ kg/m ²) en 1980 et en 2015 chez les adultes (≥ 20 ans).....	32
Figure 13 : Evolution mondiale du diabète (nombre de cas) de 1980 à 2016. Projection à l'horizon 2030	35
Figure 14 : Association négative entre la consommation céréales complètes et le risque relatif de diabète de type 2	37
Figure 15 : Association entre la consommation de fruits et légumes et le risque relatif de diabète de type 2.....	37
Figure 16 : Association négative entre la consommation céréales complètes et le risque relatif de MCV	41
Figure 17 : Enzymes, hormones et sécrétions régulant la digestion du bol alimentaire dans le tractus gastro intestinal	46
Figure 18 : Réduction du signal de l'appétit par les fibres alimentaires via les hormones de l'axe neuro-intestinal.....	52
Figure 19 : Effet dose réponse de la consommation des fibres alimentaires en fonction de leur viscosité et fermentescibilité, sur la satiété	54
Figure 20 : Mécanismes par lesquels les fibres peuvent inhiber la digestion et l'absorption des lipides	57

Figure 21 : Hétérogénéité spatiale du microbiote intestinal depuis le duodénum jusqu'au rectum	60
Figure 22 : Distribution des espèces bactériennes majeures dans l'intestin de l'homme adulte sain.....	60
Figure 23 : Groupes fonctionnels et phylogénétiques de bactéries intestinales impliquées dans la production des acides gras à chaîne courte.....	62
Figure 24 : régulation du métabolisme lipidique par les fibres alimentaires : Cycle entéro hépatique des sels biliaires	65
Figure 25 : Mécanismes d'action des fibres alimentaires dans le cas des maladies chroniques via une régulation du métabolisme énergétique au niveau plasmatique et tissulaire AGCC, acides gras à chaîne courte	68
Figure 26 : Transport des AGCC de la lumière du colon vers la veine porte	71
Figure 27 : Absorption et distribution des AGCC de la lumière intestinale vers foie puis les tissus périphériques. VP, veine porte ; VSH, veine sus-hépatique.....	73
Figure 28 : Mécanisme d'action des AGCCs sur la transduction du signal cellulaire en fonction du type de récepteur couplé à la protéine G (RCPG) dont GPR41/43 et 109a	75
Figure 29 : Acétylation et désacétylation des histones sur les résidus lysine.	77
Figure 30 : Régulation du métabolisme énergétique via les 4 classes de HDAC (I, IIa, IIb et IV)	77
Figure 31 : L'impact du butyrate (produit de dégradation des fibres par le microbiote intestinal) sur la mort cellulaire des cellules cancéreuses via une inhibition des HDAC.....	79
Figure 32 : Mécanismes par lesquels les métabolites microbiens contrôlent la néoglucogénèse intestinale et l'homéostasie énergétique via la diaphonie neuro-intestinale gastro-intestinale.....	81
Figure 33 : Mécanisme d'action des AGCC sur la réduction de l'inflammation et l'augmentation de la réponse immunitaire via l'inhibition des HDACs ou la stimulation des GPRs	84
Figure 34 : Régulation hépatique de l'homéostasie glucidique et lipidique par les AGCC dans le foie	86
Figure 35 : Régulation du métabolisme énergétique musculaire par les AGCC et les hormones digestives	89
Figure 36 : Rôle des AGCC dans la régulation de l'homéostasie énergétique et inflammatoire	

dans les tissus adipeux blanc et brun.....	91
Figure 37 : Résumé des principaux effets métaboliques des AGCCs (acétate, propionate et butyrate) sur le côlon et les tissus périphériques (foie, muscle squelettique, tissus adipeux et cerveau).....	94
Figure 38 : La démarche expérimentale permettant de suivre l'impact de la supplémentation en fibres alimentaires depuis l'intestin jusqu'aux tissus périphériques.....	97
Figure 39 : Schéma récapitulatif des analyses réalisées ou qui seront réalisées, ainsi que leur stratégie de valorisation.....	99
Figure 40 : Images de tranches de pains obtenues suite à la substitution de la farine par un mélange de fibres fermentescibles (amidon résistant (60%), pectine (20%) et inuline (20%)) en quantités variant de 0% (pain témoin) à 28,6% de substitution	103
Figure 41 : Impact des AGCC sur la lipogenèse et la β -oxydation hépatique	110
Figure 42 : Impact du butyrate sur la thermogénèse du tissu adipeux brun (A) et la β -oxydation musculaire (B)	152
Figure 43 : Histogramme des aires transversales des fibres musculaires dans le biceps fémoral (A) et le muscle plantaire (B) de porcs Ossabaw	154
Figure 44 : Schéma récapitulatif des résultats marquants sur l'effet de la supplémentation du mélange de fibres fermentescibles (pectine, inuline et amidons résistants) dans le cadre d'une surnutrition chez les mini-porcs	194
Figure 45 : Richesse en MGS chez les animaux supplémentés ou non avec des fibres alimentaires à D1, D14 et D56	197
Figure 46 : Analyse discriminante par les moindres carrés partiels (PLS-DA) l'évolution du métabolome fécal des mini-porcs (O et O+F) entre D1 et D56	200
Figure 47 : Quelques exemples d'ions obtenus par métabolomique des eaux fécales suite à l'ingestion durant 1, 14 ou 56 jours des régimes O ou O+F	202
Figure 48 : Fonction mitochondriale et lipides dans le muscle.....	204

Liste des tableaux

Tableau 1 : Synthèse des relations entre groupes d'aliments et risque d'obésité, de diabète et de maladies cardiovasculaires	2
Tableau 2 : Principales définitions des fibres alimentaires	11
Tableau 3 : Tableau résumant les structures des différentes fibres alimentaires ainsi que leurs enzymes de dégradation respectives	21
Tableau 4 : Classification des fibres en fonction de leur solubilité, viscosité et fermentescibilité	23
Tableau 5 : Nature et quantité des fibres alimentaires présentes dans les principales catégories d'aliments.	27
Tableau 6 : Les principales sources alimentaires de fibres chez les enfants et les adultes : différences entre pays	27
Tableau 7 : Les consommations moyennes en fibres alimentaires chez les adultes (>17 ans) dans quelques pays industrialisés	29
Tableau 8 : Les consommations moyennes en fibres alimentaires chez les enfants (<17 ans) dans quelques pays industrialisés	29
Tableau 9 : Recommandations pour l'apport total en fibres alimentaires (g/j) par les autorités de santé de différents pays selon la tranche d'âge (adultes (>17 ans) et enfants (<17ans)	30
Tableau 10 : Effet résumé de l'effet des fibres sur l'appétit, l'ingestion d'énergie et le poids corporel	35
Tableau 11 : Hormones et peptides endogènes sécrétés par le tractus gastro-intestinal lors de la digestion du bol alimentaire	48
Tableau 12 : Effet des types de fibres alimentaires sur la physiologie intestinale	50
Tableau 13 : Proportion d'AGCC produits par le microbiote colique pour différentes fibres (52, 359).....	62
Tableau 14 : Les principaux récepteurs des AGCC et leur localisation cellulaire ou tissulaire	75
Tableau 15 : Ions significativement modulés entre le groupe O et O+F à D14 et D56	200

Abréviations

AC : Adénylate Cyclase
ACOX : Acyl-CoA Oxidase 1
AGCC : Acide Gras Chaîne Courte
AGL : Acide Gras Libre
AGRP : Protéine Agouti
AKT : Protéine Kinase B
AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique
AMPK : AMP-Activated Protein Kinase
ANGPTL4 : Angiopoïétine Like 4
ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
AOAC : Association Of Analytical Chemists
AR : Amidon Résistant
ARNm : Acide Ribonucléique messenger
ARNr : Acide Ribonucléique ribosomal
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
AX : Arabinoxylanes
AXOS : Arabinoxyl-Oligosaccharides
b-OH : Béta-Hydroxybutyrate
CART : Cocaine And Amphetamine Regulated Transcript
CCK : Cholécystokinine
CCR : Cancer Colorectal
CO2 : Dioxyde de carbone
CPT1 : Carnitine Palmitoyltransferase I
CRP : C-Reactive Protein (protéine C-réactive)
CT : Cholestérol Total
DT1 : Diabète de Type 1
DT2 : Diabète de Type 2
FABP : Fatty-Acid-Binding Proteins
FAS : Fatty Acid Synthase
FFAR : Free Fatty Acid Receptor
FOS : Fructo-Oligosaccharides
FOXP3 : Forkhead Box P3
GCG : Glucagon
GDP : Guanosine Diphosphate
GLP-1/2 : Glucagon Like Peptide 1 ou 2
GLUT : Transporteur De Glucose
GOS : Galacto-Oligosaccharides
GPR : G-Protein Coupled Receptor
GTP : Guanosine Triphosphate
GYS2 : Glycogen Synthase 2
HAT : Histones Acétyltransférases
HbA1c : Hémoglobine Glyquée
HCl : Acide Chlorhydrique
HCO3- : Ions Bicarbonates
HDAC : Histones Désacétylases

HDL-c : High Density Lipoprotein cholesterol
HOMA : Homeostasis Model Assessment Of Insuline Resistance
HSL : Lipase Hormono-Sensible
IG : indice glycémique
IL-6 / 8 / 12 / 10 : interleukin 6-8-12-10
IMC : indice de masse corporelle
iMPROVINg : Métabolisme protéique, vieillissement et nutrition
INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques
IR : Insulino-Résistance
LDL-c : Low Density Lipoprotein cholesterol
LPL : Lipoprotéine Lipase
LXR : Liver X Receptor
MCT : Monocarboxylate Transporter
MCV : Maladies Cardiovasculaires
MGP : MétaGénoPolis
MUC2 : Mucine Epithéliale 2
NF-KB : Nuclear Factor-Kappa B
NPY : NeuroPeptide Y
NRF2 : Nuclear factor erythroid-2-Related Factor 2
NTS : Noyau du Tractus Solitaire
OS : OligoSaccharides
PFK1 : PhosphoFructoKinase-1
PGC1-a : Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator 1-alpha
PI3K : PhosphoInositide 3-Kinase
PLC : PhosphoLipase C
PNA : Polysaccharides Non Amylacés
POMC : Pro-OpioMélanoCortine
PPAR : Peroxisome Proliferator-Activated Receptors
PYY : Peptide YY
Ras-MAPK : Ras-Mitogen Activated Protein Kinase
RCPG : Récepteurs Couplés aux Protéines G
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
ROS : reactive oxygen species
RT-qPCR : Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction
SCD1 : Stearoyl-CoA Desaturase-1
SDHA : Succinate DeHydrogenase complex, subunit A
SLR : Systematic Literature Review
SMCT1 : Sodium dependent MonoCarboxylate Transporter
SNC : Système Nerveux Central
SREBP1-c : Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1
TG : TriGlycérides
TGFB : Transforming Growth Factor Beta
TLR-4 : Toll Like Receptor 4
TNFa : Tumor Necrosis Factor alpha
UCP1/2 : Uncoupling Protein 1
UM : Unités Monomériques
UNH : Unité de Nutrition Humaine
XOS : Xylo-Oligosaccharides

Introduction

Groupe d'aliments / boissons	Obésité		Diabète		Maladies cardiovasculaires	
	Association avec le risque	Degré de certitude	Association avec le risque	Degré de certitude	Association avec le risque	Degré de certitude
Boissons sucrées	Risque ↗ de prise de poids	Convainquant	↗ du risque	Probable	↗ du risque	Probable
Boissons alcoolisées	Risque ↗ de prise de poids chez l'homme	Probable	↘ du risque pour une consommation modérée (femmes)	Données suggestives mais limitées	↘ du risque (vin, bière en consommation modérée)	Probable
Fruits et légumes	Risque ↘ de prise de poids	Données suggestives mais limitées	↘ du risque (baies, légumes, feuilles vertes)	Données suggestives mais limitées	↘ du risque	Convainquant
Produits laitiers	↘ de poids > lors de la restriction énergétique chez sujets en surpoids Pas de relation chez sujets normopondéraux	Données suggestives mais limitées Insuffisant	↘ du risque (yaourts, fromage, produits laitiers peu gras)	Probable	↘ du risque	Données suggestives mais limitées
Viande	Risque ↗ de prise de poids	Données suggestives mais limitées	↗ du risque (hors volailles)	Probable	↗ du risque (hors volailles)	Probable
Produits céréaliers	Pas de relation définie	Insuffisant	↘ du risque (céréales complètes)	Probable	↘ du risque (céréales complètes)	Probable
Poissons	Pas de relation définie	Insuffisant	↗ du risque (population nord américaine / hétérogène europe) ↘ du risque (population asiatique)	Données suggestives mais limitées	↘ du risque d'AVC	Probable
Oeufs			Pas de relation définie	Insuffisant	Pas de relation définie	Insuffisant
Produits céréaliers raffinés			Pas de relation définie	Insuffisant		
Légumineuses			Pas de relation définie	Insuffisant	Pas de relation définie	Insuffisant
Alimentation de type « occidentale »			↗ du risque (pas de réduction avec une alimentation « prudente »)	Probable	Pas de relation définie	Insuffisant
Alimentation conforme aux recommandations			↘ du risque	Données suggestives mais limitées	↘ du risque (alimentation de type prudent, méditerranéen)	Convainquant
Café			↘ du risque	Convainquant	↘ du risque	Données suggestives mais limitées
Thé			Pas de relation définie	Insuffisant	↘ du risque	Probable

Tableau 1 : Synthèse des relations entre groupes d'aliments et risque d'obésité, de diabète et de maladies cardiovasculaires (Expertise collective ANSES, 2016)

Mutations et évolutions des pratiques alimentaires et des modes de vie chez l'homme : conséquences sur la santé

L'évolution de l'état de santé de la population mondiale est en partie la conséquence de profondes mutations de nos pratiques alimentaires et de nos habitudes de vie. Jusqu'à la fin du Paléolithique, l'homme était un chasseur cueilleur. Sa nourriture était constituée de 35% de viande et 65% de produit végétaux (plantes, fruits) (1) qui permettaient d'apporter l'énergie et les nutriments nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme (protéines (35%), glucides (45%), lipides (21%) et fibres alimentaires (46g)) (1,2). A ce type d'alimentation s'ajoutaient des dépenses énergétiques intenses liées à une activité physique importante lors de la chasse ou des cueillettes. Au néolithique, avec la naissance de l'agriculture et de l'élevage, l'homme est passé du statut de prédateur à celui de producteur sédentaire (3) induisant une modification de son mode de vie et de ses pratiques alimentaires. L'alimentation devient moins diversifiée en protéines animales (petits ruminants) et plus limitée en espèces végétales consommées (céréales, blé, riz, maïs, légumineuses) avec des disparités géographiques (4). Cette transition est souvent associée à une augmentation de la proportion de la consommation des lipides au détriment des protéines (protéines (13%), glucides (46%), lipides (38%) et fibres alimentaires (20g)) (2,5). Dès le 20^{ème} siècle, on assiste à une évolution majeure et inédite des comportements alimentaires due à une évolution de l'offre de produits alimentaires plus industrialisés (ayant subi des processus de transformation accrus), l'urbanisation et la mondialisation des marchés.

Ainsi, depuis l'antiquité et le moyen âge (Hippocrate 5^{ème} siècle avant JC ; Rhazès, Bagdad 10^{ème} siècle après JC), le rôle et l'impact de l'alimentation (en association avec l'activité physique) sur notre état de santé et le développement de pathologies nutri-induites a été empiriquement suspecté puis montré par de nombreuses études observationnelles épidémiologiques ou interventionnelles (6). Un récent rapport d'expertise collective de l'ANSES datant de Novembre 2016 résume ce propos en ayant analysé la bibliographie issue d'études sur cohortes afin d'établir des liens entre des groupes d'aliments ingérés et diverses maladies et indicateurs de santé. Parmi les pathologies étudiées, la prise de poids et l'obésité, les maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2 ont été spécifiquement étudiés (**Tableau 1**).

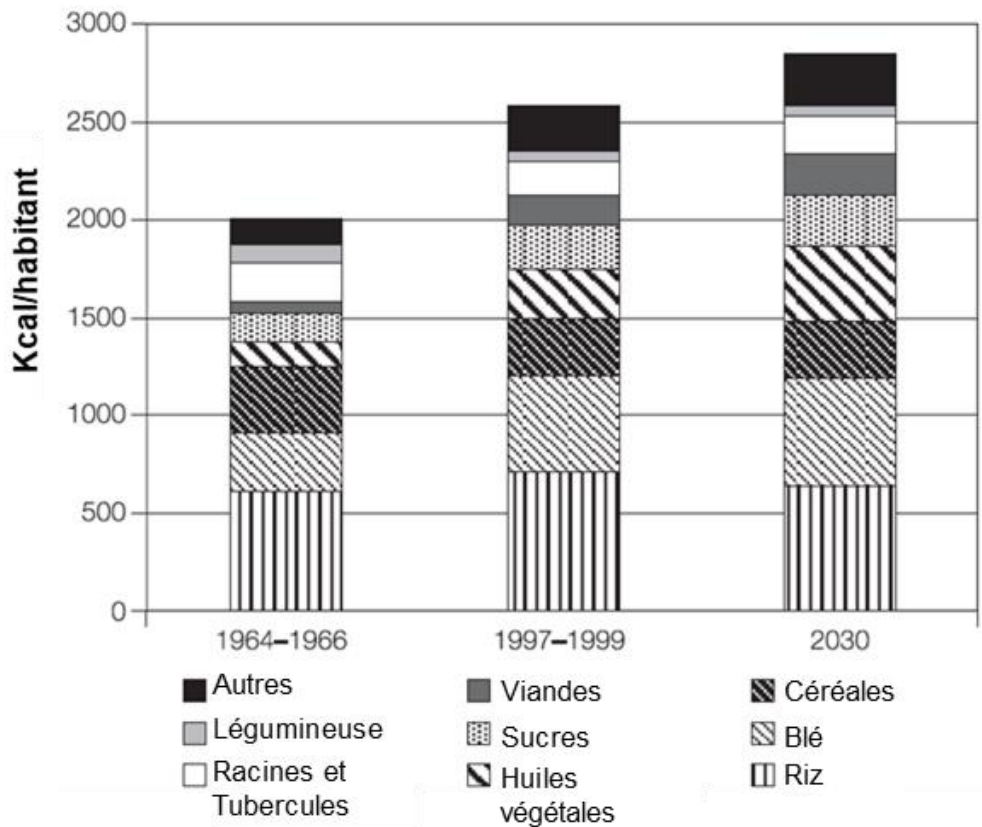


Figure 1 : Calories issues des principaux produits consommés dans les pays développés (FAO, 2003)

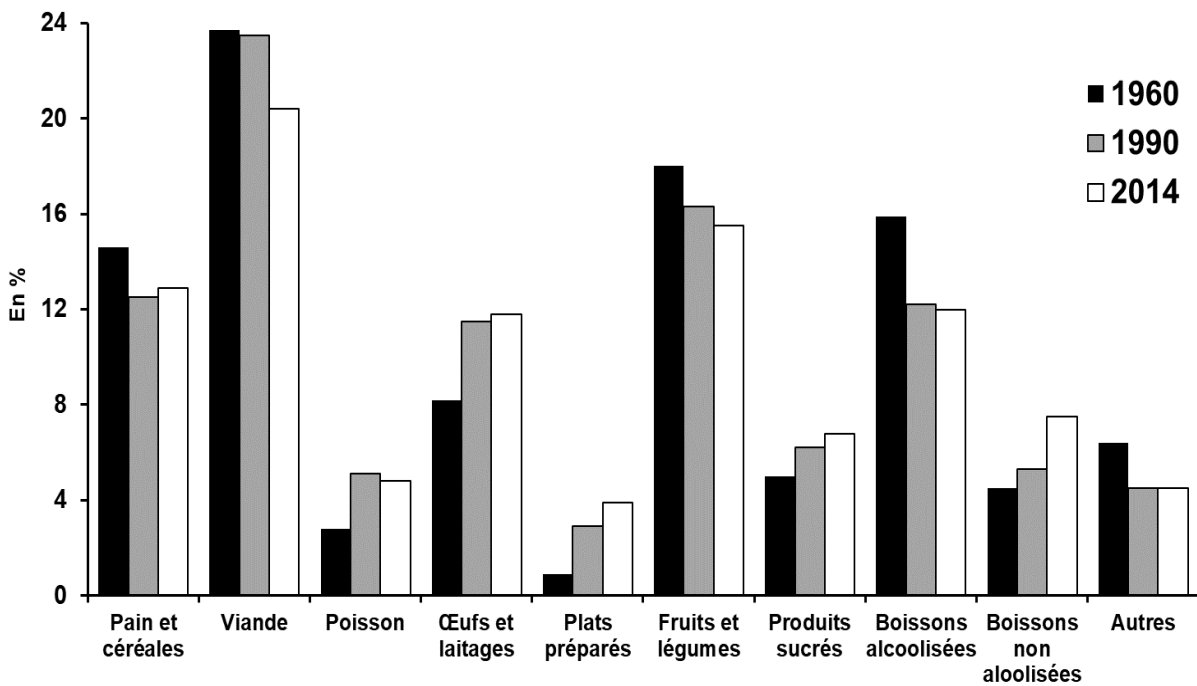


Figure 2 : Evolution de la composition du panier alimentaire en France de 1960 à 2014 (INSEE, 2015)

Ainsi, pour les dérèglements métaboliques que sont l'obésité et les pathologies associées majeures (le diabète et les maladies cardiovasculaires), les groupes d'aliments comme les fruits et légumes, les produits céréaliers complets ainsi qu'une alimentation globalement conforme aux recommandations permettent de limiter l'occurrence de ces pathologies alors que les boissons sucrées et l'alimentation de type occidental sont plus associés à une augmentation du risque de développer ces pathologies.

Etat des lieux en France

En France, comme dans de nombreux pays industrialisés, nous assistons à une forte augmentation de la prise énergétique alimentaire globale (**Figure 1**) associée avec une modification des types d'aliments consommés (**Figure 1 et 2**).

Une diminution régulière de la part des céréales et pain, des fruits et légumes et de la viande est constatée. A l'inverse, la part des produits sucrés, des boissons non alcoolisées (dont les sodas) et des plats préparés augmente (Données France Agrimer 2011, INSEE, 2015 ; données Ministère de la Santé). Notamment, la consommation de pain par personne a significativement diminué depuis 1 siècle (même si elle reste importante quantitativement) et est passée de 220 kg/an en 1880 à 120 kg/an en 1950 et 60 kg/an en 1996 et se stabilise depuis. Au regard des données précédemment commentées de l'ANSES (**Tableau1**), nous augmentons donc notre consommation d'aliments favorables à la prise de poids, au développement du diabète et des maladies cardiovasculaires tout en diminuant la consommation de ceux qui devraient les limiter. Tout particulièrement, on assiste à une réduction de la consommation de groupes d'aliments considérés comme des sources de glucides complexes (amidon et fibres alimentaires) alors que la contribution des sucres simples (via notamment la prise de produits transformés sucrés) augmente.

Pour compléter les données en France, l'étude INCA 3 (2017) stipule clairement que « le statut pondéral et le niveau d'activité physique des français restent inadaptés » avec 34% de la population 18-79 ans en surpoids et 17% obèses avec plus de 80% de la population des adultes de 18 à 79 ans ayant un comportement sédentaire. Une politique nutritionnelle nationale renforcée est ainsi recommandée.

Aliments riches en fibres alimentaires et politiques de santé

Un des corollaires majeurs de l'évolution de ces comportements alimentaires est la baisse de la consommation des aliments riches en fibres alimentaires. Ainsi la consommation en fibres en France est de 20 g/j en moyenne chez les adultes (7), ce qui est très inférieur aux recommandations de l'ANSES avec un apport conseillé de 30 g/j.

Les groupes d'aliments dont la consommation a baissé (pain et céréales, fruits et légumes) sont en effet les principaux vecteurs de fibres pour les populations de 18 à 79 ans (fibres apportées par les fruits et légumes : 36%, produits céréaliers : 27%, biscuits, pâtisseries et sandwiches : 14%, pommes de terre, légumineuses et céréales : 10%).

Des politiques pro-actives visant à augmenter la part des aliments vecteurs de fibres dans l'alimentation ont été mises en place depuis les années 1970 dans les pays développés dans l'objectif d'améliorer la santé de la population (8). En France, des groupes de réflexion gouvernementaux (Ministère de la Santé) (http://www.alimentation-sante.org/wp-content/uploads/2014/02/Recommandation_GTFibres_VF.pdf) ont réfléchi aux diverses stratégies susceptibles d'augmenter la part des fibres dans l'alimentation, partant du constat que les aliments vecteurs de fibres existent, l'offre est diversifiée, mais ces aliments manquent d'attractivité pour le consommateur. Les recommandations issues de ce rapport sont les suivantes :

1. Améliorer l'accessibilité aux aliments vecteurs de fibres

→ Poursuivre l'amélioration nutritionnelle de l'offre d'aliments vecteurs de fibres en prenant en compte le niveau d'acceptabilité par le consommateur (reformuler des produits pour augmenter leur teneur en fibres, diversifier l'offre en mettant sur le marché de nouveaux produits)

→ Développer l'accès aux aliments vecteurs de fibres dans le domaine de la restauration collective

2. Sensibiliser les consommateurs à l'importance d'augmenter la part des fibres dans leur alimentation (sensibiliser sur les effets bénéfiques et améliorer la connaissance des produits).

Concernant le point n°2 visant à sensibiliser les consommateurs, les mesures n'ont pas toujours d'effet visible sur le court-moyen terme. C'est le cas par exemple du programme « manger au moins 5 fruits et légumes par jour » lancé en 2007 (donc l'objectif est d'augmenter notamment la part des fibres dans l'alimentation) qui n'a eu que peu d'impact sur la consommation de ces produits avec 93% des français qui avaient eu connaissance du message et seulement 3% qui avaient changé leur comportement sur la période. Pourtant, un effet long terme est possible car il est à noter que la consommation des fruits et légumes, mais aussi de pain complet est globalement stable depuis 2009 (= pour les légumes, +1% pour les fruits par habitant en volume).

Intégration du travail de thèse dans la problématique générale de l'équipe iMPROVINg de l'Unité de Nutrition Humaine.

L'équipe iMPROVINg, dans laquelle a été réalisé mon travail de thèse, s'intéresse depuis de nombreuses années aux interrelations/compétitions entre tissus de l'aire splanchnique d'une part (intestin et foie) et les tissus périphériques (muscle en particulier) d'autre part, pour l'utilisation des nutriments dans des situations physiopathologiques que sont l'insulino-résistance (9,10) ou surtout le vieillissement (11,12) sur modèles animaux (rongeur, mini-porc multi-cathétérisé/canulé) et l'homme. Une utilisation accrue des nutriments (tant qualitative que quantitative) par les tissus de l'aire splanchnique peut en effet être responsable d'un défaut d'apport de nutriments aux tissus périphériques comme le muscle et se traduire *in fine* par un défaut de masse et de fonction musculaire, une dépendance accrue et une espérance de vie diminuée chez les sujets âgés notamment (13).

Grâce à ces connaissances des besoins de l'aire splanchnique en nutriments dans diverses situations physiopathologiques, il est possible de mettre au point des stratégies nutritionnelles efficaces pour retarder/limiter l'apparition de ces pathologies et désordres métaboliques (14). L'effet de la supplémentation protéique (nature et quantité de protéines), en acides aminés, ainsi que l'effet de facteurs anaboliques comme l'insuline ou des micronutriments (vitamine E, antioxydants ...) (15) sur le métabolisme protéique corporel et musculaire ont été très largement étudiés (14).

Plus récemment, le rôle du microbiote intestinal a été montré comme majeur dans le développement des pathologies nutri-induites (16). Une altération de sa richesse et de sa composition en phyla est également fortement perturbée avec l'âge (17). L'équipe iMPROVINg a donc progressivement intégré le microbiote intestinal (en interaction avec l'alimentation) comme un des éléments régulateurs à prendre en compte dans les mécanismes d'initiation et de

développement de l'insulino-résistance et comme un des déterminant du vieillissement en bonne santé (17). Les fibres alimentaires étant capables à la fois d'interagir avec le microbiote et d'impacter le plus efficacement sur le statut d'insulino-sensibilité, elles constituent dans ce cadre une cible privilégiée pour des interventions nutritionnelles, d'autant que les politiques de santé (voir plus haut) encouragent fortement un accroissement de leur consommation.

L'objectif global de mon travail de thèse était de déterminer si, dans le cadre d'une surnutrition chronique (2 mois), un apport d'un mélange de fibres fermentescibles incluses dans un pain apporté en quantité raisonnable, était capable de limiter l'apparition des désordres métaboliques corporels et tissulaires associés au développement de l'obésité induite par la surnutrition. Un effet bénéfique de cet apport en fibres ayant été observé, je me suis par la suite intéressé aux mécanismes explicatifs des modulations métaboliques constatées sur mon modèle animal au niveau de l'aire splanchnique (foie essentiellement et intestin) et les tissus périphériques (muscle et tissu adipeux).

Le présent document consiste donc préalablement en une analyse bibliographique des études s'étant intéressées à l'impact des fibres et aliments riches en fibres, dans leur diversité, sur la santé au sens large et les différentes pathologies nutri-induites. Sont détaillés ensuite les mécanismes physiologiques et moléculaires ainsi que les médiateurs permettant d'expliquer comment les fibres alimentaires peuvent moduler le métabolisme corporel et tissulaire.

Les résultats issus de mon travail de thèse sont ensuite présentés et discutés sous forme de deux publications. La première partie du travail a consisté en l'étude ciblée de l'impact des fibres alimentaires sur l'infiltration lipidique dans le foie (une des cibles majeures connues des fibres alimentaires) et la régulation des principales voies d'utilisation des métabolites dans cet organe. La deuxième partie du travail s'est focalisée sur l'impact des fibres alimentaires sur le phénotype et l'activité métabolique des tissus périphériques (muscle essentiellement et tissu adipeux) en interaction avec les nutriments mis à disposition par les tissus splanchniques.

La dernière partie du document consiste en une synthèse et analyse critique de l'ensemble des résultats, complétées de résultats préliminaires plus récents de caractérisation du microbiote et de son activité dans le cadre de collaborations avec la plateforme d'Exploration du Métabolisme de l'UNH (analyse métabolomique des eaux fécales) et de MetaGenoPolis (analyse de la composition du microbiote).

Bibliographie

I. Fibres alimentaires

Définition de la notion de « fibre alimentaire »	Composants et unités monomériques	Références
Les fibres alimentaires sont les parties comestibles des plantes ou des hydrates de carbone résistants à la digestion et à l'absorption dans l'intestin grêle humain avec une fermentation complète ou partielle dans le gros intestin. Les fibres alimentaires comprennent les polysaccharides, les oligosaccharides, la lignine et les substances végétales associées.	F = PNA + AR+ OS + lignine UM \geq 3	Association Américaine des Chimistes Céréaliers (AACC) 2001
Les fibres sont des polymères glucidiques (unité monomérique : UM \geq 3) non digérées ni absorbées dans l'intestin grêle. Elles sont : <ul style="list-style-type: none"> • D'origine végétale, associés ou non dans la plante à des polymères de lignine ou non-glucidiques (polyphénols, cire, saponines, cutine, phytostéroïls). • Polymères d'hydrates de carbone synthétiques (UM\geq3) transformés (physiquement, enzymatiquement ou chimiquement) 	F = PNA + AR+ OS + lignine UM \geq 3	Agence Française de Sécurité Sanitaire Des Aliments (AFSSA, France) 2002
Les fibres alimentaires sont constituées de glucides non digestibles et de lignine qui sont intrinsèques et intacts dans les plantes.	F = PNA + AR+ OS + lignine UM \geq 3	Institut de Médecine (ETATS-UNIS) IoM 2005
Fibres : polymères glucidiques, de plus de 10 unités monomériques qui ne sont pas digérés par les enzymes intestinales. Elles sont classées de la manière suivante : <ul style="list-style-type: none"> • Polymères glucidiques comestibles naturellement présents dans les aliments. Si elles sont d'origine végétale, elles peuvent comprendre des fractions de lignine ou d'autres composés associés à des polysaccharides dans les parois cellulaires végétales. • Les polymères de glucides, qui ont été obtenus à partir de matières premières alimentaires par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques 	F = PNA + AR+ OS + lignine et autres UM \geq 10	Codex Alimentarius (ALINORM 09/32/REP ALINORM 10/33/26, 10/33/REP) 2008
Fibres : polymères glucidiques, de plus de 3 unités monomériques, qui ne sont ni digérés ni absorbés dans l'intestin grêle humain et appartiennent aux catégories suivantes : <ul style="list-style-type: none"> • Polymères glucidiques comestibles naturellement présents dans les aliments • Les polymères glucidiques comestibles obtenus à partir de matières premières alimentaires par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques 	F = PNA + AR+ OS UM \geq 3	Commission européenne (2008) Directive 2008/100 / CE
Les fibres alimentaires sont des glucides non digestibles plus la lignine les principaux types de fibres sont : <ul style="list-style-type: none"> • Les polysaccharides non amylacés (cellulose, hémicelluloses, pectines, hydrocolloïdes (gommes, mucilages, β-glucanes)), • Les oligosaccharides (OR) résistants (fructo-oligosaccharides (FOS), galacto-oligosaccharides (GOS), d'autres oligosaccharides résistants), • L'amidon résistant • La lignine associée aux polysaccharides fibreux alimentaires. 	F = PNA + AR+ OS + lignine UM \geq 3	Autorité Européenne de Sécurité des Aliments EFSA 2010
Les fibres sont des polymères glucidiques (UM \geq 3) présentes naturellement dans les aliments d'origine végétale ou synthétique et qui ne sont pas digérées ni absorbées dans l'intestin grêle.	F = PNA + AR+ OR UM \geq 3	Santé Canada 2012
Les fibres alimentaires sont des polysaccharide solubles et insolubles non digestibles (UM \geq 3) et la lignine des végétaux.	F = PNA + AR+ OS + lignine UM \geq 3	Administration des aliments et des médicaments (FDA) 2014

Tableau 2 : Principales définitions des fibres alimentaires. AR, amidons résistants ; F, fibres ; PNA, polysaccharides non amylacés ; OS, oligosaccharides ; UM, unités monomériques (8).

I. 1. Définition

La notion et définition de « Fibre Alimentaire » a évolué progressivement avec les années. Le terme lui-même a été utilisé pour la première fois en 1953 par le Pr Hipsley (18). Depuis, une définition des fibres alimentaires a été proposée par Trowell, dans les années 70, et incluait dans la notion de fibres tous les composants de la paroi végétale (19) qui sont très peu digérés dans la partie haute de l'intestin par les êtres humains (20). Depuis, de très nombreuses définitions plus ou moins restrictives ont été proposées (**Tableau 2**). Il est néanmoins accepté comme définition globale que les fibres alimentaires « **sont des polysaccharides endogènes des végétaux, qui sont résistants à l'hydrolyse par les enzymes digestives de l'homme** » (21,22).

Certaines fibres alimentaires peuvent prendre la dénomination de prébiotique (fibres fonctionnelles), un concept introduit en 1995 par Gibson et Roberfoid comme des composés capable de moduler le microbiote intestinal (23). Les prébiotiques sont des ingrédients alimentaires non digestibles par les enzymes intestinales et qui stimulent de manière sélective, au niveau du côlon, la multiplication ou l'activité d'un ou plusieurs groupes bactériens susceptibles d'améliorer la santé de l'hôte (24). Contrairement aux fibres alimentaires qui présentent des effets à de nombreux niveaux intestinaux et de l'organisme, les prébiotiques sont des substances non digestibles qui procurent un effet physiologique bénéfique à l'hôte en stimulant sélectivement la croissance ou l'activité d'un nombre limité de bactéries intestinales de l'hôte (18,25).

I. 2. Classification des fibres alimentaires

I. 2.1. Caractéristique et méthode de quantification des fibres alimentaires

Les fibres alimentaires appartiennent ainsi à la famille des glucides complexes comprenant tous les glucides de taille supérieure à 3 unités monomériques ($UM \geq 3$). Elles peuvent être regroupées selon leurs caractéristiques physicochimiques (poids moléculaire, nature des monomères glucidiques, types de liaison entre monomères). Ce sont ces caractéristiques physicochimiques qui seront par la suite responsables de leurs comportements physicochimiques dans l'intestin de l'hôte (solubilité, viscosité) mais aussi de leur capacité à être dégradées par les microorganismes intestinaux (fermentescibilité) et *in fine* de leurs effets physiologiques. Elles sont essentiellement représentées par les oligosaccharides ($OS : 3 \leq UM \leq 10$) et les polysaccharides ($UM > 10$) comprenant les polysaccharides non amylacés (PNA) et les amidons résistants (AR) (8).

Plusieurs méthodes existent pour doser les fibres totales dans les aliments (26). Leur principe général est d'éliminer, par digestion enzymatique, les composés « non fibre » et de doser dans la fraction restante les « fibres alimentaires » de manière plus ou moins spécifique. La méthode AOAC (Association Of Analytical Chemists) (AOAC 985.29, méthode initiale de référence) (27) est de loin la méthode qui a été la plus utilisée dans le passé pour doser les fibres totales dans un aliment. Elle consiste en une hydrolyse enzymatique (et pesée du résidu contenant les fibres insolubles) et d'une précipitation des fibres solubles ($UM \geq 12$) à l'éthanol 80%. Plus précisément, cette méthode AOAC dose :

- Un ensemble de polysides (pariétaux, modifiés, de réserve ; des gommes et des mucilages), la lignine, une partie de l'amidon résistant rétrogradé (AR3) sans doser les AR1 et 2 natifs.
- Mais cette méthode dose également des fractions indéterminées pouvant être composées de cires, produits de Maillard ou composés phénoliques. Cette fraction peut représenter jusqu'à 20% du résidu de fibres.

Par conséquent, la méthode AOAC 985.29 ne dose pas la totalité des ARs, elle ne quantifie pas l'inuline, les FOS (Fructo-oligosaccharides), les β -glucanes et le polydextrose et elle est peu spécifique.

Pour tenir compte de ces biais, McCleary et al en 2007 ont proposé une méthode AOAC modifiée permettant de mesurer la totalité des fibres alimentaires (PNA, certains OS, ARs) [13]. La particularité de cette méthode, est l'utilisation d'une digestion enzymatique à 37 ° C, suivie d'une mesure gravimétrique pour la quantification des fibres alimentaires à haut poids moléculaire et d'une chromatographie liquide pour quantifier les fibres alimentaires de faible poids moléculaire ; une quantification spécifique des ARs est également réalisée. Ces méthodes de dosage des fibres alimentaires, et notamment des versions améliorées de la méthode AOAC (AOAC 2011.25 et AOAC 991.43) font encore actuellement l'objet d'optimisation et de validation dans la littérature sur de nombreux aliments (28).

I. 2. 2. Les différents types de fibres

I. 2. 2. 1. Polysaccharides non amylacés

Les polysaccharides non amylacés (PNA) sont des polysaccharides complexes qui contiennent jusqu'à plusieurs centaines de milliers d'unité de monosaccharides, unies par des liaisons glycosidiques. Ils sont composés de différents types de monomères, qui sont liés de manière prédominante par la liaison β -glycosidique.

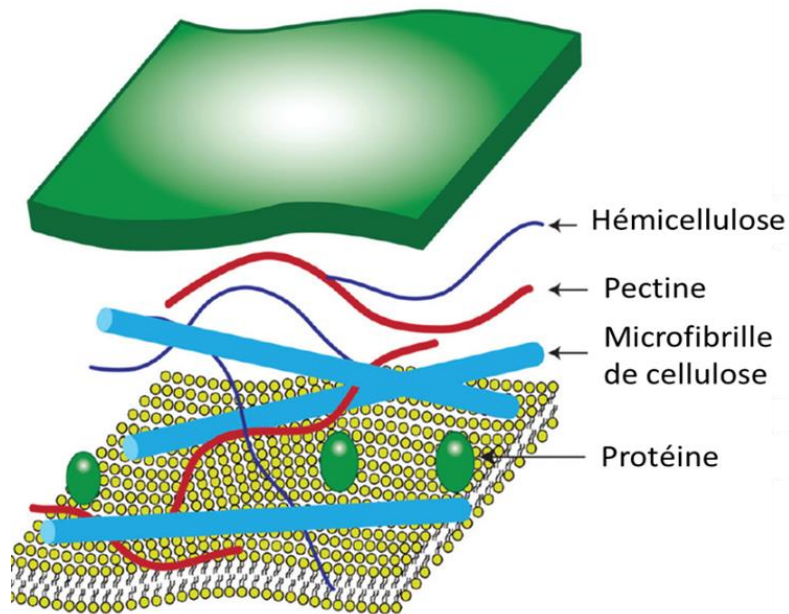


Figure 3 : Structure de paroi cellulaire végétale. Représentation schématique des principaux composants structuraux polysaccharidiques d'une paroi cellulaire végétale primaire "typique" (29)

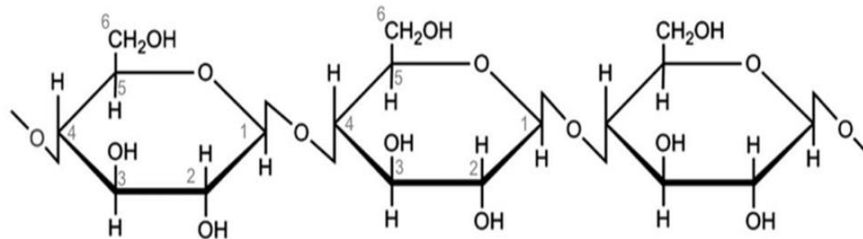


Figure 4 : Formule chimique de la cellulose

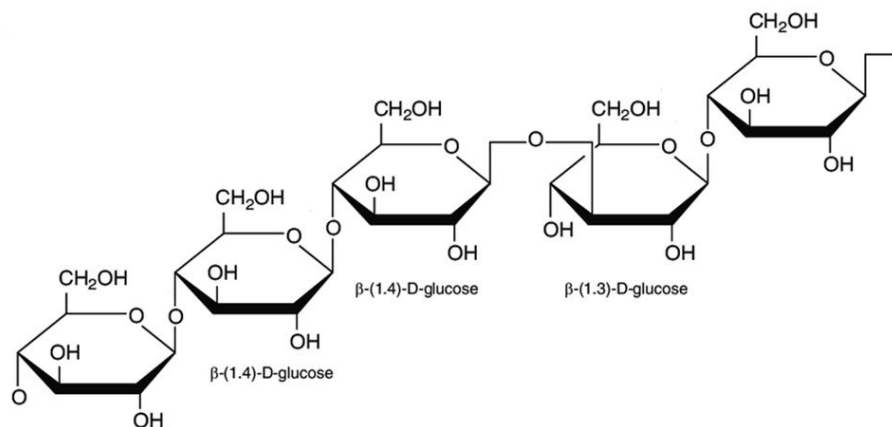


Figure 5 : Formule chimique de la β -glucane

Chez les plantes, les PNA sont présents en tant que polysaccharides structuraux dans les parois cellulaires des végétaux à savoir les fruits, les légumes ou les céréales (**Figure 3**). D'ailleurs, la paroi cellulaire et/ou l'endosperme des végétaux sont composés d'un réseau de PNA comme des fibrilles de cellulose, hémicellulose (xyloglucane, arabinoxylanes, β -glucane) incorporées dans un réseau de pectines (29). Ces polysaccharides sont associés et/ou substitués par d'autres polysaccharides, comme la lignine, protéines et composés phénoliques. Les PNA composent plus de 90% de la paroi cellulaire des plantes et à l'inverse constituent généralement moins de 10% du poids de la graine (30).

Les PNA sont de plusieurs type et se distinguent par la composition de leur squelette saccharidique, le types de liaisons, ainsi que par la nature de leur chaîne latérale. Parmi les PNA les plus connus, on retrouve :

❖ La cellulose

La cellulose est un composant majeur de la paroi cellulaire des végétaux. Elle représente environ un quart des fibres alimentaires dans les céréales et les fruits et un tiers des fibres dans les légumes et les fruits à coque. La cellulose est constituée d'un squelette de polysaccharide linéaire non ramifié, de 10 000 unités de glucose, liés entre eux par des liaisons β -(1,4) (31) (**Figure 4**). Les molécules de cellulose peuvent être associées avec d'autres polysaccharides comme les glucanes ou arabinoxylane en liaisons β -(1,3) (32).

❖ La β -glucane

La β -glucane est une fibre soluble, présente chez les membres de la famille des monocotylédones, à laquelle appartiennent les céréales (blé, seigle, avoine, orge) et les graminées (32,33). Les principales sources de la β -glucane sont les grains d'orge (5-20 %), d'avoine (3-8%), de sorgo (1,6-6,2%) et de seigle (1,3-2,7%), tandis que le blé, le riz et le maïs ont des concentrations plus faibles (0,13-1,7%) (34,35). Contrairement à la cellulose, les β -glucanes sont des polymères de glucose liés entre eux par des liaisons β -(1,3) et β -(1,4) (33,34) (**Figure 5**). Les molécules de β -glucanes dans l'orge sont constituées à 70% de liaison β -(1,4) et à 30% de liaison β -(1,3), dont les segments de deux ou trois liaisons β -(1-4) sont séparés par une liaison unique β -(1,3). La solubilité de la β -glucane va être influencée par sa structure, et de son degré de polymérisation lié à la composition de ses chaînes latérales et leur fréquence. Une moindre présence de liaison β -(1,3) et/ou un fort degré de polymérisation rend moins soluble la β -glucane dans l'eau (36,37).

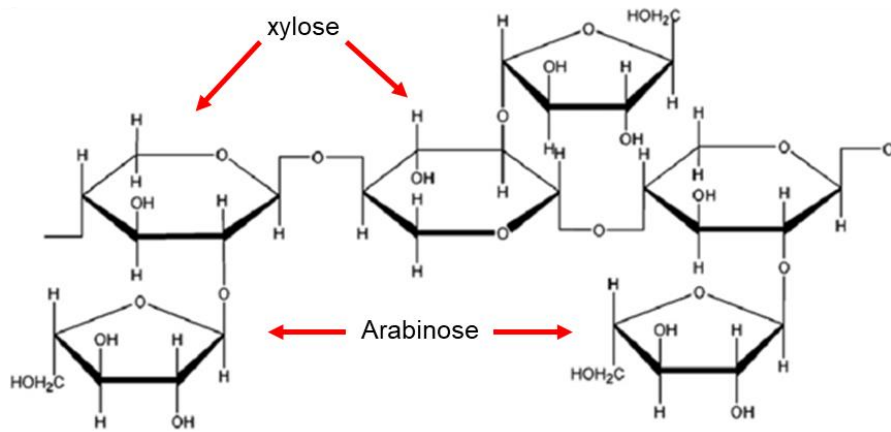


Figure 6 : Formule chimique de l'Arabinoxylane

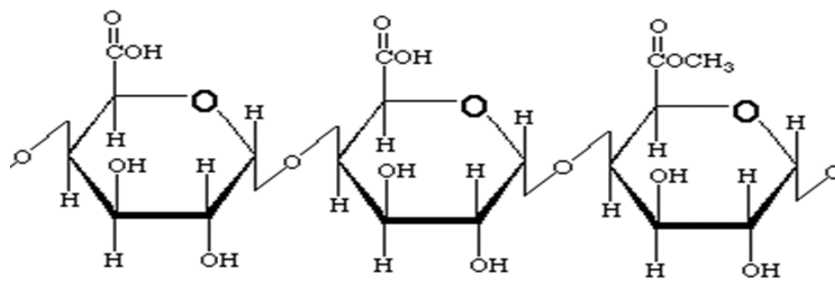


Figure 7 : Formule chimique de la chaîne principale de la molécule de la Pectine

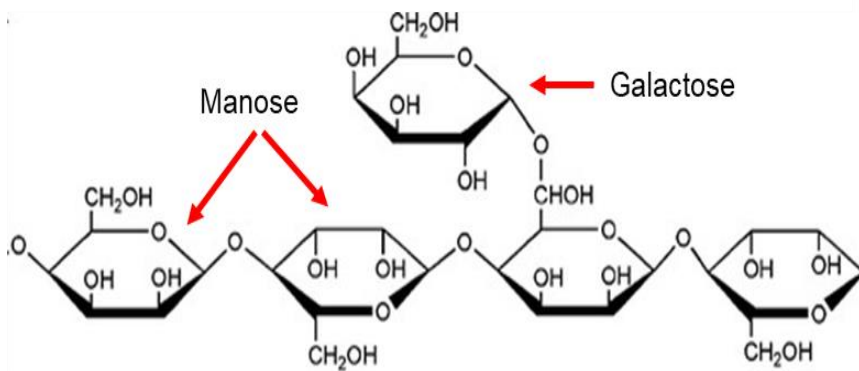


Figure 8 : Formule chimique de la gomme de guar

❖ Le psyllium (arabinoxylane)

Le psyllium est un mucilage gélifiant isolé de la plante *Plantago ovata* (Plantain des Indes), une plante indigène d'Asie et des régions méditerranéennes d'Europe et d'Afrique du Nord. L'enveloppe de la graine du psyllium est une source riche en fibres solubles (34). La fraction bioactive du psyllium est composée d'une fibre très ramifiée, l'arabinoxylane, une hémicellulose constituée d'un squelette linéaire d'unités de Xylose à liaison β -(1,4), avec des chaînes latérales d'arabinose (38) (**Figure 6**).

❖ La pectine :

La pectine est un polysaccharide présent dans la paroi cellulaire et dans le tissu intracellulaire de nombreuses plantes (35%) (39), principalement les agrumes (oranges, citrons, pamplemousses), les pommes, goyave et les pruneaux (34). La pectine est utilisée comme agent gélifiant et épaississant dans divers produits alimentaires comme la confiture, les boissons au yaourt, boissons au lait fruitées et glaces (40). La pectine possède un squelette linéaire contenant 300 à 1000 unités de monosaccharides (34) d'acides galacturoniques reliées entre elles par des liaisons α -(1,4) partiellement estérifiées (méthyle ou acétyle) (**Figure 7**). En plus de sa chaîne principale d'acides galacturoniques, la pectine est associée à d'autres sucres comme le galactose, arabinose et rhamnose (41).

D'un point de vue fonctionnel, on distingue deux catégories de pectine : 1) les pectines faiblement (<50%) et 2) et hautement (>50%) estérifiées. Plus le degré d'estérification est fort, plus la molécule de pectine devient moins étendue et plus enroulée, avec une grande capacité d'hydratation (41). Chez les plantes, le degré d'estérification des pectines est de l'ordre de 70 à 80%. Le degré d'estérification, le pH (<3.5), la présence de cations (>55%) sont l'un des paramètres permettant d'expliquer probablement la capacité des pectines à former un gel en présence d'eau (41).

❖ Le gomme de guar :

La gomme de guar est extraite de la graine de la légumineuse *Cyamopsis tetragonolobus* originaire de l'Inde et du Pakistan. C'est un polysaccharide composé principalement de galactomannane, un polymère de mannopyranose linéaire composé environ de 10 000 monomères de mannose en liaison β -(1,4) avec des chaînes ramifiées d'unités de galactose en liaison α -(1,6) (34) (**Figure 8**).

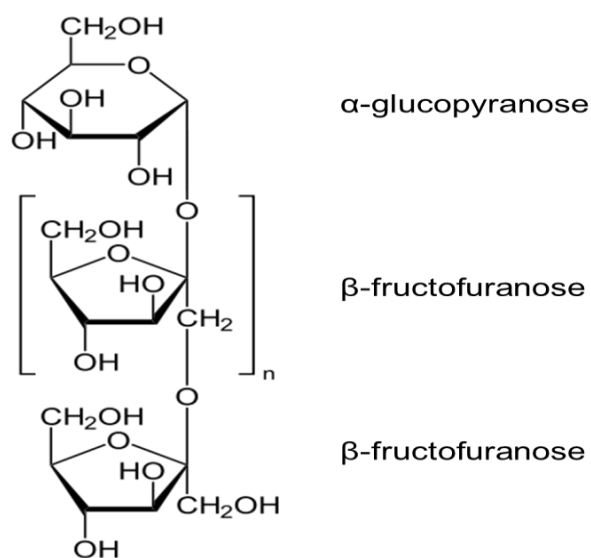


Figure 9 : Formule chimique de l'inuline

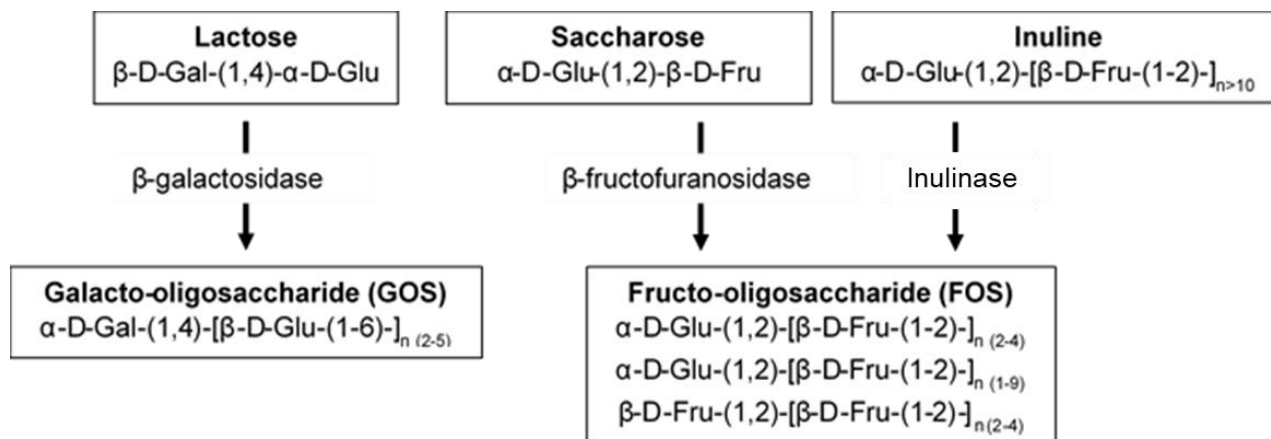


Figure 10 : Synthèse d'oligosaccharides à partir d'autres sucres (44)

I. 2. 2. 2. Oligosaccharides

Les oligosaccharides (OS) sont des sucres constitués de deux à une/quelques dizaine(s) de molécules de sucres simples (8). Ils se répartissent en oligosaccharides naturels et oligosaccharides fonctionnels. Les OS naturels (sucrose, lactose, maltose) vont fournir principalement de l'énergie sans pour autant avoir d'effet sur la croissance bactérienne. Par contre, les OS fonctionnels extraits des plantes (42), sont utilisés comme prébiotiques capables de stimuler la prolifération bactérienne dans le colon (25). Les oligosaccharides fonctionnels sont les suivants :

❖ Inuline

L'inuline est un oligosaccharide de type fructane constituée d'un polymère de 2 à 100 fructoses agencés entre eux par des liaisons β -(2,1) avec un glucose terminal lié en α (43). Ils peuvent être extraits des plantes dicotylédones comme la racine de chicorée, oignon, asperge, ou artichaut (43) (**Figure 9**).

❖ Les Fructo-oligosaccharides et les Galacto-oligosaccharides

Les fructo-oligosaccharides (FOS) sont des polymères de fructose et glucose en liaison β -(2,1), tandis que les galacto-oligosaccharides (GOS) sont constitués de galactose en liaison β -(1,4) (44). Elles sont présentes naturellement dans diverses plantes comme l'agave bleue, des fruits (bananes, pêches), des légumes (oignons, racines de chicorée, ail, asperges, poireaux) et de céréales (seigle, blé, l'orge) (45). La plupart des FOS et GOS disponibles dans le commerce sont fabriqués industriellement à partir de saccharose et sont considérés comme des fibres fonctionnelles du fait de leurs effets physiologiques bénéfiques chez l'homme.

Les FOS et GOS peuvent aussi être synthétisés suite à la dégradation de l'inuline ou du lactose par le microbiote intestinal (**Figure 10**). Les FOS sont produits à partir du saccharose ou de l'inuline via la β -fructofuranosidase et l'inulinase. En revanche les GOS sont produits à partir du lactose via la β -galactosidase. La production et l'utilisation industrielles de certains oligosaccharides (ex : FOS, GOS) ont fortement augmenté en raison de leurs propriétés bénéfiques sur la santé (25,44).

❖ Arabinoxylanes (AX)

Les arabinoxylanes (AX) sont les composants majeur des fibres alimentaires des céréales au même titre que la cellulose, la β -glucane, et la lignine (31). L'hydrolyse des AXs par la β -(1,4) xylanase donne deux types d'oligosaccharides, les arabinoxyloligosaccharides (AXOS) et les xylo-oligosaccharides (XOS). Cependant les XOS et les AXOS peuvent être apportés directement par l'alimentation (44,46).

Les xylo-oligosaccharides (XOS) sont composés d'unités de xylane, un polysaccharide qu'on retrouve dans l'épi de maïs. Par contre, les Arabino-xylooligosaccharides (AXOS) sont une substitution du squelette de XOS par des résidus arabinofuranosyles associés entre eux par des liaisons glycosidiques α -(1,2) ou α -(1,3) (44,46).

I. 2. 2. 3. Les amidons résistants (AR)

L'amidon est un polymère linéaire de molécules de D-glucose reliées par des liaisons α -(1,4) et/ou α -(1,6). L'amidon alimentaire comprend typiquement un mélange d'amylose, chaînes linéaires de résidus de glucose liés entre eux par des liaison α -(1,4), et d'amylopectine, chaînes d'amylose reliées par des ramifications latérales α -(1,6) (29). Il se présente dans les végétaux sous forme granulaire (47).

La digestion de l'amidon commence dans la bouche grâce à l'amylase salivaire, puis dans l'intestin par l'amylase pancréatique (48). Les molécules d'amidon qui échappent à cette digestion sont dégradées par le microbiote intestinal au niveau du colon (49). Le degré de dégradation des amidons dans l'intestin grêle va permettre de les classier en 3 catégories : les digestibles, les moins digestibles et les résistants (50). Les amidons résistants sont des amidons composés de molécules d'amylose et d'amylopectine plus ou moins ramifiées. Une teneur élevée en amylose ou en longues chaînes ramifiées d'amylopectine augmente la résistance de l'amidon à l'hydrolyse intestinale (29). Les amidons peuvent être protégés de l'hydrolyse intestinale par les α -amylases produites par le pancréas selon plusieurs mécanismes physico-chimiques. Cela a permis la classification des AR en quatre types (51) :

→ AR 1 : Amidon physiquement inaccessible suite à une encapsulation de l'amidon dans des parois cellulaires (type cellulose) résistantes à la digestion.

→ AR 2 : Amidon présent naturellement sous forme de granule d'amidon, notamment dans les pommes de terre crues. Cependant, ces amidons sont inclus dans une structure compacte limitant l'accès aux enzymes digestives comme les α -amylases.

	Fibres alimentaires	Structure chimique	Enzymes de dégradations
Amidons résistants	Amidons résistants	Unités d' α -(1,4) Glu, ramifiées au α -(1,6) Glu	α -Amylase, glucoamylase, isoamylase, pullulanase,
Pectines	Homogalacturonane	Unités linéaires d' α -(1,4) GalA partiellement méthylées ou acétylées	Polygalacturonase, pectine méthyl estérase, pectine lyase, pectine acétyle estérase
	Galactane pectique	Unités de β -(1,4) Gal, β -(1,6) Gal, α -(1,4) Ara	β -(1,4) Galactanase, β -(1,6) galactanase, α -arabinosidase
	Arabinogalactane	Unités de β -(1,3) Gal, β -(1,6) Gal, α -(1,5) Ara, et (1,3) Ara	β -(1,3) Galactanase, β -(1,6) galactanase, α -(1,5) arabinanase, α -l-arabinofuranosidase
	Arabinane	Unités d' α -(1,5), (1,3) et α -(1,2) Ara	α -(1,5) Arabinanase, α -l-arabinofuranosidase
Cellulose	Cellulose	Unités de β -(1,4) Glu	Endoglucanase, cellulobiohydrolases, β -glucosidases
Hémicellulose	Arabinoxylane	Unités de β -(1,4) -xyl en tant que squelette avec des chaînes latérales d'unités Ara liées entre elles par des liaisons α -(1,2), α -(1,3) et α -(1,5). Les unités Gal, GluA et FerA peuvent également être présentes dans les points ramifiés	Xylanase, α -glucuronidase, α -l-arabinofuranosidase, β -xylosidase, feruloyl estérase, acétyle xylane estérase
	Xyloglucane	Unités de β -(1,4) Glu comme squelette avec des chaînes latérales unitaires de α -(1,6) Xyl. Gal et Fuc peuvent également être présents dans le point ramifié	Xylogluconase, xylosidase, β -d-gluconase, β -d-galactosidase
	Glucomannane	Chaîne dorsale linéaire ou légèrement ramifiée de β -(1,4) Man et β -(1,4) Glu	β -Mannanase, β -mannosidase, β -glucosidase, α -galactosidase
	Galactomannane	Chaîne dorsale linéaire ou légèrement ramifiée de β -(1,4) Man et β -(1,4) Glu avec chaînes latérales de α -(1,6) Gal	β -Mannanase, β -mannosidase, β -glucosidase, α -galactosidase
	β - Glucane	Polymère linéaire répétitif de deux β -(1,4) Glu en alternance avec des unités β -(1,3) Glu	Licheninase, β -glucan endohydrolase, endo (1,4) β -glucanase
Fructanes	Inuline	Unités de β -(2,1) Fru	Inulinase, β -(2,1) fructanlyase

Tableau 3 : Tableau résumant les structures des différentes fibres alimentaires ainsi que leurs enzymes de dégradation respectives. Ara, arabinose ; FerA, acide férulique ; Fru, fructose ; Fuc, fucose ; Gal, galactose ; GalA, acide galacturonique ; GluA, acide glucuronique ; Glu, glucose ; Man, acide mannuronique (67)

→ AR 3 : Amidon physiquement modifié suite à une réaction de déstructuration puis une réassociation des molécules d'amylose et d'amylopectine via une action de chauffage et refroidissement. Une réaction convertissant aléatoirement une partie des liaisons α -(1,4) en liaison α - ou β -(1,2), (1,3) ou β -(1,4). A titre d'exemple, la cuisson du riz, des pâtes ou des pommes de terre suivie d'un refroidissement et incorporation dans une salade, un sushi, etc.

→ AR 4 : Amidon chimiquement modifié (réticulation, estérification, trans-glycosylation) par les industriels de façon à résister aux enzymes digestives. Ils sont utilisés en tant qu'additifs alimentaires dérivés à partir de maïs, pommes de terre ou riz.

Pour résumer, les amidons résistants sont présents naturellement dans les produits végétaux (AR1 et AR2), mais peuvent également être produits par la modification de l'amidon lors du traitement des aliments par la cuisson et le refroidissement ou l'extrusion de féculents (AR3). Il est également fabriqué dans l'industrie pour être utilisé en tant que fibre fonctionnelle ou élément texturant dans l'industrie agro-alimentaire (AR4) (52). Leur structure en forme de granules, plus ou moins serrées, réduit leur hydrolyse par les enzymes digestives, comparé à l'amidon gélatinisé. Plus le degré de gélatinisation de l'amidon est faible, ce qu'on retrouve après cuisson, plus sa résistance à la digestion est grande (53).

L'ensemble des structures des différentes fibres et enzymes de dégradation associées est résumé dans le **Tableau 3**.

I. 2. 3. Caractéristiques physico-chimiques des fibres

I. 2. 3. 1 Solubilité

Les propriétés d'hydratation suivent les lois de la thermodynamique et sont caractérisées par la cinétique d'absorption de l'eau. Dans le cas des fibres alimentaire, la solubilité comprend la capacité de gonflement, c'est-à-dire le volume occupé après hydratation dans des conditions spécifiées, par une masse unitaire de fibre, et par sa capacité de rétention d'eau. L'eau peut être piégée entre les particules de fibre (eau extra-particulaire), ou piégée dans les pores ou la surface des particules de fibres (eau intra-particulaire) (54).

La solubilité des fibres alimentaires va dépendre du degré de polymérisation ainsi que des types de liaisons mises en jeu pour former les polymères, notamment les liaisons β -(1,4) (55). Ainsi, plus les points de ramification sont élevés, plus la fibre sera soluble contrairement aux fibres adoptant une conformation ordonnée et linéaire en solution comme la cellulose (31,56). Le pH et la force ionique du milieu jouent également sur la solubilité des fibres en modifiant la charge des fibres alimentaires. De ce fait, les fibres alimentaires chargées telles que les pectines

Soluble	Visqueux	Fermentescible
Alginate Amidons résistants AXOS-XOS β -glucane FOS-GOS Galactomannane Gomme Inuline Pectines Polydextrose Psyllium	Alginate β -glucane Galactomannane Gommés (ex. guar gum) Pectines Psyllium	Alginate Amidons résistants AXOS-XOS β -glucane FOS-GOS Galactomannane Gomme Inuline Pectines Polydextrose Psyllium
Insoluble	Non Visqueux	Peu Fermentescible
Cellulose Hémicelluloses Lignine	Amidons résistants AXOS-XOS FOS-GOS Inuline Polydextrose	Cellulose Lignine

Tableau 4 : Classification des fibres en fonction de leur solubilité, viscosité et fermentescibilité. FOS, Fructo-oligosaccharides ; GOS, galacto-oligosaccharides ; XOS, xylo-oligosaccharides ; AXOS, Arabino-xylooligosaccharides) (8, 18, 63, 64)

seront généralement solubles dans l'eau en raison de la répulsion électrostatique qui inhibe le conditionnement ordonné. En revanche, elles seront insolubles sous leur forme acide et en présence d'une force ionique forte. Certaines fibres insolubles dans l'eau froide (ARs) se dissoudront suite à une hausse de la température, favorisant la conversion en formes désordonnées et en éliminant les liaisons (57).

Parmi les trois classes de fibres, les OS comme l'inuline, les FOS et les GOS (25), sont les plus solubles dans l'eau (44) contrairement aux ARs, à l'exception de l'AR3 (58). En revanche, les PNA comme la lignine ou la cellulose sont insolubles dans l'eau, alors que le β -glucane, le psyllium, la pectine ou la gomme de guar sont complètement ou partiellement solubles (8,59). Les fibres insolubles constituent le groupe de fibres le plus représenté chez les végétaux mais le ratio fibres solubles / insolubles peut être variable d'un aliment à l'autre. Par exemple, l'avoine, l'orge, les fruits, les légumes frais et les légumes secs (haricots, lentilles, pois chiches) constituent de bonnes sources de fibres solubles. À l'inverse certaines céréales complètes, en particulier, le son de blé, les graines oléagineuses, les feuilles, les racines, ainsi que la paroi des fruits et légumes constituent de bonnes sources de fibres insolubles (8,60).

I. 2. 3. 2. Viscosité

La viscosité d'un fluide peut être grossièrement décrite comme sa résistance à l'écoulement (56). Plus la viscosité augmente, plus la capacité du fluide à s'écouler facilement diminue. La viscosité de la phase liquide du digesta peut être augmentée en présence de quantités significatives de macromolécules dissoutes, comme les fibres alimentaires (61). En général, les fibres de conformation linéaire et de masse moléculaire élevée ont une viscosité plus élevée que les fibres de conformation plus compacte et/ou de faible masse moléculaire (55,56). De plus, par unité de volume, plus la concentration de molécules augmente, plus elles se touchent pour former un réseau enchevêtré. À faible concentration, les molécules sont bien séparées les unes des autres et peuvent se déplacer plus facilement sans interagir, diminuant ainsi la viscosité (56).

La viscosité des fibres alimentaires est positivement corrélée à leur solubilité. D'ailleurs, les fibres solubles sont connues pour leur capacité à augmenter la viscosité, contrairement aux fibres insolubles (caractérisées par leur porosité) permettant d'accélérer le transit intestinal et d'augmenter la masse fécale (62). De ce fait on distingue parmi les fibres solubles, des degrés de viscosité différents (**Tableau 4**) (8,18,63,64). La viscosité confère aux fibres solubles la capacité de former un gel favorisant le piégeage des nutriments et une diminution de leur absorption au niveau intestinal (65,66).

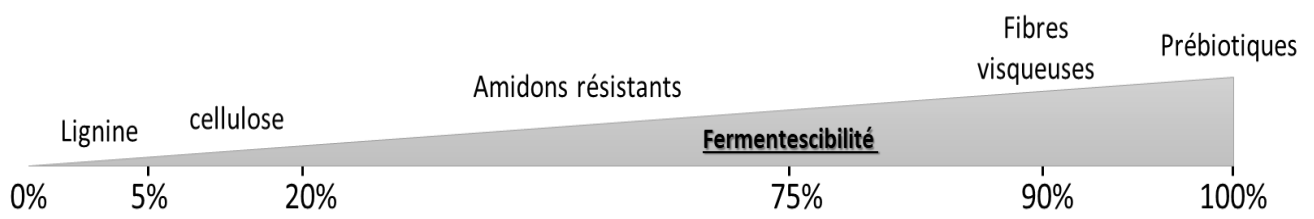


Figure 11 : Degré de fermentescibilité des fibres alimentaires dans le colon (66)

I. 2. 3. 3. Fermentescibilité

La fermentation est un processus dans lequel des micro-organismes (ici, intestinaux) transforment la matière organique en d'autres produits. Un grand nombre de microorganismes, qualifiés sous le nom générique de microbiote ou flore intestinale, colonisent la surface de l'épithélium intestinal. Ce microbiote permet la dégradation et la transformation d'une partie des aliments difficilement digérés par les enzymes digestives, et parmi eux les fibres alimentaires (65,66). L'absence d'enzyme intestinale capable de dégrader les liaison β des fibres alimentaires, conduit à leur indigestion dans la partie supérieure de l'intestin. De ce fait, les fibres alimentaires sont dégradées par le microbiote colique, capable de synthèse des enzymes permettant l'hydrolyse des liaison β (**Tableau 3**). Le niveau de fermentation des fibres alimentaires au niveau du colon est fonction du degré de solubilité des fibres (**Figure 11**). Plus les fibres sont solubles (pectine, β -glucane, inuline, oligosaccharides) plus elles seront fermentées. De plus, cette fermentescibilité sera d'autant plus rapide que la taille des fibres est petite (22,66,67).

I. 2. 3. 4. Résumé

Le classement des fibres alimentaires selon leurs caractéristiques physicochimiques permet par la suite de comprendre leur comportement au sein du bol alimentaire dans le tractus gastro-intestinal et conditionne leur devenir (**Tableau 4 et Figure 11**). La solubilité et la viscosité vont plutôt avoir un effet sur le transit gastro intestinal, alors que la fermentescibilité va principalement impacter la biodiversité microbienne et la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) et de gaz. Néanmoins, solubilité et viscosité sont également des éléments conditionnant la fermentescibilité : l'ensemble de ces critères est fortement lié.

Aliment	Fibres (g/100g)	Fibres solubles (%)	Fibres insolubles (%)	Cellulose	Pectine	β -glucane	AR	OS
Légumes	0,5-6	37	63	+	+	-	-	-
Fruits								
Frais	0,4-10	43	57	+ (peau)	++	-	+/-	-
Secs	0,1-11	53	47	+	++	-	-	-
Noix et graines	1-14	32	68	+	+	-	-	-
Légumineuses	4-11	25	75	+	-	-	++	++
Pommes de terre et tubercules amylicés	0,5-8	48	52	+	+	-	+	-
Céréales de petit déjeuner et barres de céréales	1-15	27	73	+	-	+	+	+
Bouillie d'avoine	2	52	48	+	-	++	+	+
Produits à base de seigle	4-6	44	56	+	-	++	+	+
Riz								
Blanc	<1	0	100	+	+		+	
Entier	2-4	13	87	++	+		+	

Tableau 5 : Nature et quantité des fibres alimentaires présentes dans les principales catégories d'aliments. AR, amidons résistants ; OS, oligosaccharides (8)

Pays	Fibres céréalières (%)		Fibres fruits (%)		Fibres légumes (%)		Fibres fruits-légumes (%)		Etudes
	Enfant	Adulte	Enfant	Adulte	Enfant	Adulte	Enfant	Adulte	
Allemagne	50	-	20	-	18	-	38		DONALD
Espagne	-	28	-	20	-	22	-	42	ENCAT
France	25	27	11	18	19	22	30	40	INCA2
France	24	27	13	15	15	20	28	35	INCA3
Irlande	-	48	-	8	-	17		25	Enquête
Pays-Bas	43		11		15		26		Enquête
Etats unis	35	32	15	14	20	30	35	44	NHANES

Tableau 6 : Les principales sources alimentaires de fibres chez les enfants et les adultes : différences entre pays (8)

I. 3. Sources alimentaires des différents types de fibres

Les fibres alimentaires sont présentes naturellement dans les céréales, les fruits et légumes, les légumineuses et les tubercules (68,69) (**Tableau 5**). La quantité et la composition en fibres varient en fonction de la source alimentaire (8,60). Concernant la quantité (g/100g poids sec) des fibres alimentaires dans les aliments, elle varie pour les céréales de 1% (ex : Riz blanc) à 15% (ex : seigle), les fruits de 0,5% (ex : pastèque) à 13% (ex : goyave), les légumes de 1% (ex : salade) à 5% (ex : brocoli) et les légumineuses de 4% (ex : Niébé) à 11% (ex : pois) (8,60). Si on s'intéresse au type de fibres composant les céréales, fruits, légumes et légumineuses, on constate que les fibres insolubles sont présentes en plus grande proportion que les fibres solubles (8,69). De plus il est remarquable que la cellulose et les amidons résistant soient des fibres retrouvées dans la quasi-totalité des aliments, contrairement à la pectine (légumes, fruit, noix et graines), la β -glucane (céréales) et certains oligosaccharide (légumineuses, céréales) (8,69).

En plus de l'apport en fibres alimentaires présentes naturellement dans les produits de notre consommation courante, certaines peuvent être extraites, transformées ou synthétisées chimiquement ou par des procédés enzymatiques et ajoutés dans des produits (agro-alimentaires) transformés. Les fibres fonctionnelles (considérées comme des additifs) sont utilisées de plus en plus par les industries alimentaires en tant que structurant alimentaire (pectine, gommes) mais aussi pour des allégations santé.

I. 4. Quelles sont les sources alimentaires vectrices de fibres dans les pays industrialisés ?

I. 4. 1. Aliments vecteurs de fibres dans les pays industrialisés : données qualitatives

Le groupe des fruits et légumes constitue le premier contributeur des apports en fibres devant les produits céréaliers chez les adultes (25% en Irlande, 35% en France, 42% en Espagne et 44% aux Etats Unis) et les enfants (ex : 30% en France, 41% en Espagne et 35% aux Etats Unis) (**Tableau 6**). Les produits céréaliers (pain, pâtes, riz, céréales du petit déjeuner...) constituent la seconde source de fibres notamment en France ($\approx 30\%$), aux Etats-Unis (35%) ou en Allemagne (50%) (8). D'une manière générale les fruits et légumes ainsi que les produits céréaliers sont les principaux contributeurs des apports en fibres chez les adultes comme chez les enfants. La quantité de fibres ingérée par une population va ainsi dépendre non seulement de la source, de la zone géographique mais aussi de la population étudiée (enfants ou adultes) (**Tableau 6 et 7**).

Pays	Fibres M (g/d)	Fibres F (g/d)	Fibres M/F (g/d)
Autriche	21	20	20,5
Allemagne	27	25	26
Belgique	18	16	17
Espagne	13	12	12,5
Danemark	24	21	21
Irlande	21	17	19
France	22	18	20
Norvège	26	22	24
Italie	20	18	19
Royaume Uni	21	17	19
Europe	21	19	20
Etats-Unis	21	16	18,5
Canada	20	14	17
Japon	18	19	18,5

Tableau 7 : Les consommations moyennes en fibres alimentaires chez les adultes (>17 ans) dans quelques pays industrialisés. M, masculin ; F, féminin ; M/F, la population (8).

Pays	Fibres M (g/d)	Fibres F (g/d)	Fibres M/F (g/d)
Autriche	17	16	16,5
Allemagne	26	23	24,5
Belgique	15	13	14
Danemark	20	18	19
Irlande	12	9	10,5
France	16	14	15
Norvège	16	14	15
Italie	16	14	15
Royaume Uni	16	14	15
Etats-Unis	17	13	15

Tableau 8 : Les consommations moyennes en fibres alimentaires chez les enfants (<17 ans) dans quelques pays industrialisés. M, masculin ; F, féminin ; M/F, la population (8)

I. 4. 2. Aliments vecteurs de fibres dans les pays industrialisés : données quantitatives

Plusieurs études ont recensé la quantité de fibres alimentaires consommées par pays, par tranche d'âge et par genre. Les estimations de l'ingestion en fibres sont très variables d'un individu et d'un pays à l'autre. Dans les pays industrialisés, la consommation de fibres alimentaires chez les adultes de plus de 17 ans, varie de 18 à 26 g/j pour les hommes et 14 à 27 g/j pour les femmes (**Tableau 7**). En France, la consommation de fibres alimentaires est de l'ordre de 20 g/j dont 22 g/j chez les hommes et 18 g/j chez les femmes. Chez les enfants de moins de 17 ans, notamment en Europe, la consommation de fibres alimentaires varie de 11 g/j (Irlande) à 25 g/j (Allemagne) (**Tableau 8**). Cette consommation moyenne est équivalente à celle des Etats-Unis. Ces apports de fibres dans le monde sont inférieurs aux niveaux recommandés, généralement supérieur ou égal à 25 g/j (8), par les instances de santé gouvernementales (**Tableau 9**).

Recommandation (g/j)	Enfants (<17 ans)	Adultes (>17 ans)
Royaume Uni	20-25	30
France	Age+5g	30
Belgique	40	30
Europe	10-21	>25
Etats-Unis	29-32	25-32
Australie	21-26	25-30
OMS		>25

Tableau 9 : Recommandations pour l'apport total en fibres alimentaires (g/j) par les autorités de santé de différents pays selon la tranche d'âge (adultes (>17 ans) et enfants (<17ans) (8)

II. Fibres alimentaires et maladies chroniques

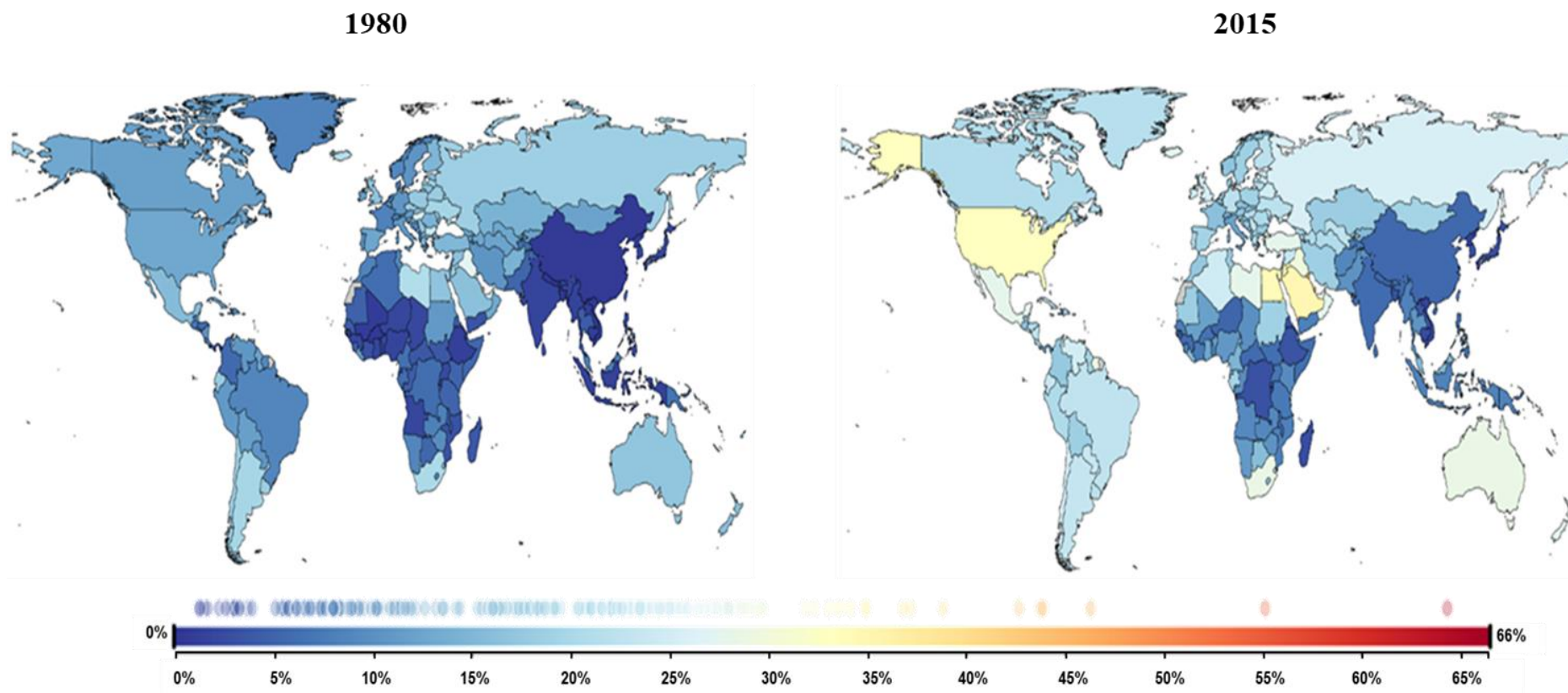


Figure 12 : Prévalence mondiale de l'obésité (IMC \geq 30 kg/m²) en 1980 et en 2015 chez les adultes (\geq 20 ans) (Institute for Health Metrics and Evaluation)

La consommation de produits riches en fibres alimentaires présente un effet bénéfique global sur de nombreuses pathologies ou dérèglements métaboliques nutri-induits comme l'obésité, du diabète, des maladies cardiovasculaires, et de certains cancer (8). Cette partie de la revue bibliographique va revenir sur des données chiffrées de l'impact de l'ingestion de fibres sur chacune de ces pathologies et les mécanismes physiologiques par lesquels ils peuvent avoir un effet santé.

II. 1. Obésité

II. 1. 1. L'obésité dans le monde et en France

L'obésité est caractérisée par une accumulation abdominale et viscérale de tissus adipeux, s'accompagnant souvent d'une augmentation des concentrations plasmatiques en glucose et lipides (cholestérol et triglycérides). Sa prévalence est en perpétuelle augmentation dans le monde (70). L'obésité est un facteur de risque majeur de développement de l'insulino-résistance, de la dyslipidémie, de l'inflammation et de l'hypertension artérielle qui peuvent déboucher *in fine* sur l'occurrence de maladies cardiovasculaires, du diabète de type 2, et d'un certain nombre de cancers (71–73). Depuis 1980, la prévalence de l'obésité a doublé dans plus de 70 pays du monde (Canada, Etats-Unis, Mexique, Brésil.....) et continue d'augmenter (70) (**Figure 12**). Selon l'OMS en 2014, au niveau mondial, plus d'1 adulte sur 3 était en surpoids et plus d'1 adulte sur 10 était obèse. Selon les Etudes INCA, les français consomment une alimentation plus riche en lipides et sucres (39 % et 44%) qu'en protéines et fibres (17 %) (7,74), favorisant ainsi la prévalence du surpoids et de l'obésité qui s'établit à 47-51% chez les adultes de 18 à 79 ans, selon l'étude INCA2, 2009 et ObEPI, 2012 (74,75).

II. 1. 2. Profils alimentaires associés à une diminution de l'obésité / moindre prise de poids dans les études épidémiologiques : rôle des aliments riches en fibres

De nombreuses études sur cohortes de type transversales ou longitudinales se sont intéressées à déterminer le lien entre la nature du régime, la prise de poids et l'adiposité. Un consensus quasi général (76,77) montre que la consommation importante de céréales complètes, de produits céréaliers et de fibres au sens large est associée à une moindre prise de poids (études transversales et longitudinales (78–81)), à un rapport taille/hanches, une masse viscérale, un tissu adipeux viscéral et sous cutané inférieurs (82–85). A l'inverse, les régimes riches en graisses et pauvres en fibres sont associés à une plus grande prise de poids (exemple : (86,87)).

Ces études, nombreuses, ont étudié ces effets sur des cohortes de taille variées (50 à plusieurs dizaines de milliers de personnes) et de populations variées en terme d'âge (enfants, adolescents, adultes, femmes enceintes, adultes âgés normo-pondéraux et obèses), de genre et de lieu de vie (essentiellement les pays développés néanmoins) et ont également combiné des données de différents pays du monde (Etude sur sept pays, Asie, USA, 16 cohortes) (88) et européennes (Cohorte HELENA par exemple) (89). Quantitativement, les individus consommant le niveau le plus élevé d'aliments riches en fibres présentent un risque diminué d'obésité et de prise de poids de l'ordre de 20-30% (90), avec un effet dose réponse possible. Une étude longitudinale sur 8 ans a montré, sur une cohorte de 27082 hommes américains, qu'avec une augmentation de consommation de 40 g/j de farine/grains complets, le gain de poids était réduit de 0,49 kg (91). Ce faible effet bénéfique des produits céréaliers est particulièrement important dans le cas des céréales complètes de petit déjeuner, du riz brun, des germes de blé et du son (92). En plus des céréales complètes, une récente méta-analyse a montré que la consommation de graines de légumineuses (132 g/j) contribuait aussi à une baisse de la prise de poids de 0,34 kg en 6 semaines (93).

Sur ces études observationnelles, une stratification a été réalisée séparant l'apport de fibres provenant des céréales avec celui des fruits et légumes. Alors que l'impact des produits céréaliers complets est plus clairement établi (voir plus haut), les fruits et légumes peuvent ne présenter que peu ou aucune corrélation significative avec le poids et la composition corporelle (79,83), ou dans des conditions très spécifiques comme lorsque combiné avec l'arrêt de la cigarette (94). Certaines études montrent néanmoins une corrélation négative entre la consommation de fruits et la faible prise de poids sur le long terme (91,95). Ces différences entre produits céréaliers et des fruits et légumes peuvent venir de la nature des fibres présentes dans chacun de ces aliments. Quand la stratification est réalisée selon le critère soluble/insoluble, les données épidémiologiques sont encore plus limitées avec un impact des fibres insolubles sur le tissu adipeux viscéral (84).

Malgré des informations épidémiologiques pertinentes, ces études transversales et longitudinales ne sont cependant pas dénuées de limites car 1/ elles sont basées le plus souvent sur des analyses déclaratives de la consommation (relevés alimentaires), 2/ Sont étudiés sur des aliments ou groupes d'aliments et l'effet constaté de ces aliments peut aussi provenir d'un enrichissement spécifique des produits céréaliers en autres macro/micronutriments comme les vitamines A, les folates, le magnésium, le fer (96) 3/ le niveau d'énergie ingéré par les volontaires n'est pas toujours pris en compte comme facteur confondant alors que les régimes

Fibres	Appétit subjectif		Apport énergétique aigu		Apport énergétique à long terme		Poids corporel	
	Etudes	Effet	Etudes	Effet	Etudes	Effet	Etudes	Effet
Arabinoxylane					2	+	3	+
Enrichi en arabinoxylane	16	+	1	-	8	++	12	-
Chitosane					1	-	7	++
Dextrine	3	-	1	++	4	-	3	++
Fructanes	6	-	4	-	5	++	3	+
Glucanes	13	++	5	-	1	-	2	-
Enrichi en β -glucane	2	-	4	++	3	-	4	-
Mannanes	8	+	6	-	6	++	26	+
Enrichi en pectine	1	++					1	-
Pectine	4	++	1	++				
Amidons résistants	3	-	1	++	6	+	3	-
Caractéristiques des fibres								
Très visqueuses	37	++	16	+	12	-	45	+
Moins visqueuses	21	+	10	-	26	+	21	+
Très soluble	46	+	22	+	23	+	47	+
Moins solubles	12	+	4	-	15	+	19	+
Très fermentescibles	33	+	16	+	24	+	39	+
Moins fermentescibles	25	+	10	-	14	+	27	+
Totalité des fibres	58	+	26	+	38	+	66	+

Tableau 10 : Effet résumé de l'effet des fibres sur l'appétit, l'ingestion d'énergie et le poids corporel. Appétit subjectif : (-), une absence d'effet ; (+), un effet de 1-50% ; (++) , un effet de 51-100%. Pour l'apport énergétique aigu, l'apport énergétique à long terme et le poids corporel : (-), un effet de 0-50% ; (+) un effet de 51-75% ; (++) , un effet de 76-100% (98)

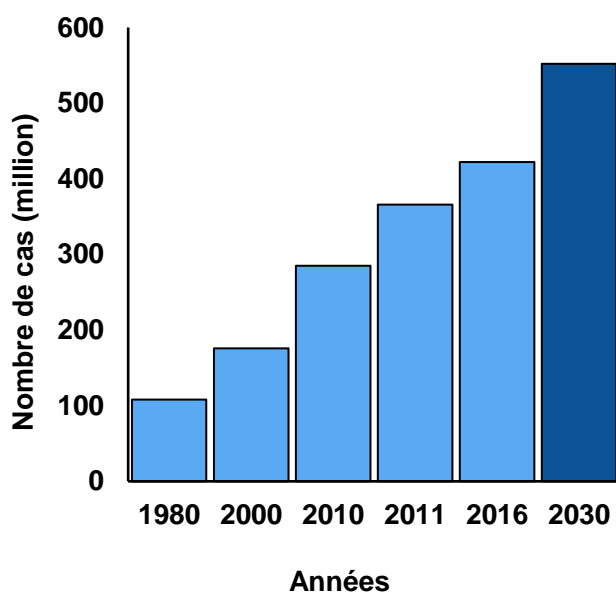


Figure 13 : Evolution mondiale du diabète (nombre de cas) de 1980 à 2016. Projection à l'horizon 2030 (103, 105, OMS)

riches en fibres ont généralement une densité énergétique moindre. Pour mieux comprendre les mécanismes d'action des différentes fibres alimentaires, déterminer l'impact de la solubilité des fibres ou d'aliments spécifiques, des études interventionnelles ont été réalisées.

II. 1. 3. Impact des fibres et aliments riches en fibres sur le poids : études interventionnelles

Dans le cas des études interventionnelles, les effets des fibres sur le poids se doivent d'être réalisés que sur le long terme, ce qui élimine de fait de nombreuses études réalisées sur quelques jours ou 1-2 semaine et ayant pour but d'étudier le métabolisme glucidique et l'insulino-résistance précoce (97). Globalement, les suppléments en fibres diminuent à la marge le poids corporel relativement au groupe témoin (0,4% sur 4 semaines pour un individu moyen de 79 kg) (90,98). Cet effet global assez faible, y compris pour les céréales complètes (99) ou le pain (100), pourrait s'expliquer par une efficacité variable selon les fibres et aliments vecteurs de fibres et aux propriétés physico-chimiques des fibres à induire la perte de poids. Les effets spécifiques de fibres prises individuellement, sur la perte de poids, sont résumés dans le **Tableau 10**. Concernant spécifiquement les fibres solubles, une SLR (Systematic Literature Review) (101) publiée en 2017 montre que des suppléments en fibres solubles, permettent de réduire l'IMC (indice de masse corporel), le poids (-2,5 kg) et les graisses corporelles (-0,41%) et conforte les données précédemment décrites.

II. 2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique qui touche actuellement 422 millions de personnes dans le monde dont 3 millions de cas en France (102–104), et ce chiffre devrait atteindre 552 millions d'ici 2030 (105) (**Figure 13**). Si on s'intéresse plus particulièrement au diabète de type 2 (DT2), il est la conséquence d'une dérégulation de l'homéostasie du glucose avec une hyperglycémie à jeun, associée à une résistance tissulaire à l'insuline (73). Ce diabète favorise à terme, comme l'obésité, le développement des maladies cardiovasculaires ou la stéatose hépatique (71–73). En général, la prise de poids et l'excès de graisse intra-abdominale prédisposent fortement à une résistance tissulaire de l'insuline et finalement au développement du DT2.

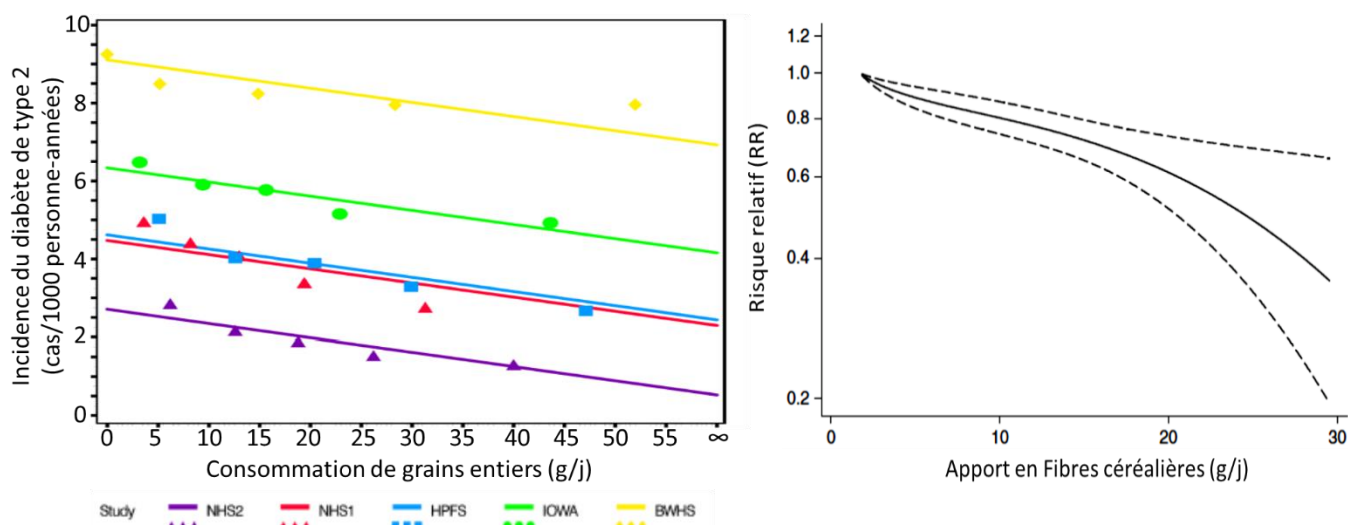


Figure 14 : Association négative entre la consommation céréales complètes et le risque relatif de diabète de type 2 (111, 112)

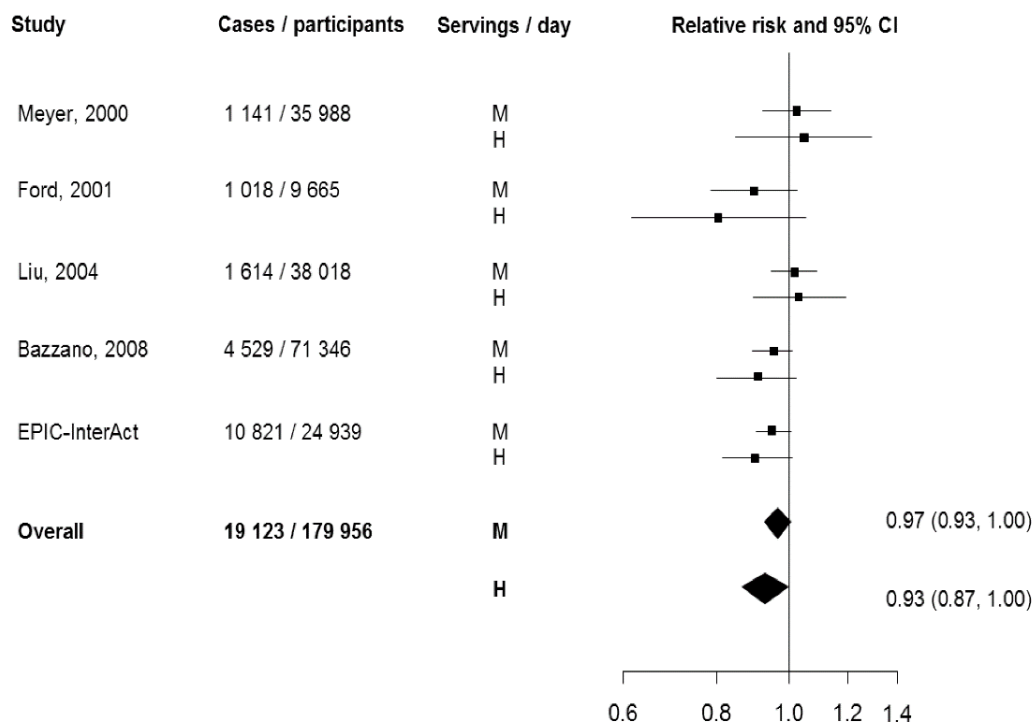


Figure 15 : Association entre la consommation de fruits et légumes et le risque relatif de diabète de type 2 (118)

II. 2. 1. Impact des fibres et aliments riches en fibres sur le diabète : études épidémiologiques

Une étude récente (2017), réalisée sur plusieurs revues et méta-analyses, a montré une relation inverse entre la consommation de céréales complètes, fruits, légumes et légumineuses et le risque de DT2 (106). Des études épidémiologiques (longitudinales et transversales) sur cohorte, ont souligné aussi une association inverse entre la consommation de fibres alimentaires (20-30 g/j) provenant des végétaux, et la réduction du risque de DT2 (-20% à -30%) (107–110).

Plusieurs études se sont intéressées à connaître plus précisément les sources vectrices des fibres ayant un effet bénéfique sur la santé. Toutes ces études mettent en avant une réduction du risque de diabète associé à la consommation de céréales (>20%), en particulier les céréales complètes (106,111,112) (**Figure 14**). Par contre, les céréales raffinées favorisent le risque relatif de DT2 (106). En ce qui concerne le son et les germes des céréales complètes, Munter et coll. ainsi que Sun et coll. (études longitudinales) ont montré que la consommation de germe (1,5 g/j) ou de son (11 g/j) de céréales complètes était inversement liée au risque de DT2 (-20% et -40%) (113,114). Ceci tend à montrer que l'effet des céréales complètes sur le risque de diabète pourrait être lié aux fibres alimentaires et/ou à d'autres molécules phytochimiques très présentes dans les céréales complètes, le son ou les légumes, comme le magnésium ou les vitamines (115,116).

Une méta-analyse récente réalisée sur 20 études épidémiologiques a montré une faible association entre les fibres provenant de fruits, de légumes et le risque de DT2 (106,117) (**Figure 15**). Cependant, la littérature n'est pas totalement unanime car une étude épidémiologique réalisée sur la cohorte CVDFACTS, montre une augmentation de 80% du risque de DT2 associé à une faible consommation de fibres (3g vs 21g) provenant des fruits (mangue, papaye, kaki, orange, goyave, litchi, longane) et légumes (légumes à feuilles, pousses de bambou, légumineuses, citrouilles, carottes, cornichons) (118). Ces différences observées dans la littérature peuvent provenir de la grande diversité des aliments « fruits et légumes » et notamment la grande diversité de composition en macronutriments (dont les fibres) et micronutriments de ces aliments. En effet, lorsque l'on stratifie un peu plus et que l'on classe plus finement les légumes par exemple, il a été montré que la consommation de deux sous types de légumes, à savoir, les légumes à feuilles vertes (les salades, poireaux, choux, épinards, blettes) et à racines (carotte, panais, betterave) sont inversement associés au DT2 (-20%) (119,120). Pour savoir si l'effet des fruits et légumes passent par les fibres ou par d'autres macro ou micronutriments, il convient de s'intéresser aux études interventionnelles.

II. 2. 2. Impact des fibres et aliments riches en fibres sur le diabète : études interventionnelles

Le DT2 se traduit par une diminution de la réponse postprandiale au glucose et par une augmentation de l'hémoglobine glyquée (HbA1c). Quelques revues de synthèse et des méta-analyses ont analysé l'effet des fibres alimentaires (type et quantité) sur le contrôle glycémique chez les patients atteints d'obésité, de surpoids et de diabète de type 2. Dans une analyse longitudinale de 17 cohortes prospectives, il a été observé une relation inverse entre la consommation de fibres alimentaires (>25 g/j) et le risque de diabète (121). De nombreuses études indiquent une amélioration du contrôle de la glycémie et la glycation de l'hémoglobine (HbA1c), chez les personnes atteintes de DT1 ou de DT2 qui ont consommé davantage de fibres. Une méta-analyse réalisée sur une durée de 8-16 semaines a conclu que la consommation d'aliments riches en fibres alimentaires ou supplémentée en fibres solubles a permis d'abaisser les concentrations de HbA1c et du glucose plasmatique à jeun, chez des diabétiques (122). D'autres études à court (2 semaines) (123) et à plus long terme (>4 semaines) (124–127) montrent une réduction des concentrations du glucose, de l'insuline et de l'HbA1c. Si on stratifie les fibres alimentaires, on se rend compte que quel que soit le type de fibres, solubles (psyllium, β -glucane, inuline, Fos) (101,128–130) ou insolubles (cellulose, amidons résistants...) (127,131,132), elles permettent une amélioration de la glycémie et de la glycation de de l'hémoglobine (HbA1c).

II. 3. Maladie cardiovasculaire (MCV)

Les maladies cardiovasculaires (MCV), en affectant le cœur et les vaisseaux sanguins, incluent les maladies coronariennes, les maladies cérébro-vasculaires et sont associées à l'hypertension artérielle (133). Les MCV demeurent l'une des principales causes de mortalité dans les pays occidentaux. En 2015, la prise de poids et l'obésité ont contribué aux 4 millions de morts liés à l'occurrence des maladies cardiovasculaires et du diabète (70). À l'échelle mondiale, chaque année, les MCV causent environ 17 millions de décès (134). En France, 5,2 millions de cas de maladies cardiovasculaires ont été pris en charge par l'assurance maladie en 2015 (135). Parmi les principaux facteurs de risque de ces MCV, on retrouve le comportement alimentaire et la prise de poids, la faible activité physique, le tabagisme et la consommation d'alcool (133).

II. 3. 1. Impact des aliments riches en fibres sur les maladies cardiovasculaires : Etudes épidémiologique

Plusieurs études prospectives de la littérature ont révélé que les régimes riches en fibres alimentaires pouvaient être inversement associées au risque de maladies cardiovasculaires (136–141). Effectivement, le risque de MCV est réduit, de 8% à 21%, suite à une consommation des fruits et légumes (136,142,143), en particulier les agrumes, les raisins, les pommes, les légumes crucifères (brocolis, chou-fleur, choux, cresson, navet) et à feuille verte (les salades, poireaux, choux, épinards) (142). Concernant l'hypertension, Wang et coll. (Cohorte WHS) a pu montrer une association inverse entre la consommation de céréales complètes (≥ 3 portions/jour, soit 22 g/j de fibres) et l'hypertension (11-19%) (144,145). Sur deux études transversales réalisées en France, il a été remarqué que la consommation de fibres alimentaires (146), provenant de fruits, légumes, céréales complètes (147), était associée à une baisse de la pression artérielle des volontaires.

Cet effet des fruits et légumes sur les MCV va dépendre de plusieurs facteurs comme la quantité et la durée de consommation des fibres alimentaires ainsi que le type de fibres, soluble ou insoluble. Concernant la solubilité des fibres, deux récentes études longitudinales réalisées sur des cohortes japonaises et une méta-analyse de 18 études, ont mis en évidence une relation inverse entre l'apport alimentaire en fibres solubles et insolubles et l'incidence des maladies cardiovasculaires (-15%, -36%) (143,148,149). De plus Lairon et coll. sur la cohorte SUVIMAX ont observé une relation inverse entre la consommation de fibres solubles (-14%), insolubles (-32%) (146) et l'hypertension artérielle. Par contre sur cette étude transversale, aucune relation n'a été établie entre les fibres issues des produits céréaliers, de fruits et de légumes et l'hypertension alors que la quantité de fruits et légumes consommée semble jouer un rôle sur les MCV, probablement via l'action des fibres alimentaires. Enfin, la faible quantité de fruits (7,5 g/j) et légumes (9,2 g/j) dans l'étude longitudinale (10 ans) de Mozaffarian n'a pas permis de constater d'association entre les composants des fruits et légumes et le risque de MCV (150), contrairement à une consommation supérieure à 150 g/j (142,151,152).

Au sujet des céréales complètes et les MCV, Cho et coll. ont analysé la littérature de 1965 à 2010 en étudiant l'association entre la consommation de céréales complètes et le risque de MCV. Il a été observé, que la consommation de céréales complètes (> 30 g/j) (153) et de fibres céréaliers (> 2 g/j), était inversement associée au risque de MCV (-12 à -40%) (137). De plus,

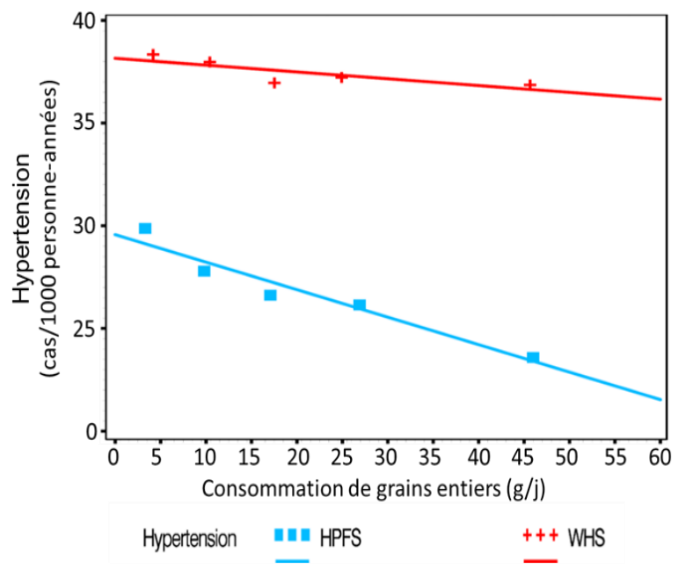
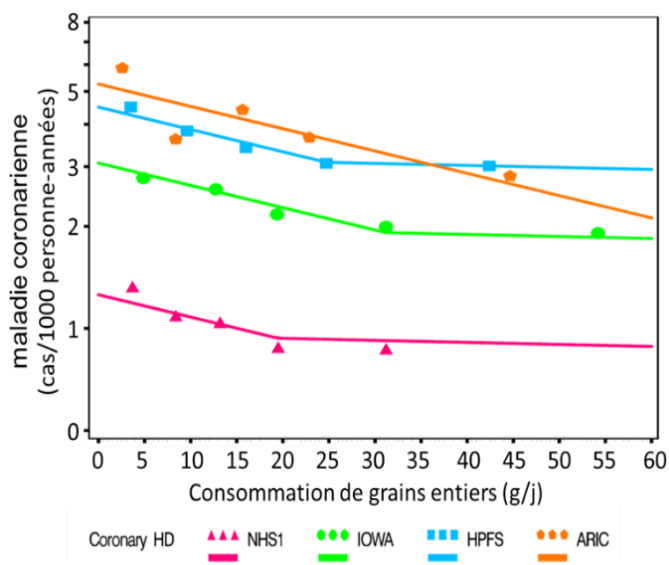


Figure 16 : Association négative entre la consommation céréales complètes et le risque relatif de MCV (112)

une relation dose réponse de l'ingestion des fibres alimentaires sur les maladies cardiovasculaires a été mise en évidence dans plusieurs revues, réalisées sur plusieurs études de cohorte. Les courbes dose-réponse ont montré une relation linéaire entre la consommation de fruits et légumes (100 g/j) (142), céréales complètes (90 g/j) (154), fibres totales (≥ 7 g/j) (155) et la réduction du risque des MCV (**Figure 16**).

L'effet des fibres alimentaires, observé lors de la consommation de fruit et légumes, pourraient néanmoins être associé aux effets du magnésium, potassium et particulièrement des antioxydants (vitamine E, vitamine C..) connus pour limiter le risque de MCV (136,142,156). Des données interventionnelles ont permis de dissocier les effets de chaque nutriment, notamment les fibres alimentaires, sur le risque des MCV.

II. 3. 2. Impact des aliments riches en fibres sur les maladies cardiovasculaires : Etudes interventionnelles

Suite aux données épidémiologiques, plusieurs études interventionnelles se sont intéressées à déterminer si les effets bénéfiques des céréales, fruits et légumes sur le risque de MCV, pouvaient être médiés par les fibres alimentaires. Comme cela a été précisé ci-dessus, l'hypertension est une des composantes majeures des MCV et elle peut être aisément mesurée/quantifiée, ce qui peut être très utile dans les études interventionnelles de type longitudinal. Plusieurs études réalisées sur volontaires en bonne santé ou non, ont montré une faible réduction de la pression systolique (≈ 7 mm Hg) et diastolique (≈ 4 mm Hg) suite à la supplémentation de fibres solubles (psyllium, gomme de guar, β -glucane) dans l'alimentation (157–160). Les mêmes résultats ont été observé sur des rongeurs nourris avec un régime riche en orge (8 g de fibres/100 g), riz (2g de fibres/100 g) ou maïs (1 g de fibres/100 g), sur 16 semaines (161).

En plus de l'hypertension, l'occlusion des artères coronaires (liée à l'athérosclérose), provoque une carence en oxygène et en glucose dans les cardiomyocytes, conduisant à une condition ischémique (162). Des études réalisées sur 1 à 2 ans chez des mini-porc, ont montré que la supplémentation de pectine (3g de fibres/100g) dans un régime riche en graisse limitait le rétrécissement des artères coronaires de 23% comparé au régime supplémenté en cellulose (163,164). Dans des cas d'ischémie, des études sur rat réalisées sur une durée de 3 jours, montrent que la supplémentation en fibres solubles comme la pectine (100mg/kg/j), xyloglucane (100mg/kg/j) ou l'arabinogalactane (50mg/kg/j), dans un régime riche en graisse, a permis de limiter (dans une moindre mesure, c'est-à-dire environ 15%) le rétrécissement des artères coronaires (165–167).

L'athérosclérose est causée par une accumulation de lipides, notamment du cholestérol, au niveau plasmatique. Donc l'hypercholestérolémie (facilement mesurable dans le plasma) fait partie des facteurs favorisant l'incidence des MCV. Quelques études interventionnelles chez des volontaires, sur des porcs hypercholestérolémiques, ont mis en évidence qu'une supplémentation alimentaire ≥ 3 g/j de fibres solubles (psyllium, pectine, β -glucane, inuline, gomme de guar) réduisait les concentrations plasmatiques et hépatiques en cholestérol total, LDL cholestérol et triglycérides (TG) (168–171). Cette relation entre les fibres alimentaires et la dyslipidémie sera détaillée dans la partie concernant les mécanismes physiologiques expliquant l'action des fibres sur la santé.

II. 4. Cancers et autres pathologies

II. 4. 1. Impact des aliments riches en fibres sur le cancer

Le cancer est la deuxième cause de décès dans le monde avec 8,8 million de morts en 2015 (172). En France, l'incidence du cancer en 2017 a été estimée à 400.000 cas dont 150.000 décès (173). Dans les pays industrialisés, les cancers les plus fréquents sont le cancer de la prostate, colorectal, du sein et des poumons (174). L'alimentation, la consommation d'alcool, le tabagisme, une moindre activité physique, font partie des facteurs de risque jouant un rôle clé dans l'apparition ou la prévention du cancer (175–177).

Il existe une étroite association entre la consommation de régime obésogène et le risque de cancer (178). A l'inverse, plusieurs publications basées sur des méta-analyses, ont montré que la consommation de fibres ou d'aliments riches en fibres (fruits, légumes, céréales complètes) était associée à une réduction du risque de cancer (142,154,179–181). Quand on stratifie en fonction du type de cancer, plusieurs études démontrent généralement une association négative entre la consommation de fibres ou aliments riches en fibres et les cancers du tractus digestif, colorectal, du sein, de la prostate ou du pancréas (179,182–190). Cependant, dans le cas du cancer colorectal, certaines études ne démontrent pas cette association (182). Ainsi, les fibres alimentaires sembleraient donc être protectrices, mais d'autres facteurs, tels que les composés phytochimiques, l'apport énergétique alimentaire, le poids corporel des individus étudiés et les facteurs génétiques individuels, peuvent être tout aussi influents.

De nombreuses études interventionnelles réalisées chez l'homme (191–194), les rongeurs (195,196) ou *in vitro* sur des cellules cancéreuses (197–199), montrent que les aliments vecteurs de fibres ou les fibres alimentaires seules (pectine, inuline, FOS, AR) pouvaient limiter le risque de cancer, notamment le cancer colorectal. Les fibres insolubles vont favoriser le transit

intestinal réduisant ainsi le contact des agents cancérigènes avec l'épithélium de l'intestin (avec un impact sur le cancer colorectal), tandis que les fibres solubles favorisent la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC), notamment le butyrate dont le rôle sur la régulation du métabolisme général et intestinal sera détaillé plus loin.

II. 4. 2. Pathologies inflammatoires intestinales

Mis à part l'obésité, le diabète, les maladies cardiovasculaires ou le cancer, les fibres alimentaires, en particulier les solubles et visqueuses, peuvent jouer aussi un rôle sur l'inflammation intestinale, comme le syndrome du côlon irritable, l'ulcère ou la maladie de Crohn. Cette inflammation intestinale aboutit à une perte d'appétit, une malabsorption des nutriments, une carence en macro ou en micronutriments ainsi qu'à la perte de poids (200). Il a été montré sur une étude épidémiologique réalisée sur une cohorte de plus de 170000 femmes sur 26 ans, que la consommation de fibres alimentaires (24 g/j) a été associée à une réduction du risque de maladie de Crohn (40%) et de l'occurrence de l'ulcères (18%) (201). De plus, des données interventionnelles mettant en évidence une amélioration des maladies inflammatoires de l'intestin suite à la consommation de fibres (202) d'avoine (20 g/j) (203), céréales de son de blé (30-50 g/j) (204), de gomme de guar (5 g/j), psyllium (7 g/j) (205), d'orge germé (20-30 g/j) (206,207) et de GOS (7 g/j) (208). Cette amélioration passe par une diminution des douleurs abdominales, du reflux, de crampes, diarrhée, des marqueurs de l'inflammation (protéine C réactive (CRP), Facteur de nécrose tumorale (TNF α), interleukines (IL)), ainsi qu'une augmentation des bifidobactéries et de la production de butyrate (203,207,209,210). A noter néanmoins que la production de gaz, dans le cas de certaines fibres très fermentescibles (ou d'une ingestion en trop grande quantité de celles-ci), pourrait être contre-productive et amplifier les sensations de ballonnement (production de gaz lors de la fermentation) dans le syndrome du côlon irritable et justifierait d'utiliser des régimes pauvres en FODMAPs (low fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols) (211).

Malgré une relation inverse observée entre la consommation des aliments vecteurs de fibres alimentaires et les maladies chroniques, l'effet même des fibres sur la santé reste très faible. Comme les fibres alimentaires sont plutôt connues pour améliorer l'état de santé des individus, les études réalisées sur des individus en bonne santé ou non insulinorésistance pourraient constituer un élément explicatif sur le faible impact des fibres sur les paramètres plasmatiques et physiologiques. Ainsi, des études plus approfondies, notamment sur des obèses en début ou avec un syndrome métabolique, sont nécessaires pour bien comprendre les effets des fibres alimentaires sur les maladies chroniques.

III. Effet physiologique des fibres alimentaires

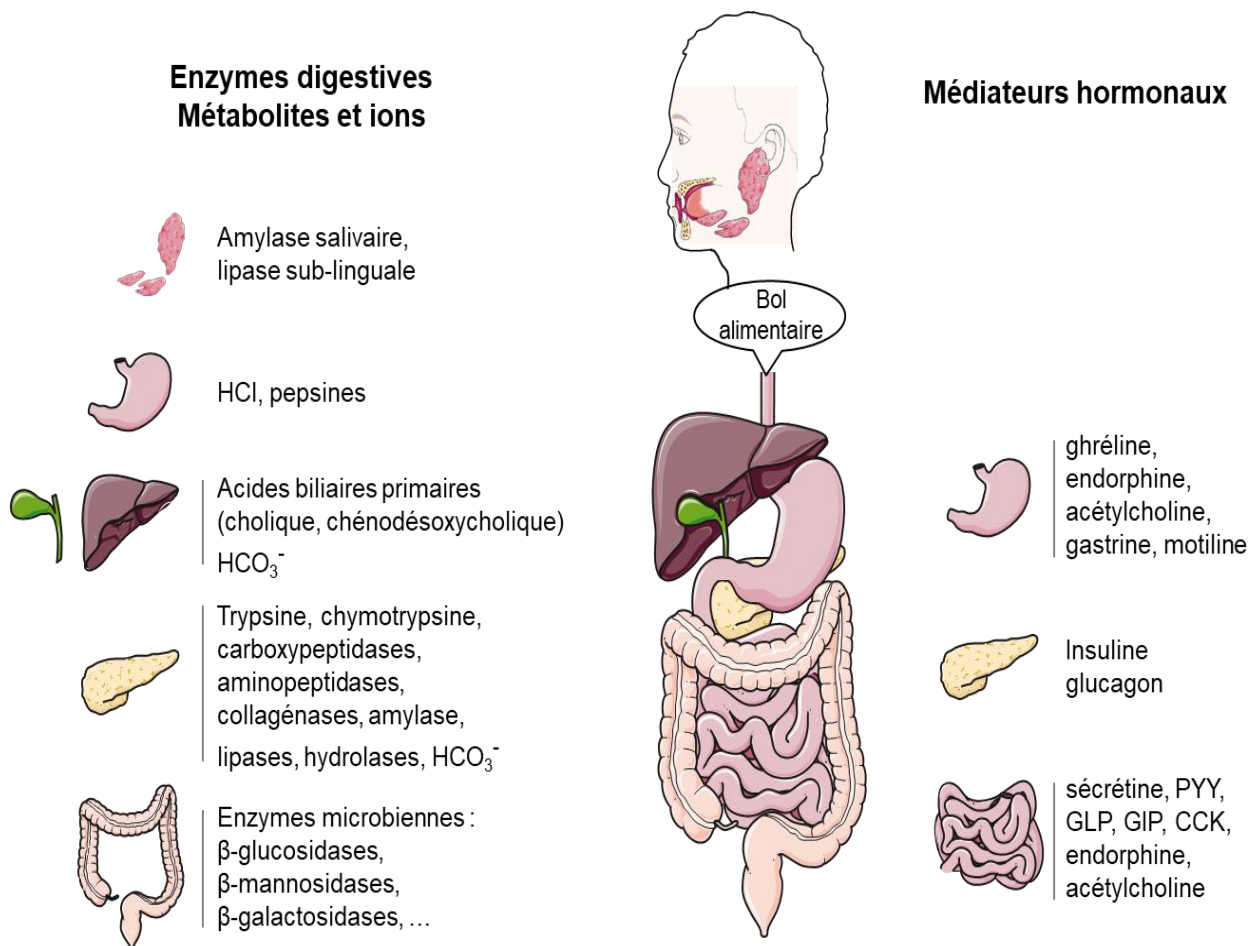


Figure 17 : Enzymes, hormones et sécrétions régulant la digestion du bol alimentaire dans le tractus gastro intestinal. CCK, cholécystokinine ; GIP, Peptide inhibiteur de la gastrine ; GLP, glucagon-like peptide ; HCl, acide chloridrique ; HCO_3^- , bicarbonate ; PYY, peptide YY (216)

III. 1. Digestion : généralités

La digestion est un processus mécanique et biochimique permettant la transformation des aliments en nutriments assimilables (ou non) par l'organisme. Cette digestion commence au niveau de la bouche et se poursuit dans l'estomac, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon) et enfin le colon grâce au mécanisme du transit gastro-intestinal.

Concernant les processus mécaniques, la digestion commence dans la bouche (mastication et broyage des aliments dans la bouche, et génération du bol alimentaire par cohésion des aliments broyés avec la salive). Le bol alimentaire créé est ensuite dirigé vers l'estomac dans lequel il va séjourner pour une durée variable dépendant de la densité énergétique, de la nature de l'aliment (solide ou liquide), de son volume et de sa digestibilité, qui va permettre de libérer des particules de 1-2 mm à la sortie de l'estomac. Plus le contenu gastrique sera solide plus sa libération vers le duodénum sera retardé allant d'une minute à une heure (212,213). Les mouvements péristaltiques intestinaux vont ensuite permettre la progression du bol alimentaire jusqu'au colon. Ces contractions gastriques et intestinales vont permettre de mélanger le chyme avec les enzymes digestives assurant ainsi l'absorption des nutriments nécessaires à l'hôte (214,215) (**Figure 17**).

Concernant les processus chimiques permettant la dégradation de l'aliment tout le long du tractus digestif, de nombreuses enzymes digestives sont secrétées par l'épithélium digestif : lipase et amylase dans la bouche, pepsine gastrique, trypsine, chymotrypsine, lipases, colipases et amylase pancréatiques, peptidases pancréatiques. Pour optimiser la fonction de ces enzymes et favoriser la dégradation des macronutriments, des sels permettant la régulation du pH et de l'osmolarité du milieu digestif (acide chlorhydrique (HCl), bicarbonates) sont également secrétés. Ce qui n'a pas été hydrolysé par les enzymes intestinales et absorbé par les entérocytes se retrouve au niveau du colon et est utilisé par le microbiote intestinal.

En complément des enzymes digestives et sécrétions dans le lumen digestif, des hormones sont également synthétisées par diverses cellules intestinales et jouent un rôle de médiateur dans la régulation de la fonction digestive (gastrine, la sécrétine, cholécystokinine...) (**Tableau 11**) (216–219).

Par définition, les fibres alimentaires ne sont pas concernées par ces processus de dégradation de l'aliment dans le lumen par les enzymes intestinales (voir partie I-1 et I-2). Néanmoins, elles peuvent, par leur seule présence et leurs caractéristiques physicochimiques (viscosité, solubilité), altérer les processus de digestion des autres composants du bol alimentaire. De plus, les fibres et les produits de fermentation des fibres peuvent avoir, via leur

Médiateurs Neuro-humoraux	Secrété par	Stimulus physiologique	Impact sur
Acétylcholine	Afférences vagues	Distension gastrique	Sécrétions gastriques (acide, pepsinogène) Contractions lentes du fundus, mélange des aliments avec les sécrétions digestives Augmente la motilité iléale et colique
Neurotransmetteurs	Neurones moteurs entériques	Distension de la lumière intestinale	Stimule le péristaltisme intestinal
Gastrine	Cellules G de l'estomac	Distension et augmentation du pH gastrique	Relaxation de l'estomac proximal afin de recevoir le repas et stimule la production d'acide chlorhydrique, de pepsinogène et de la bile.
Motiline	Cellules enteroendocrines intestinales	Basicité du milieu duodénal	Détend le sphincter pylorique Stimule la contraction de la vésicule biliaire, la sécrétion d'enzymes gastriques et pancréatiques
Cholécystokinine (CCK)	Cellules du duodénum	Conjugaison des nutriments avec les sels biliaires	Limite la vidange gastrique, Stimule la sécrétion d'acide gastrique, enzymes pancréatiques et du bicarbonate, insuline Favorise la contraction de la vésicule biliaire, la motilité intestinale et la satiété
Peptide inhibiteur gastrique (GIP)	Cellules K du duodénum et du jéjunum	Présence de nutriments dans la lumière intestinale	Limite la vidange gastrique Favorise la production d'insuline, glucagon Prévient l'apoptose des cellules bêta Favorise la conversion du glucose en acides gras et leur stockage dans les tissus adipeux, en augmentant l'activité de la lipoprotéine lipase.
Sécrétine	Cellules S du duodénum	Impact sur la présence de lipide dans la lumière Baisse du pH	Limite la vidange gastrique, la production d'acide gastrique et la libération de gastrine Réduit la motilité duodénale Stimule production bicarbonate pancréatique et la libération d'insuline
Ghréline	Estomac et Pancréas	Estomac vide	Augmente la faim, la vidange gastrique et la motilité gastro-intestinale Induit la libération de l'hormone de croissance Inhibe la production d'insuline
GLP-1	Cellules L iléon et colon	Présence de nutriments dans l'iléon ou le colon	Favorise la croissance des cellules β pancréatiques, la production d'insuline et la satiété Supprime la libération du glucagon Inhibe la vidange gastrique, sécrétion digestive, motilité intestinale
PYY			Favorise la satiété Inhibe la sécrétion biliaire, vidange gastrique, motilité intestinale, sécrétion pancréatique

Tableau 11 : Hormones et peptides endogènes sécrétés par le tractus gastro-intestinal lors de la digestion du bol alimentaire (214, 216, 215)

interaction avec le tractus digestif, des effets propres sur la physiologie et le métabolisme de l'hôte, en modulant les propriétés sécrétoires de l'ensemble du tube digestif (220).

III. 2. Impact des fibres alimentaires sur le transit gastro-intestinal

Les effets des fibres alimentaires sur le transit sont complexes, voir antagonistes selon la nature des fibres.

III. 2. 1. Fibres insolubles

Concernant les fibres insolubles, des études interventionnelles réalisées sur des hamsters (221,222) ou des porcs (223) montrent que la consommation de plus de 5% de fibres insolubles dont la cellulose, réduisait le temps de transit intestinal et l'activité des enzymes digestives, et augmentait le poids des fèces. Il a été conclu sur plusieurs études interventionnelles chez l'homme, que la consommation de 1 g/j de fibres insolubles (composant principal du son de blé) augmentait le poids des selles de 3,5 à 5 g/j (224–226), réduisant ainsi la constipation (227). Cette réduction de la constipation est associée à l'effet laxatif des fibres insolubles (18), ayant pour effet d'irriter les terminaisons nerveuses des muscles lisses de l'intestin, stimulant ainsi le mécanisme de péristaltisme (228,229). L'augmentation du poids des fèces liée à la consommation de fibres alimentaires est associée à une augmentation de la présence d'eau, de polysaccharides, de lipides et de résidus de plantes [281].

III. 2. 2. Fibres solubles visqueuses

Dans le tube digestif humain, et en particulier le colon, les fibres insolubles ne forment pas de gels et leur fermentation est plus limitée. Par contre, les fibres solubles visqueuses se dissolvent dans l'eau pour former un gel et peuvent aussi être digérées par la microflore colique (229). Une part de l'effet des fibres solubles visqueuses dans la réduction des risques de maladies chroniques, de la glycémie et de la lipémie, découle de leur capacité à former un gel lorsqu'elles sont dissoutes dans l'eau et à distendre l'estomac et l'intestin (229). Le fait de distendre l'estomac permet d'activer les afférences vagues qui favorisent la sensation de plénitude et de satiété (98). La vidange gastrique serait retardée du fait de la viscosité du bol alimentaire, le rendant plus consistant et solide (61). Les fibres les plus efficaces pour induire ces effets sont par exemple, la pectine, gomme de guar ou β -glucane (**voir partie I. 2. 2. 1**).

	Fibres insolubles		Fibres solubles	
	Polysaccharides non amylacés	Amidons résistants	Visqueuses	Non visqueuses
Reduction du taux d'absorption dans l'intestin grêle			↑	
Excrétion sels biliaires			↑	
Fermentation colique	↑	↑ ↑	↑ ↑	↑ ↑
Production AGCC		↑	↑ ↑	↑ ↑
Volumes des selles	↑ ↑	↑	↑	↑
Transit intestinal	↑ ↑	↑	↓	↑

Tableau 12 : Effet des types de fibres alimentaires sur la physiologie intestinale.
AGCC, acides gras à chaîne courte (65, 66)

Plusieurs études interventionnelles chez des patients diabétiques, obèses ou en bonne santé, montrent effectivement que la consommation de pectine (5,2-20 g/j) (230–233), de β -glucane (13 g/j) (234), psyllium (11-18 g/j) (235,236) ou de gomme de guar (237) augmente le temps de vidange gastrique jusqu'à 50 min, comparé à des régimes moins riches en fibres solubles visqueuses. Lorsque la consommation de ces fibres est faible (psyllium (2-7 g/j), gomme de guar (5 g/j) ou de β -glucane (3 g/j)), le pouvoir gélifiant des fibres diminue, et l'effet sur la vidange gastrique disparaît, surtout lorsque la durée de supplémentation est inférieure à 15 jours (234,236,238–240). Par contre, si cette durée est supérieure, une réduction du temps de la vidange gastrique est observée, comme dans le cas d'une consommation de 3 g/j de β -glucane chez des rats durant 6 semaines (241). Le pH joue aussi un rôle prépondérant dans ces phénomènes car plus le pH est élevé plus la capacité de viscosité des fibres alimentaires sera importante (242). Etant donné que le pH gastro-intestinal est croissant de l'estomac (pH=2) au colon (pH=7), on peut s'attendre à une viscosité plus élevée le long de l'intestin, malgré une petite baisse de ce pH suite à la fermentation des fibres alimentaires et la production des acides gras à chaîne courte (AGCC) dans sa partie distale (241,243,244). Cette viscosité du chyme empêche également l'accessibilité des enzymes digestives aux nutriments ainsi que leur absorption par l'épithélium intestinal. Dans le cas des fibres solubles visqueuses, leur impact se situe donc sur la satiété, la glycémie, l'insulinémie et la lipémie post prandiale (**Tableau 12**).

III. 2. 3. Fibres solubles non visqueuses

Les fibres solubles comme l'inuline, les FOS-GOS ou les XOS se solubilisent dans l'eau sans pour autant rendre la solution visqueuse ou former un gel. Comme les fibres solubles visqueuses, elles sont fortement fermentées au niveau du colon grâce au microbiote intestinal (64), et connues pour moduler l'activité de bactéries spécifiques dans le colon (prébiotiques) (245). Ces fibres permettent d'augmenter la biomasse (246) de certaines bactéries bénéfiques (bifidobactéries, lactobacillus...) (247). Des études chez l'homme montrent que la consommation de fibres non visqueuses (inuline, FOS, GOS) favorise l'effet laxatif via une stimulation du péristaltisme intestinal et la consistance des selles, mais l'impact est de plus faible amplitude que les fibres insolubles (248,249). Ceci valide néanmoins l'impact du microbiote intestinal ainsi que son activité sur le transit gastro-intestinal du bol alimentaire.

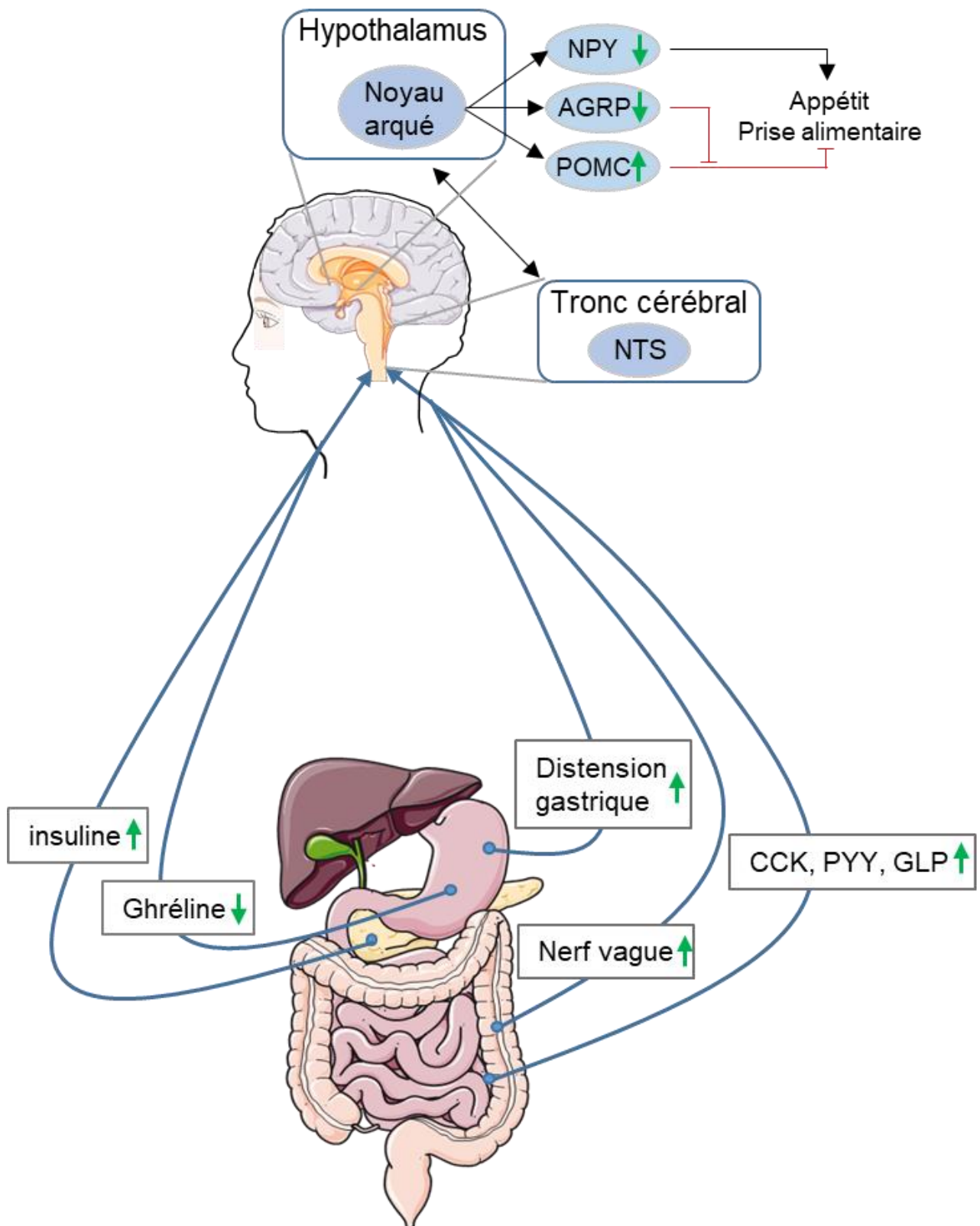


Figure 18 : Réduction du signal de l'appétit par les fibres alimentaires via les hormones de l'axe neuro-intestinal. GLP, glucagon-like peptide ; HCl, acide chlorhydrique ; HCO_3^- , bicarbonate ; PYY, peptide YY ; NPY, neuropeptide Y ; AGRP, protéine Agouti ; POMC, pro-opiomélanocortine ; NTS, noyau du tractus solitaire

III. 3. Impact des fibres alimentaires sur la régulation de la satiété :

III. 3. 1. Fibres et satiété : études chez l'homme

Comme précisé plus haut, une partie de l'effet bénéfique des fibres sur la limitation de la prise de poids passe par un effet satiétogène. La prise alimentaire et l'appétit sont contrôlés par les circuits neuronaux du système nerveux central (SNC) (**Figure 18**). La digestion de l'aliment dans le tractus digestif module la libération de plusieurs hormones (ghréline, GLP-1, PYY, CCK) qui agissent au niveau du système nerveux central (SNC), afin de réduire la prise alimentaire et d'augmenter la satiété. Au niveau du SNC, les deux régions connues pour réguler l'appétit et l'apport énergétique sont le noyau arqué de l'hypothalamus et le noyau du tractus solitaire du tronc cérébral (250,251). Le noyau arqué contient deux types de neurones régulant principalement le signal de satiété, des neurones orexigènes stimulant l'appétit (neuropeptide Y (NPY), protéine Agouti (AGRP)) et anorexigènes (pro-opiomélanocortine (POMC), CART (cocaine and amphetamine regulated transcript)) inhibant ainsi le signal de l'appétit. Concernant le noyau du tractus solitaire (NTS), il permet d'intégrer les signaux provenant de la stimulation des afférences vagues de l'intestin (250,251).

Les effets des fibres alimentaires sur la faim, la satiété, la consommation d'énergie et le poids corporel ont été examinés par Howarth et coll en 2001 sur 54 études (252). La majorité (27/34) des études a montré une augmentation de la satiété post-prandiale et/ou une diminution de la faim suite à l'ingestion de fibres alimentaires. De plus, cette étude a montré qu'une supplémentation de plus de 14 g/j (14-30 g/j) de fibres alimentaires, sur environ 2 mois d'intervention, entraînait en moyenne une diminution de 10% de l'apport énergétique et une perte de poids de plus de 1,4 kg. La réduction de l'apport énergétique est associée à une réduction de la prise alimentaire, qui est régulée par les noyaux hypothalamiques. Donc nous pouvons imaginer une action des fibres alimentaires au niveau du SNC via des signaux provenant de l'intestin, favorisant ainsi la réduction de l'apport énergétique. Un certain nombre d'essais contrôlés randomisés, à long terme (>3 mois), ont montré une réduction, de la sensation de faim (15%), de l'énergie ingérée (9-20%) et du poids corporel (3-8 kg) avec des régimes riches en fibres alimentaires (7-57 g/j) chez des individus en surpoids (253-256).

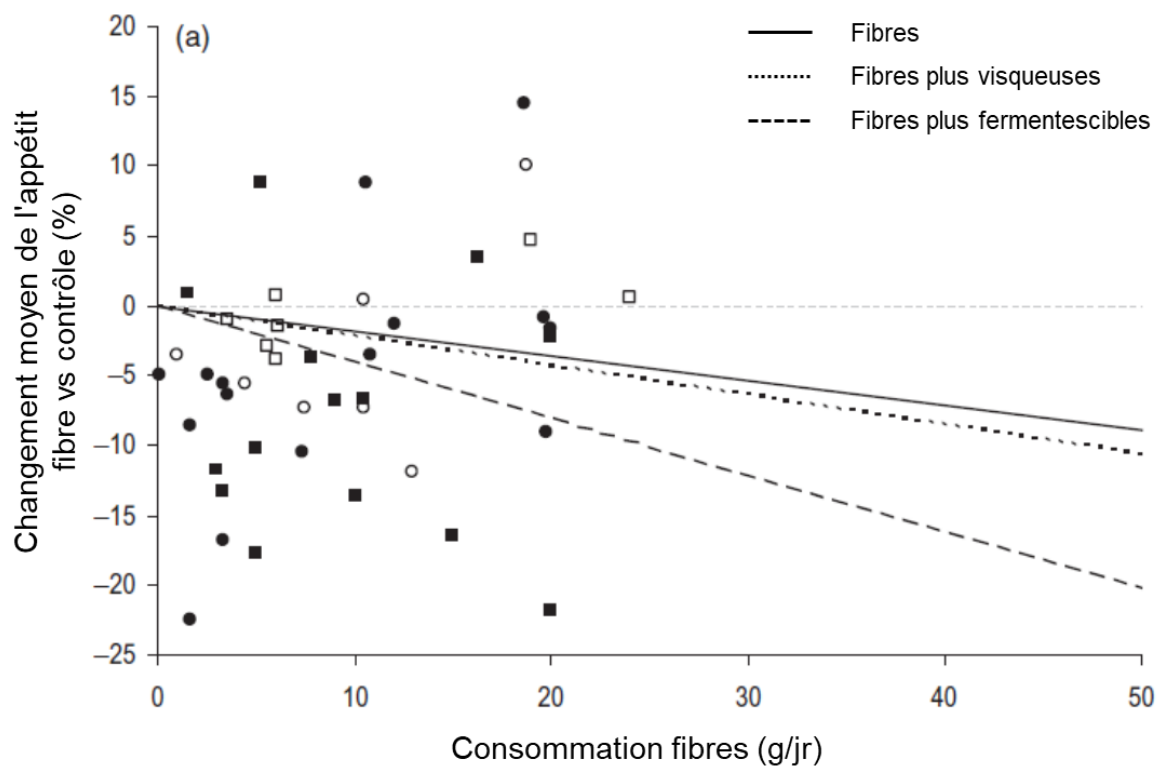


Figure 19 : Effet dose réponse de la consommation des fibres alimentaires en fonction de leur viscosité et fermentescibilité, sur la satiété (98)

Les fibres solubles ayant des propriétés de viscosité (gomme de guar, pectine, psyllium et β -glucane), sont plus associées à une perception réduite de la faim que lorsque l'apport en fibres est faible et donc l'impact sur la viscosité du bol diminue (257). Par exemple, l'ajout de gomme de guar (> 3 g/j), pectine (> 5 g/j), β -glucane (> 5 g/j), psyllium (> 10 g/j) à un repas, favorise la satiété chez des volontaires en surpoids, diabétiques ou en bonne santé (233,258–264). Plusieurs études réalisées sur des volontaires ont indiqué néanmoins que la supplémentation à long terme de fibres non visqueuses comme les amidons résistants (>10 g/j), les FOS, les GOS et l'inuline (> 8 g/j), favorisait la satiété (265–268). Ainsi, on peut constater que les fibres alimentaires, notamment visqueuses, ont un impact sur la satiété en inhibant jusqu'à 20% l'appétit (la sensation de faim), tandis que l'effet est moindre mais existant (10%) avec les fibres non visqueuses (98) (**Figure 19**).

Cet effet des fibres sur la satiété n'est cependant pas toujours retrouvé (98), et ce manque d'effet pourrait être lié à une supplémentation trop faible en fibres, à un faible temps d'exposition des fibres ou tout simplement à la nature de la fibre utilisée dans l'étude. Par exemple, une supplémentation d'une journée de 8 g/j en FOS ou 1 à 10 g/j de β -glucane, sur volontaires sains n'avait pas d'effet sur la satiété (269–271). La durée de la supplémentation en fibres est importante car Keogh et coll. ont montré sur 17 volontaires que la consommation de 30g d'avoine, riche en β -glucane (soit 22,5 g/j de fibres) sur une journée n'avait pas d'impact sur la satiété alors que la dose utilisée était importante et la fibre utilisée visqueuse (272). Cet effet temps peut s'expliquer par le fait qu'un délai minimum de 2 à 3 semaines de supplémentation en fibres semble nécessaire pour que les taux des hormones satiétogènes (GLP-1, PYY, CCK, ghréline) soient significativement modulés dans la circulation.

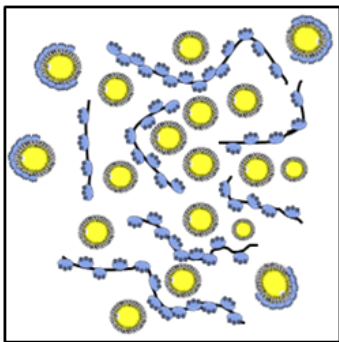
III. 3. 2. Les hormones de régulation de l'appétit et fibres alimentaires

Les hormones GLP-1, PYY, CCK et ghréline, sécrétées tout le long du tractus gastro-intestinal, régulent l'appétit et de la prise alimentaire (**tableau 11**). La libération de ces hormones est stimulée (GLP-1, PYY, CCK) ou inhibée (ghréline) par la prise d'un repas (216–218). Une régulation de la sécrétion de ces hormones a été associée à la consommation de fibres alimentaires. En effet la supplémentation en fibres solubles (> 10 g/j) comme les FOS, l'inuline, le psyllium et la pectine ainsi que la gomme de guar (2,5 g/j) et la β -glucane (3 g/j), augmentent les concentrations postprandiales de GLP-1, PYY et à l'inverse abaissent celles de la ghréline (274–280). Des données sur rongeur vont dans le même sens, avec une augmentation de GLP1 plasmatique, une inhibition de la ghréline suite à un régime supplémenté en FOS, inuline ou en pectine (281–285).

Les fibres insolubles fermentescibles, comme les amidons résistants, permettent de prolonger dans le temps la production de GLP-1 et de PYY, probablement pour une régulation de la satiété à long terme sur des volontaires sains et diabétiques (286,287) ou sur des rongeurs (244,288,289). Des études sur culture primaire de cellules de colon de souris nourries avec un régime riche en ARs ont montré une surexpression des ARNm des précurseurs du glucagon (GLP-1, GLP-2) et de PYY (288,290). Concernant la CCK, moins d'études ont été réalisées mais montrent néanmoins une augmentation de ses concentrations plasmatiques suite à la consommation d'un régime supplémenté en gomme de guar (20 g/j) ou β -glucane (6-16 g/j) (264,291,292).

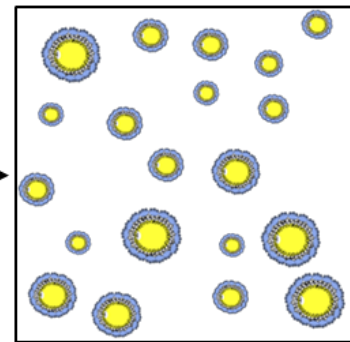
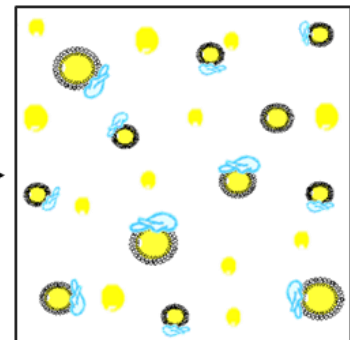
Ainsi, la régulation de la satiété par la synthèse d'hormones satiétogènes (GLP-1, PYY) serait associée aux fibres fermentescibles (solubles et AR). Cette fermentescibilité conduit à la production des acides gras à chaînes courtes et de métabolites bactériens qui affectent la satiété en modulant la libération des hormones régulatrices de l'appétit ou en agissant directement sur les noyaux hypothalamiques (293). De plus, les fibres visqueuses, grâce à leurs propriétés gélifiantes, stimulent la distension gastro-intestinale ainsi que le signal vagal afférent (259,294). Donc l'inhibition de la production de la ghréline par les fibres alimentaires, la stimulation de la production de la GLP, de PYY et de CCK ainsi que la distension gastro-intestinale et le signal vagal, vont permettre d'activer l'axe hypothalamique de la satiété (**Figure 18**).

A) Présence de fibres



Réduit la digestion et l'absorption des lipides

B) Absence de fibres



Facilite la digestion et l'absorption des lipides

Lipases
pancréatiques

Acides
biliaires

Figure 20 : Mécanismes par lesquels les fibres peuvent inhiber la digestion et l'absorption des lipides. A) les fibres alimentaires agissent en formant un réseau autour des gouttelettes empêchant l'accès aux lipases ou en s'associant aux acides biliaires. B) en absence de fibres les lipases et les acides biliaires ont plus accès aux lipides facilitant ainsi la formation de micelles et ainsi leur digestion/absorption (295)

III. 4. L'effet des fibres sur la digestion et absorption des lipides

III. 4. 1. Impact des fibres alimentaires sur la floculation des lipides et l'activité des lipases digestives

L'impact des fibres alimentaires sur la digestion des lipides a été attribué à leur capacité à induire une floculation des lipides et / ou à leurs interactions avec des espèces moléculaires impliquées dans l'hydrolyse des lipides, tels que les sels biliaires, les acides gras et les ions. En raison de leur nature insoluble dans l'eau, les lipides alimentaires doivent être émulsifiés pour être digérés et cela se produit dans l'estomac et dans le duodénum par mélange mécanique avec l'activité émulsifiante des sels biliaires et d'autres tensioactifs endogènes ou alimentaires (ex : calcium). Cette émulsification se traduit par la formation de gouttelettes lipidiques de taille comprise entre 10 et 50 μm . Les fibres alimentaires présentent la particularité de se positionner sur la surface des gouttelettes. Des études *in vitro* montrent que les fibres solubles (pectine, gomme guar, β -glucane) réduisent l'activité des lipases et le pourcentage de lipides digérés (295–299). Cependant des données *in vivo* réalisées sur des porcs, et des volontaires nourris avec un régime contenant des fibres insolubles (son de blé, cellulose...), montrent une augmentation de l'activité des enzymes lipolytiques (299–301). Ces données suggèrent un effet opposé des fibres alimentaires sur la digestion des lipides, selon le type de fibre consommé (soluble ou insoluble). Ainsi la floculation des lipides par les fibres alimentaires, en particulier les fibres solubles, réduisent l'activité des enzymes lipolytiques du fait d'une moindre accessibilité aux macronutriments (**Figure 20**).

III. 4. 2. Effet des fibres alimentaires sur l'émulsion des lipides

III. 4. 2. 1. Par les acides biliaires

Les acides biliaires sont des acides stéroïdiens synthétisés dans le foie et sécrétés par la bile au niveau du duodénum. Ils se divisent en deux groupes, primaires (acide taurocholique, glycocholique, taurochénodésoxycholique, glycochenodésoxycholique) et secondaires (acide désoxycholique, lithocholique). Les acides biliaires vont avoir essentiellement un rôle d'émulsifiant des lipides alimentaires, permettant la formation de micelles lipidiques de 3-6 nm à partir des lipides naturellement émulsifiés dans l'estomac. Favorisant ainsi leur digestion et leur absorption par les entérocytes (302) (**Figure 20**).

L'absorption des lipides au niveau intestinal est accompagnée par la réabsorption des acides biliaires, qui vont contribuer à resynthétiser une nouvelle vague d'acides biliaires pour une prochaine digestion (302). De nombreuses études, chez l'homme et rongeurs, ont démontré que la consommation de fibres alimentaires (solubles ou insolubles), augmentait l'excrétion des sels biliaires dans les fèces (303,304). Ces études pourraient suggérer une fixation des acides biliaires aux fibres alimentaires (305,306), inhibant leur réabsorption vers le foie, facilitant ainsi leur élimination dans les fèces (**Figure 20**). Le taux de liaison des acides biliaires aux fibres alimentaires va être différent en fonction du type de fibres alimentaires présent dans l'alimentation ainsi que du type d'acide biliaire (305). Par exemple, des études réalisées par spectroscopie RMN n'observent pas d'interaction entre la β -glucane et l'acide glycocholique (307), à l'inverse de l'acide taurochénodésoxycholate (308,309).

III. 4. 2. 2. Par les minéraux

Une des propriétés des fibres alimentaires est également la fixation des ions au niveau intestinal. Les interactions sont essentiellement électrostatiques et impliquent principalement des cations divalents plutôt que des cations monovalents. Plusieurs études réalisées sur rongeurs, nourris avec un régime supplémenté en fibres (FOS, inuline, son de blé) observent une rétention des ions (calcium, magnésium, zinc, cuivre) jusqu'au colon (310–312). Toutes les fibres n'ont pas les mêmes affinités pour les ions. Une étude *in vitro* mimant l'environnement intestinal a en effet montré que les pectines, la gomme de xanthane et la carraghénane ont une plus grande affinité pour les cations divalents que la gomme de guar (313). Ceci pourrait s'expliquer par la viscosité des fibres alimentaires : plus elle est forte plus les minéraux se fixent sur les fibres. Cette fixation est aussi associée au pH du milieu, plus il est bas (pH = 5) plus le nombre de fixation de minéraux sur les fibres solubles sera élevé, sauf pour la cellulose qui fixe mieux le zinc à pH=7 (314). Comme les minéraux sont connus pour être des cofacteurs de l'activité des lipases (315), leur fixation sur les fibres alimentaires conduirait à une réduction de la digestion des lipides et de leur absorption.

En résumé, les lipides qui sont insolubles dans l'eau, vont naturellement dans l'estomac s'associer pour former des gouttelettes lipidiques. Grâce à l'action des lipases et la présence des sels biliaires et sels minéraux, des micelles (3-6 nm) monoglycéridiques et acides gras se forment. Cette solubilisation des lipides est une étape indispensable à l'absorption des lipides par les entérocytes. Les fibres, en fixant les minéraux et les acides biliaires, favorisent la floculation des lipides et réduisent la formation de micelles, donc l'absorption des lipides.

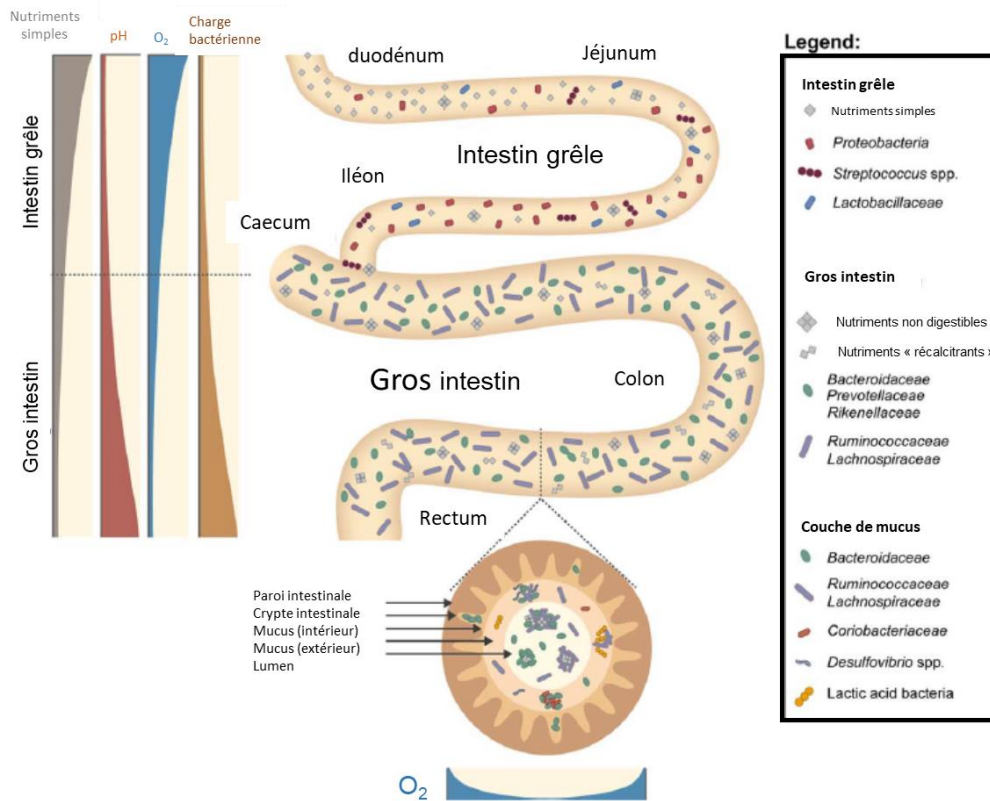


Figure 21 : Hétérogénéité spatiale du microbiote intestinal depuis le duodénum jusqu’au rectum (317)

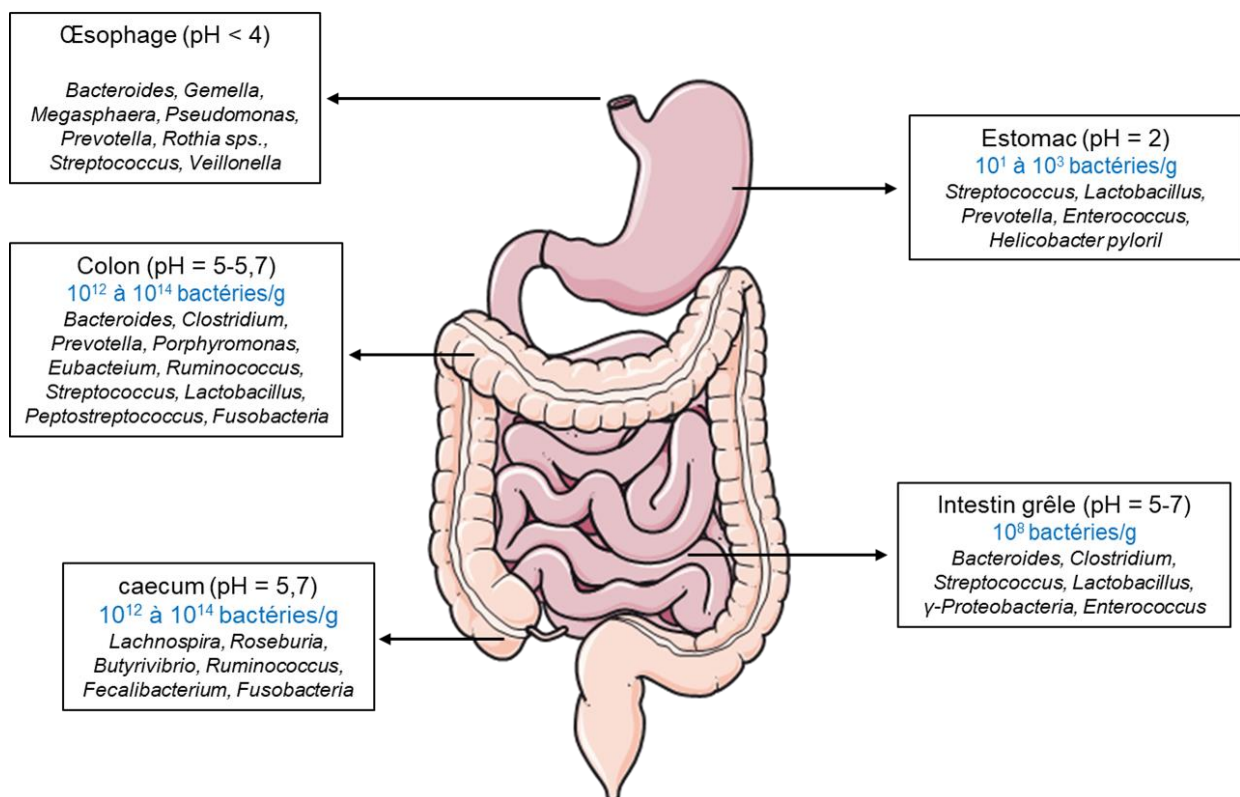


Figure 22 : Distribution des espèces bactériennes majeures dans l’intestin de l’homme adulte sain (316)

III. 5. Impact des fibres sur la production de métabolites par le microbiote

Les fibres hautement solubles mais non visqueuses (ex : GOS, FOS) sont rapidement et totalement fermentées à partir de l'iléon jusqu'à la partie proximale du côlon ascendant (et caecum). Les fibres hautement solubles (gomme de guar, pectine, inuline) et les amidons résistants sont rapidement fermentés au niveau du côlon ascendant. Enfin, les fibres moyennement solubles (psyllium, β -glucane) sont modérément fermentées tout au long de leur transit dans le côlon (65). Cette fermentation colique va dépendre de plusieurs paramètres dont les caractéristiques du microbiote présent dans le côlon, la source et le type de fibres consommé et la vitesse du transit intestinal.

III. 5. 1. La composition microbienne de l'intestin

Afin d'assurer cette fermentation, l'intestin est tapissé par une couche de microorganismes (bactéries) formant le microbiote intestinal. Cette famille est composée, chez l'homme, de près de 1000 espèces dont plus de 10^{14} bactéries, réparties tout au long du tube digestif, dont 400 espèces, soit plus de 10^{12} bactéries au niveau du côlon (316–318) (**Figure 21 et 22**). Les fibres alimentaires qui atteignent le côlon sont largement fermentées par le microbiote et représentent des nutriments majeurs pour son développement (29). La composition de ce microbiote diffère d'un individu à un autre et même au sein d'un individu selon sa consommation d'antibiotique, le style et le lieu de vie, l'hygiène ou l'alimentation. Des analyses de gènes d'ARNr 16S et de métagénomiques ont permis d'identifier les deux familles les plus abondantes dans le microbiote intestinal, à savoir les Bactéroidetes et Firmicutes (316,317). Les Firmicutes représentent environ 200 bactéries gram-positifs (*Clostridium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Roseburia* etc.) et les Bactéroidetes avec environ 20 Gram-négatifs (*Bacteriodes*, *Prevotella* etc.) (229). La consommation d'inuline et de prébiotique (FOS, GOS..), à long terme, augmente la proportion de bifidobacterium et lactobacillus dans le microbiote intestinal. Par contre, elles inhibent celle des *bactéroides* (319).

III. 5. 2. La production d'AGCC

L'une des conséquences majeures de l'activité du microbiote intestinal, est la production de métabolites dont les AGCCs, qui sont des acides gras composés de deux à six carbones provenant de la fermentation bactérienne des polysaccharides, certains oligosaccharides et les amidons résistants.

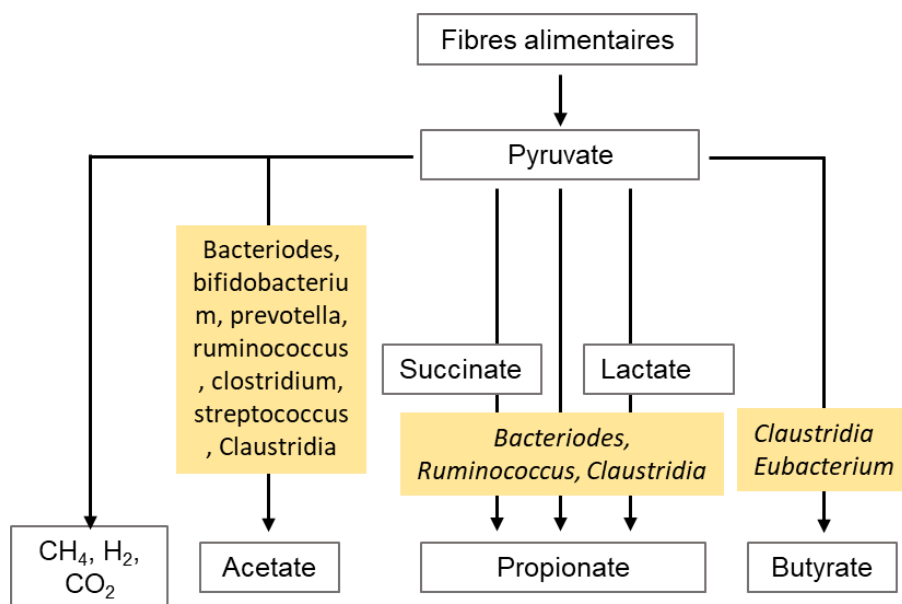


Figure 23 : Groupes fonctionnels et phylogénétiques de bactéries intestinales impliquées dans la production des acides gras à chaîne courte (29, 319)

Fibres	Pourcentage d'AGCC (%)		
	Acétate	Propionate	Butyrate
Amidon résistants	41	21	38
Gomme de guar	59	26	11
Pectine	75	14	9
Psyllium	35	32	32
Inuline	50	29	21
FOS	66	23	11
GOS	50	27	23

Tableau 13: Proportion d'AGCC produits par le microbiote colique pour différentes fibres (52, 359)

Les fibres alimentaires, lors de la fermentation, vont permettre la production de l'acétate, du propionate via la production de métabolites intermédiaires que sont le lactate ou le succinate. Le butyrate sera produit via la transformation du butyryl-CoA par les enzymes phosphotransbutyrylase et butyrate kinase colique (**Figure 23**) (29,320). L'acétate (C2), le propionate (C3) et le butyrate (C4), sont les AGCC les plus abondants et les principaux produits de fermentation des fibres alimentaires par le microbiote. De même, les acides aminés comme la valine, la leucine et l'isoleucine peuvent être convertis en acide gras dits ramifiés, comme l'isobutyrate (iC4), le valérate (C5) ou l'isovalérate (iC5) (321).

L'acétate, le propionate et le butyrate représentent \approx 80-90% des acides gras à chaîne courte présents dans la lumière du côlon humain, avec une proportion d'environ 60, 20 et 20% respectivement (322). Le pourcentage de production de l'acétate, propionate et butyrate est variable selon la source et le type de fibres dégradées par le microbiote (**Tableau 13**). La fermentation sera d'autant plus élevée que l'on se trouve au niveau du côlon proximal comparé au côlon distal. Ce phénomène est associé au pH du milieu qui passe d'un pH=5-6 dans le côlon proximal à un pH=6,9 dans le côlon descendant.

La consommation d'un régime à faible teneur en fibres alimentaires et à forte teneur en protéines ou en graisse conduit à une réduction de la biodiversité microbienne et est associée à une baisse de la production d'AGCC (323). Les fibres insolubles comme la lignine ou la cellulose, résistent à la fermentation, tandis que les amidons résistants et les fibres solubles (les pectines, les gommes, les prébiotiques...) sont complètement fermentés par la microflore colique. Une étude de Fredstrom en 1994, réalisée sur des volontaires, durant 8 jours, a pu mettre en évidence que la consommation de 30g de fibres provenant de légumes (84% insolubles, 16% solubles) augmentait de 19% la production des AGCC totaux contrairement à la consommation de 30g de son de blé (90% insolubles, 10% solubles). La production des AGCC observée dans cette étude serait une résultante de la proportion de fibres solubles représentées dans l'aliment consommé. De plus, on observe une augmentation des concentrations de butyrate de 28% avec la consommation de son de blé contrairement aux fibres de légumes (324). Cette différence observée sur la production d'AGCC totaux est probablement liée à la présence de plus de fibres solubles dans la supplémentation de fibres de légumes, or elles sont connues pour être hautement fermentescibles. Par contre la production de butyrate plus élevée dans le cas de la consommation de son de blé est probablement liée à la forte présence de fibres insolubles fermentescibles, que sont les amidons résistants (**Tableau 13**).

III. 6. Effets au niveau périphérique

III. 6. 1. La lipémie

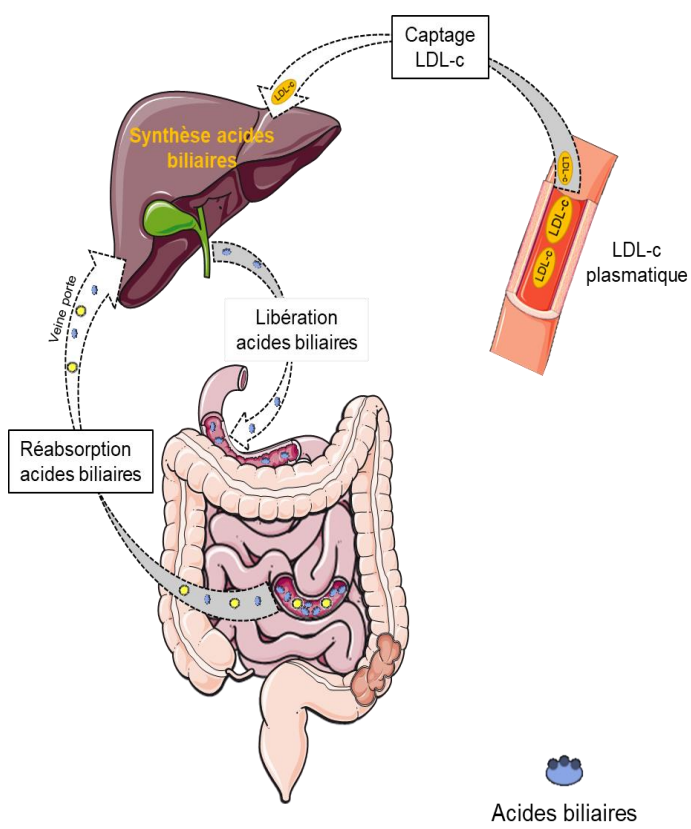
Toute perturbation des concentrations d'un ou plusieurs lipide (s) plasmatique (s) : cholestérol total (CT), HDL-cholestérol (HDL-c), LDL-cholestérol (LDL-c), triglycérides (TG), peut être considérée comme une situation de dyslipidémie. Une élévation des niveaux du CT et du LDL-c associée à une baisse de celles du HDL-c est notamment considérée comme un des facteurs de risque majeur conduisant à l'athérosclérose et aux maladie cardiovasculaires. Cette dyslipidémie est néanmoins un phénomène réversible et une alimentation riche en fibres alimentaires, notamment en fruits, légumes et céréales peut limiter l'élévation du CT et LDL-c (18,325,326).

En effet, plusieurs études cliniques ont mis en évidence le rôle bénéfique des fibres solubles (NPA et certains oligosaccharides) et insolubles (AR principalement) sur la dyslipidémie. Une méta-analyse de 67 études cliniques, réalisée en 1999 par Brown, a conclu que la supplémentation de plus de 10 g/j de fibres solubles (avoine (7 g), pectine (6 g), psyllium (10 g), gomme de guar (18 g)) permettrait de baisser les concentrations plasmatiques du CT (-0,05 mmol.L⁻¹.g⁻¹) et du LDL-c (-0,06 mmol.L⁻¹.g⁻¹), après trois mois d'intervention nutritionnelle chez l'homme. Dans cette étude, il semblerait que les concentrations du CT et LDL-c plasmatique, étaient plus diminuées avec la pectine (-0,060 mmol.L⁻¹.g⁻¹) qu'avec la gomme de guar et le psyllium (-0,030 mmol.L⁻¹.g⁻¹) (327). Pour conforter ces données, des méta-analyses récentes ont souligné qu'une consommation de psyllium, pectine (> 5 g/j), β -glucane (> 3 g/j) et AR (> 10 g/j), entraînait une réduction significative du CT, LDL-c et TG chez des obèses, diabétiques ou hypercholestérolémiques mais n'ont eu aucun effet sur le taux de cholestérol HDL (328,329).

Concernant les prébiotiques (inuline, FOS, GOS...) plusieurs études sur rongeurs montrent clairement que la supplémentation de plus de 5% d'inuline, de FOS ou de GOS chez des animaux nourris avec un régime riche en sucre et en graisse, sur des durées variables (1-27 mois), conduit à une réduction des taux plasmatiques de CT (15-40%), LDL-c (\approx 20%) et TG (30-50%) (325). Sur des volontaires sains ou obèses, cet effet bénéfique des prébiotiques (6-25 g/j) est aussi montré sur les niveaux plasmatiques du CT, LDL-c et TG (325,330).

Cependant, cette action des fibres sur la lipémie n'est pas toujours retrouvée dans les études chez l'homme puisque des supplémentations en prébiotiques (8-20 g/j) sur une période de 1 à 6 mois n'impactent pas toujours sur les paramètres lipidiques plasmatiques (325).

Absence de fibres



Présence de fibres

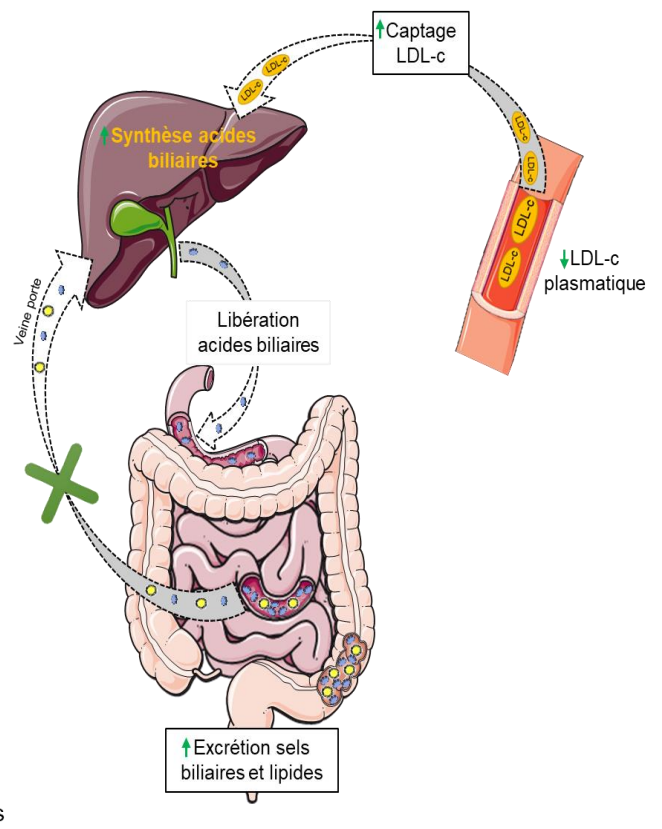


Figure 24 : régulation du métabolisme lipidique par les fibres alimentaires : Cycle entéro hépatique des sels biliaires (331)

Cette absence d'impact des prébiotiques sur la lipémie semble liée au type de fibre utilisé (degré de polymérisation plus ou moins élevé), des doses administrées plus faibles relativement au poids des individus, la durée du traitement, les caractéristiques cliniques des participants, ou l'énergie ingérée entre les différents groupes.

Les mécanismes par lesquels les niveaux de CT, LDL-c et TG, sont modulés par des fibres alimentaires se situent au niveau de l'absorption des lipides par l'intestin par des mécanismes de captage des lipides et sels biliaires par les fibres (**partie III. 4**). A ce phénomène digestif s'ajoute un mécanisme hépatique où la diminution des réabsorptions des sels biliaires favorise le captage hépatique des LDL-c plasmatiques pour renouveler le pool de sels biliaires (170,331,332). Donc les fibres alimentaires peuvent améliorer les niveaux de cholestérol et de triglycérides via 1/ une diminution du captage des lipides par l'intestin et 2/ une augmentation de leur utilisation pour la synthèse de sels biliaires nécessaires à leur digestion (**Figure 24**).

III. 6. 2. La glycémie et l'insulinorésistance

L'insulinorésistance (IR) est définie par une diminution de la capacité des cellules et donc des tissus (foie, muscle, tissu adipeux) à répondre à l'action de l'insuline. Elle est accompagnée d'hyperglycémie plasmatique liée à son moindre captage du glucose par les cellules (333) et est généralement associée à une dyslipidémie et de l'adiposité. La perte de poids, l'exercice physique et l'ingestion d'un régime équilibré, notamment riche en fibres alimentaires, sont les moyens les plus efficaces pour améliorer la réponse à l'insuline.

Ainsi, un des moyens de limiter l'hyperglycémie plasmatique est l'ingestion d'aliments qui limitent le pic de glycémie post prandial. Les aliments ont donc été classés selon leur capacité à générer un pic de glycémie plasmatique après leur ingestion. Il s'agit de l'index glycémique qui a été introduit par Jenkins et al en 1981 qui classe la réponse glycémique plasmatique de l'ingestion d'un aliment par rapport à une réponse standard de l'ingestion de quantités identiques de glucose pur ou de pain blanc (334). Il existe une association négative entre la consommation de produits à faible IG (céréales, fruits et légumes) et le développement du diabète (177,334,335).

En 2007 Marangoni et coll. ont montré une réduction du glucose plasmatique post-prandial de 15 patients non diabétiques, après une consommation de pain ou biscuits supplémentés avec 6g à 14g de fibres alimentaires (inuline (70%), gomme de guar (20%), glucomannane (5%) et fibre de blé (5%)) (336), associée à une réduction de l'IG du pain (-21%) et des biscuits (-41%). Des effets contradictoires sont observés dans la littérature concernant la consommation des céréales sur la glycémie (337,338).

Concernant des fibres spécifiques, il a été vu précédemment que les fibres visqueuses solubles (β -glucanes, pectine, psyllium, les gommes...) forment des gels et / ou s'épaississent, ce qui impacte sur la motilité intestinale et les taux d'absorption du glucose, des triglycérides et du cholestérol (**partie III. 2 et III. 4**). Ainsi, la consommation de 10-23 g/j de psyllium, gomme de guar, inuline, limite le pic de glycémie postprandial et améliore la sensibilité à l'insuline chez les individus sains, obèses ou atteints de DT2. Cet effet positif sur la glycémie postprandiale a été rapporté dans des études d'intervention allant de 4 semaines à 6 mois (234,249,339–341). Cependant, le contrôle de la glycémie et de la résistance à l'insuline ne peut être attribué uniquement aux fibres alimentaires solubles. Quand on s'intéresse plus particulièrement aux amidons résistants (insolubles mais fermentescibles), une amélioration de la glycémie a été signalée sur de nombreuses études, chez des animaux et chez l'homme (342–344).

Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour expliquer les effets hypoglycémiantes et hypo-insulinémiantes, notamment des fibres solubles. Les fibres solubles et visqueuses forment un gel et retardent la vidange gastrique, ralentissant la digestion et l'absorption des macronutriments par les entérocytes (**partie II-7. A**). Contrairement aux fibres solubles, les ARs augmentent le temps du transit intestinal, ce qui devrait à l'inverse favoriser la bioaccessibilité des nutriments dans l'intestin grêle. Un certain nombre d'études ont porté sur les effets de différentes formes et doses des ARs sur les réponses au glucose et l'insuline, mais les données sont contradictoires (345). Les mécanismes d'action des ARs sur la glycémie pourraient être différents et passer par les acides gras à chaîne courte résultant de la fermentation bactérienne de fibres alimentaires solubles et des ARs (346) et qui, pourraient en relai favoriser :

- La synthèse de peptides intestinaux, comme GLP-1, qui sont connus pour stimuler la synthèse et la libération de l'insuline.
- L'expression des transporteurs de glucose sensibles à l'insuline (les GLUTs), au niveau tissulaire (foie, muscle, tissus adipeux).

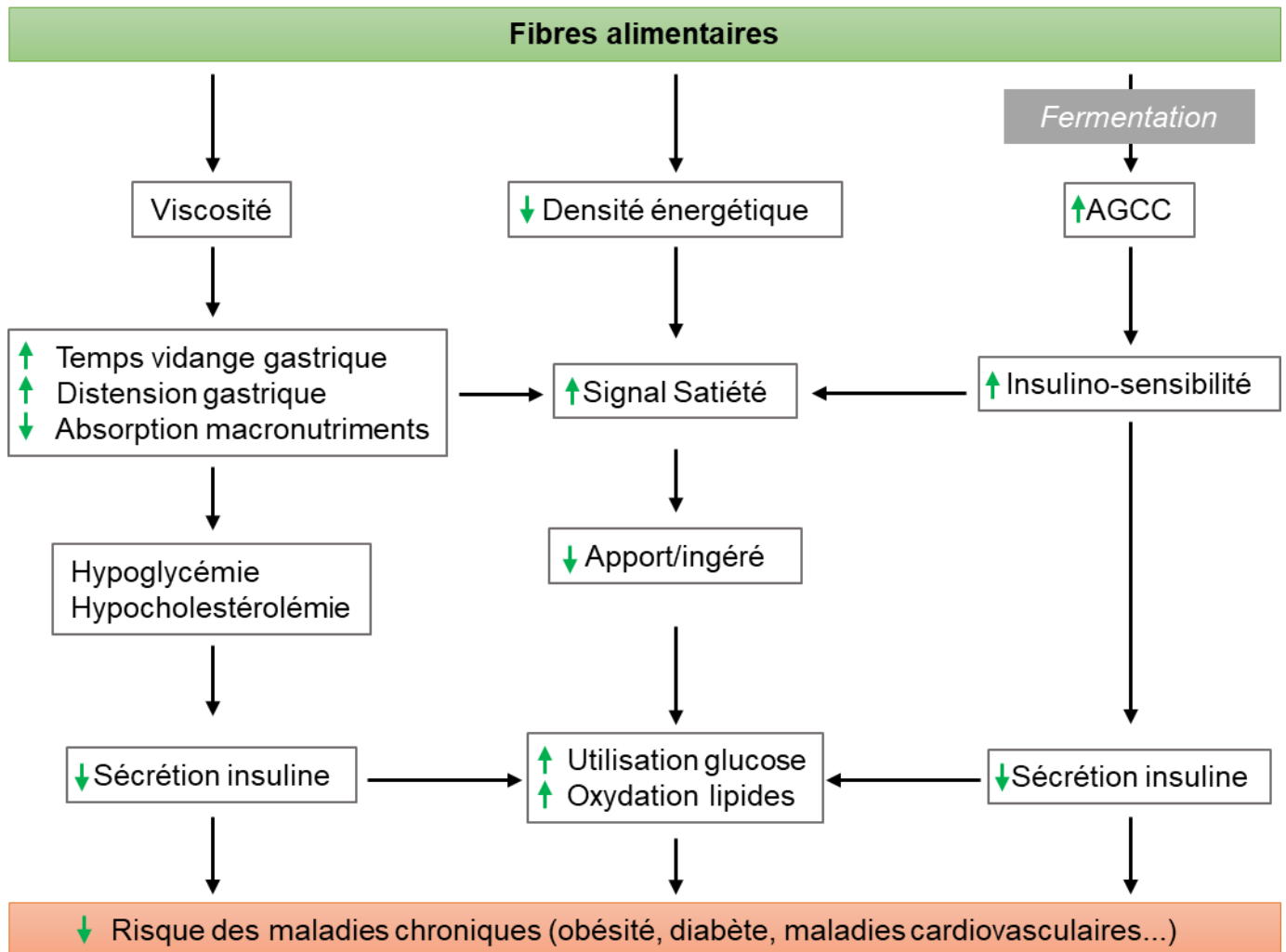


Figure 25 : Mécanismes d'action des fibres alimentaires dans le cas des maladies chroniques via une régulation du métabolisme énergétique au niveau plasmatique et tissulaire AGCC, acides gras à chaîne courte (139)

Au niveau intestinal, les fibres peuvent agir directement sur la biodisponibilité des nutriments (et notamment, la digestion/digestibilité des graisses) en piégeant certains nutriments qui deviennent de fait moins bioaccessibles (partie II. 2 à 4). L'effet long terme des fibres sur le poids et sur les maladies chroniques, peut également s'expliquer par d'autres facteurs comme une amélioration de l'insulino-sensibilité (intervenant aussi dans la régulation de l'appétit et le métabolisme énergétique tissulaire), avec des impacts là encore plus ou moins importants selon la/les fibres consommées (101).

Concernant les effets spécifiques des fibres solubles vs insolubles, des données sur rongeurs (349) nourris avec un régime obésogène et supplémentés en fibres insolubles ou solubles montrent des effets contrastés avec les fibres insolubles incapables de limiter la prise de poids. Les fibres insolubles, en accélérant le transit intestinal, peuvent réduire le temps au cours duquel les nutriments peuvent être absorbés. A l'inverse, les fibres solubles en particulier les visqueuses, réduisent l'absorption des nutriments énergétiques (glucose, protéines, lipides..) en retardant la vidange gastrique et en stimulant la satiété, ce qui limite *in fine* la prise de poids et améliore la sensibilité à l'insuline (350). Enfin, les produits de fermentation des fibres (AGCC), et en particulier issus de la fermentation des fibres solubles fermentescibles impactent sur les hormones de satiété au niveau intestinal (ex : GLP-1, PYY), hypothalamique (ex : POMC, NPY) et nous le verrons dans la partie suivante, sur les tissus périphériques. L'ensemble de ces effets est résumé en **Figure 25**.

IV. Mécanismes moléculaires impliquant les AGCC, dans la régulation métabolique de l'hôte

Lumière colon

Veine porte

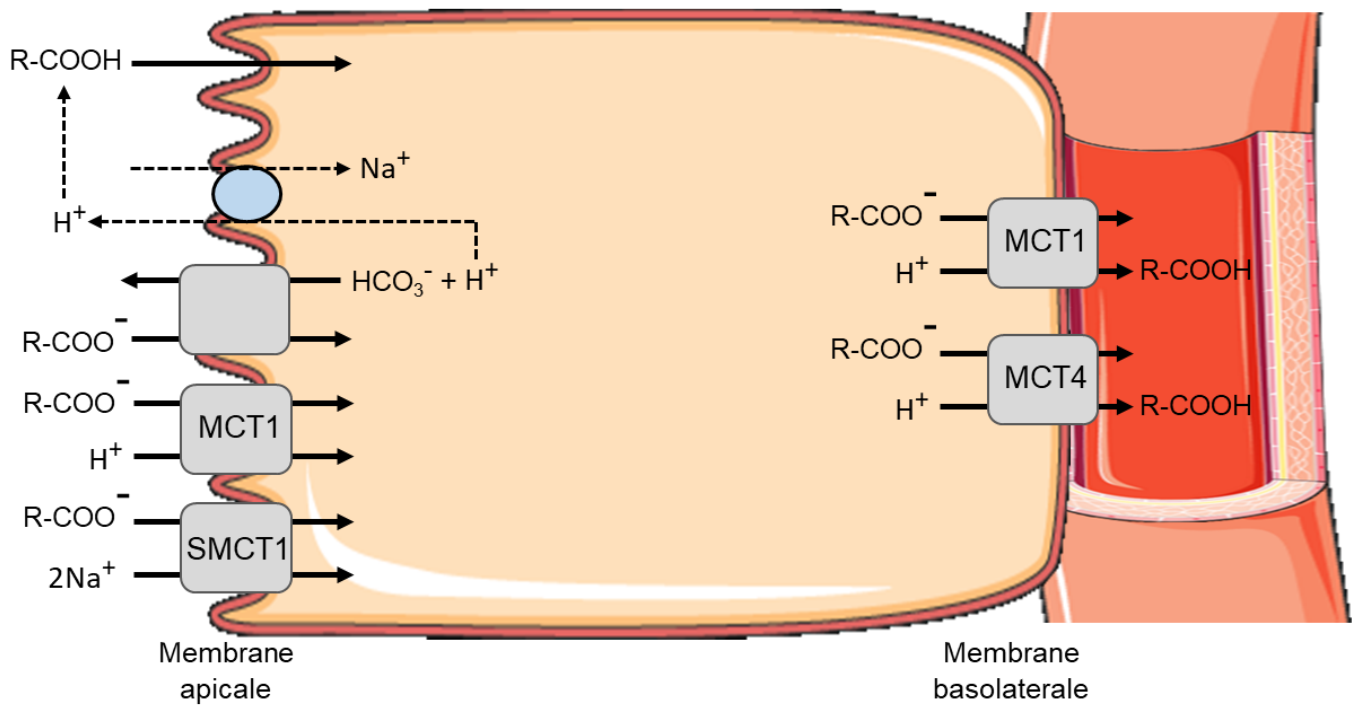


Figure 26 : Transport des AGCC de la lumière du colon vers la veine porte
MCT, Monocarboxylate transporter ; SMCT, sodium-dépendent monocarboxylate transporter (350)

Une partie des effets des fibres alimentaires passe, comme nous l'avons déjà précisé, par leur dégradation dans le côlon et la synthèse de molécules (les AGCC notamment) ayant pour cible l'intestin, le foie, le cerveau, les tissus périphériques et la santé de l'individu au sens large. Cette dernière partie bibliographique va donc s'intéresser au rôle régulateur spécifique des AGCC sur le métabolisme de l'hôte.

IV. 1. Absorption et répartition des AGCC dans l'organisme

IV. 1. 1. Mécanisme d'absorption des AGCC

Les AGCC produits au niveau intestinal sont absorbés par les colonocytes et une partie est dirigée vers le foie via la veine porte puis, après passage par la veine sus hépatique et la veine cave, redistribuée vers les tissus périphériques. Les échanges d'AGCC, entre les différents compartiments de l'organisme, nécessitent des mécanismes de transport. Suite à leur production par les microbes du côlon, les AGCC vont être captés par les colonocytes. Pour que les AGCC se retrouvent au niveau plasmatique en passant par les colonocytes, un système de transport apical et basolatéral est nécessaire. Il faut noter que les AGCC présents au niveau du côlon sont soit sous forme protonée ($R-COOH$) soit chargée ($R-COO^-$). Le transport des AGCC va dépendre très fortement de la forme des AGCC (protonée ou chargée) et donc du pH du milieu. La forme protonée des AGCC est absorbée par diffusion passive, tandis que la forme chargée est transportée par diffusion facilitée (351). Le transport par diffusion facilitée est le principal mode de transport des AGCC, car seulement 10% des AGCC sont sous forme protonée dans la partie proximale (pH=6) et 1% dans la partie distale (pH neutre) du côlon (352). Au niveau apical, le transport des AGCC recourt aux deux types de transport alors qu'au niveau basolatéral le transport se fait par diffusion facilitée (**Figure 26**).

Le transport passif suit les lois du gradient de concentration. Le transport par diffusion facilitée permet le passage d'un ion ou d'une molécule à travers une membrane, et ceci même si le gradient de concentration n'est pas favorable. Trois types de mécanismes de transports par diffusion facilitée des AGCC ont été décrits au travers de la membrane apicale des cellules de l'intestin. Le premier type de transporteur, associe l'importation d'anions d'AGCC avec un export d'une molécule de bicarbonate (HCO_3^-). Le deuxième type de transport concerne les membres de la famille des transporteurs de monocarboxylates (MCT, SMCT1) qui catalysent un cotransport d'anions d'AGCC avec des cations (H^+ et Na^+) (351).

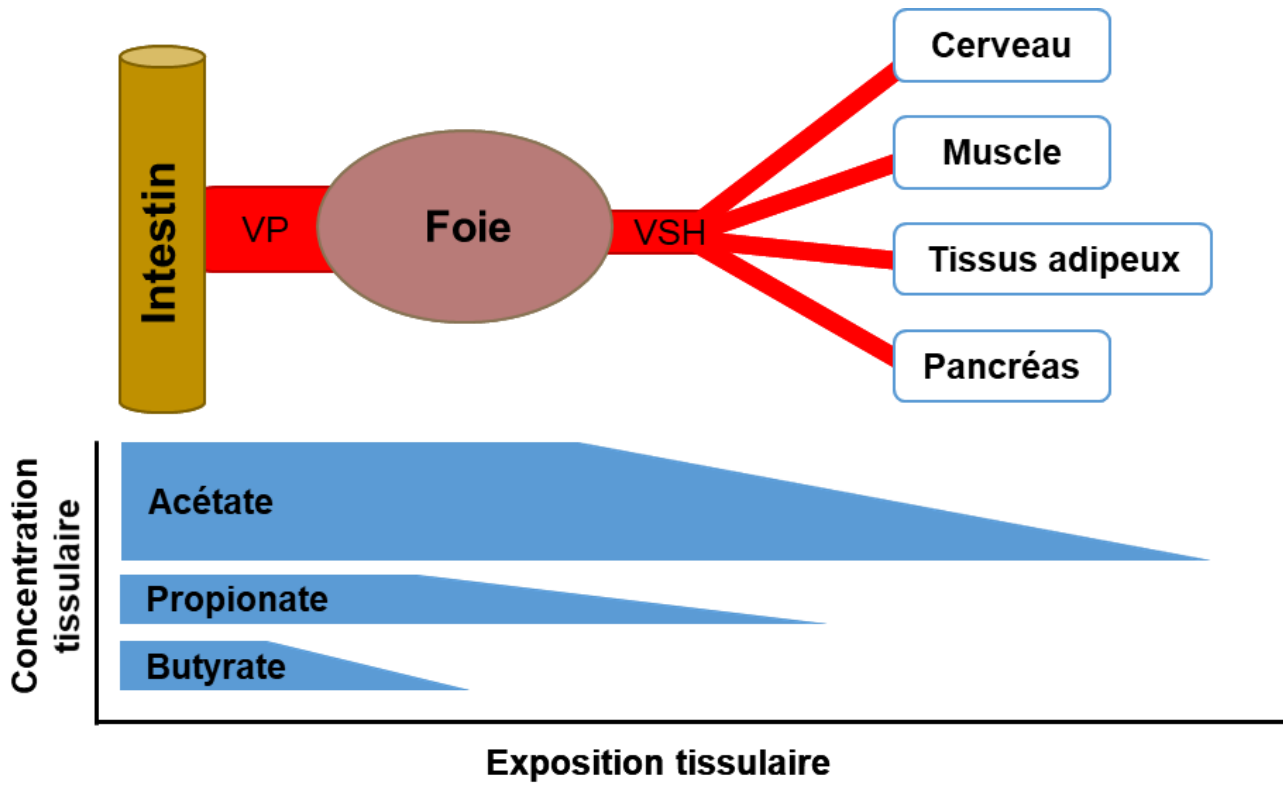


Figure 27 : Absorption et distribution des AGCC de la lumière intestinale vers foie puis les tissus périphériques. VP, veine porte ; VSH, veine sus-hépatique (359)

Enfin, le troisième type est un transporteur de monocarboxylate sodique (SMCT) permettant un cotransport des anions d'AGCC avec deux ions sodium Na^+ . Parmi les trois types de transporteurs, les SMCT1 sont connus pour transporter le butyrate plus rapidement que le propionate et l'acétate (351).

IV. 1. 2. Répartition des AGCC dans l'organisme

Le caecum et la partie proximale du côlon sont les deux sites majeurs de production des AGCC. Les concentrations des AGCC présents dans le côlon chutent régulièrement plus on se rapproche de la partie distale. Ce gradient de concentration est dû à une absorption des AGCC produits par les cellules coliques (20). Chez des personnes qui consomment un régime riche en fibres, les concentrations dans le côlon proximal peuvent atteindre jusqu'à 226 mmol/kg de contenu sec pour l'acétate, 104 mmol/kg pour le propionate et 78 mmol/kg pour le butyrate avec une proportion de 60/20/20 environ (353,354). Une fois absorbés, les AGCC qui n'ont pas été métabolisés par les colonocytes atteignent le foie via la veine porte. Le butyrate étant une source d'énergie importante pour les colonocytes, seule une petite quantité de butyrate atteint le foie et se retrouve dans la circulation systémique. Seul l'acétate peut être retrouvé en quantité importante dans le sang périphérique (bien qu'utilisé dans le foie et l'intestin comme nutriment énergétique), propionate et butyrate étant métabolisés respectivement dans le foie et l'intestin en grande quantité. En effet, le butyrate est la molécule énergétique oxydée le plus rapidement en CO_2 relativement à d'autres substrats énergétiques disponibles pour les cellules épithéliales coliques (autres AGCC, glucose, glutamine, corps cétonique, acides gras) et peut représenter 50% de l'apport énergétique du colonocyte isolé (355). L'oxydation du butyrate se traduit par la production d'un métabolite majeur : le bêtahydroxybutyrate (b-OH) qui se retrouve en veine porte (356). Concernant le propionate, il est, au même titre que les acides aminés (comme l'alanine), le lactate et le glycérol, un précurseur de la néoglucogenèse hépatique (357) ce qui explique son importante utilisation dans le foie. La conséquence est que les concentrations de l'acétate/propionate/butyrate et *in fine* leurs proportions relatives dans de la veine porte, veine sus-hépatique et au niveau artériel sont différentes entre vaisseaux de l'ordre de 230/40/30 $\mu\text{mol/L}$, 160/20/10 $\mu\text{mol/L}$, 134/5/7 $\mu\text{mol/L}$ respectivement (353,358–360) (**Figures 27**).

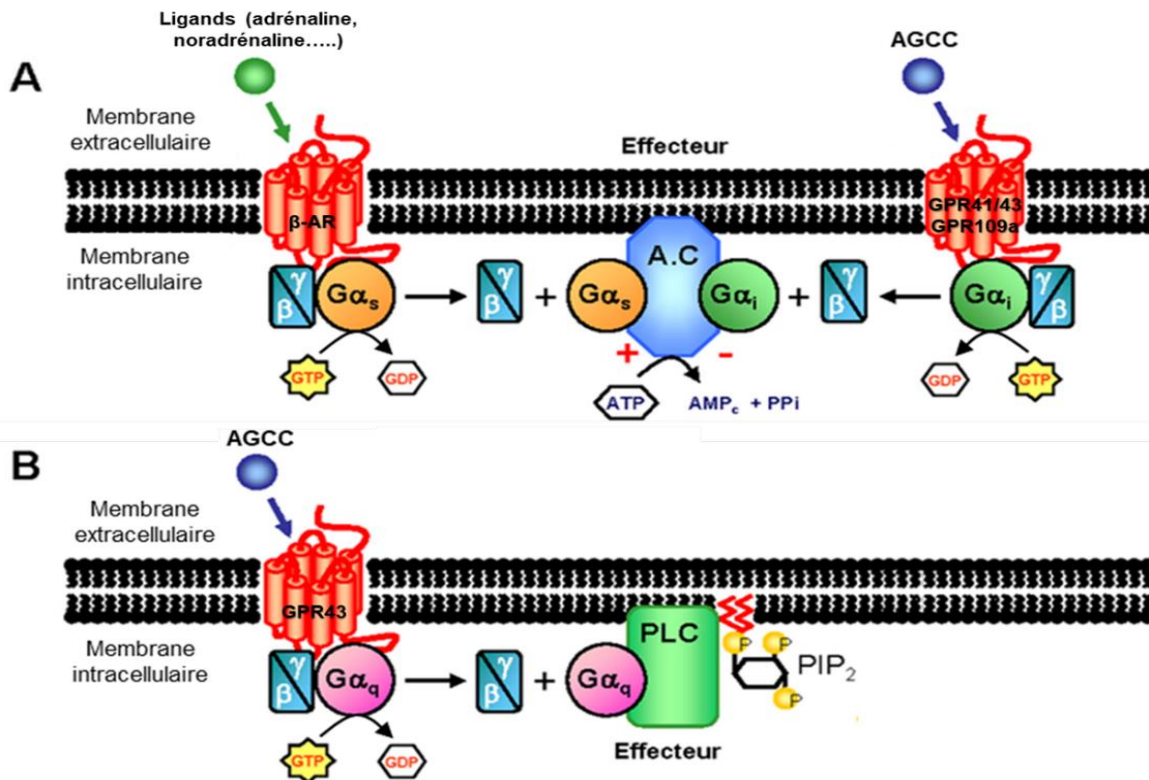


Figure 28 : Mécanisme d'action des AGCCs sur la transduction du signal cellulaire en fonction du type de récepteur couplé à la protéine G (RCPG) dont GPR41/43 et 109a. A) Inhibition de l'activation de l'adénylate cyclase (AC) par le couplage d'une sous-unité $G\alpha_{i/o}$ au récepteur (ex : GPR43 et GPR109). B) Activation de la phospholipase C suite a un couplage d'une sous-unité $G\alpha_q$ au récepteur (ex : GPR43). AGCC, acides gras à chaîne courte ; β -AR, récepteur β -adrénergique (361)

Récepteurs	Ligand	CE ₅₀	Expression
GPR43/FFAR2 ($G\alpha_{i/o}$, $G\alpha_q$)	Acétate (C2) Propionate (C3) C2=C3>>C4	259-537 μ M	Cellules L entéroendocrines, Cellules immunes du côlon (mastocytes, neutrophiles, éosinophiles et Tregs), leucocytes, adipocytes, muscles squelettiques, cœur, rate
GPR41/FFAR3 ($G\alpha_{i/o}$)	C3>C4>>C2	12-274 μ M (C3)	Cellules L entéroendocrines mastocytes, rate, moelle osseuse, ganglions lymphatiques, tissu adipeux, système afférent périportal, système nerveux périphérique, lymphocytes (cellules T, B et NK), pancréas
GPR109a ($G\alpha_{i/o}$)	C4	Homme :0.7 mM Rongeur : 1.6 mM	Membrane apicale de l'épithélium intestinal, les macrophages, monocytes, neutrophiles, cellules dendritiques

Tableau 14 : Les principaux récepteurs des AGCC et leur localisation cellulaire ou tissulaire. CE₅₀, concentration efficace médiane, T regs, lymphocytes T régulateurs (319)

IV. 2. Comment les AGCC interagissent avec les tissus pour moduler les métabolismes

Les AGCC interagissent avec le métabolisme tissulaire et influent sur l'orientation des voies métaboliques prioritairement en tant que **nutriment énergétique**. Néanmoins, les AGCC peuvent agir comme des **molécules signal** vis-à-vis des cellules, et ceci par deux mécanismes maintenant bien décrits : des interactions avec des récepteurs et une action sur des enzymes agissant sur l'acétylation et la désacétylation des histones de l'ADN.

IV. 2. 1. Interaction entre AGCC et récepteurs spécifiques

Les acides gras non estérifiés (AGNE) au sens large fournis par l'alimentation vont contribuer aux fonctions physiologiques directement (via leur utilisation comme substrat énergétique dans les voies métaboliques) ou indirectement (en agissant comme un signal). Dans ce dernier cas, les AGNE vont agir via des récepteurs aux acides gras libres (en anglais G-Protein Coupled Receptor (GPR) également appelé Free Fatty Acid Receptor (FFAR)). La transduction du signal va dépendre de la taille et de l'affinité des AGNE pour leur récepteur ainsi que la spécificité des récepteurs. La transduction du signal au niveau cellulaire de certains AGNE que sont les AGCC, induit des effets pléiotropiques comme la sécrétion d'hormones peptidiques, la régulation de l'inflammation, la régulation de l'homéostasie énergétique, l'amélioration de l'insulino-sensibilité ou une augmentation de la dépense énergétique (361). Concernant les AGCC (une classe particulière des acides gras, 2-6 carbonés), l'effet signal passe par des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) comme les GPR41 (FFAR3), GPR43 (FFAR2) et GPR109a (320).

Les récepteurs couplés à la protéine G (RCPG) sont constitués de 7 domaines transmembranaires couplés à la protéine G composée de trois sous-unités (α , β , γ). L'activation et le changement de conformation du récepteur, suite à la fixation du ligand, favorise le couplage du récepteur à la protéine G (**Figure 28**). Il en résulte une diminution de l'affinité de la sous-unité $G\alpha$ pour le GDP en facilitant ainsi la fixation du GTP à la place du GDP. Cet échange active la protéine-G hétérotrimérique ($G\alpha$, $G\beta/\gamma$), qui active en aval divers effecteurs membranaires ou cytosoliques telles que l'adénylate cyclase (AC), la phospholipase C (PLC) ou ras-MAP kinases (ras-MAPK). Une déphosphorylation du GTP en GDP grâce à des GTPases permet de mettre fin au signal d'activation du récepteur (362). La transduction du signal des RCPG sera différente en fonction de la diversité de la sous-unité $G\alpha$. Dans le cas des récepteurs des AGCC, les GPR41 et 109a sont couplés uniquement à la sous-unité $G\alpha_{i/o}$, tandis que les GPR43 est couplé à la fois à la sous-unité $G\alpha_{i/o}$ et $G\alpha_q$. Une activation des récepteurs couplés à $G\alpha_{i/o}$ par les AGCC entraînerait l'inhibition de la voie de l'adénylate cyclase, alors que ceux

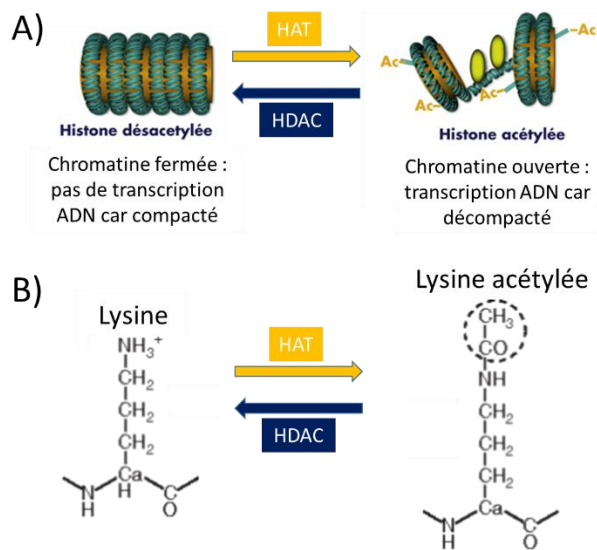


Figure 29 : Acétylation et désacétylation des histones sur les résidus lysine.

A) Acétylation et désacétylation de la chromatine grâce au HAT (histone acétylase) et HDAC (histone désacétylase) permettant l'activation ou la répression de la transcription de gènes. B) acétylation et désacétylation des résidus lysines des histones (367)

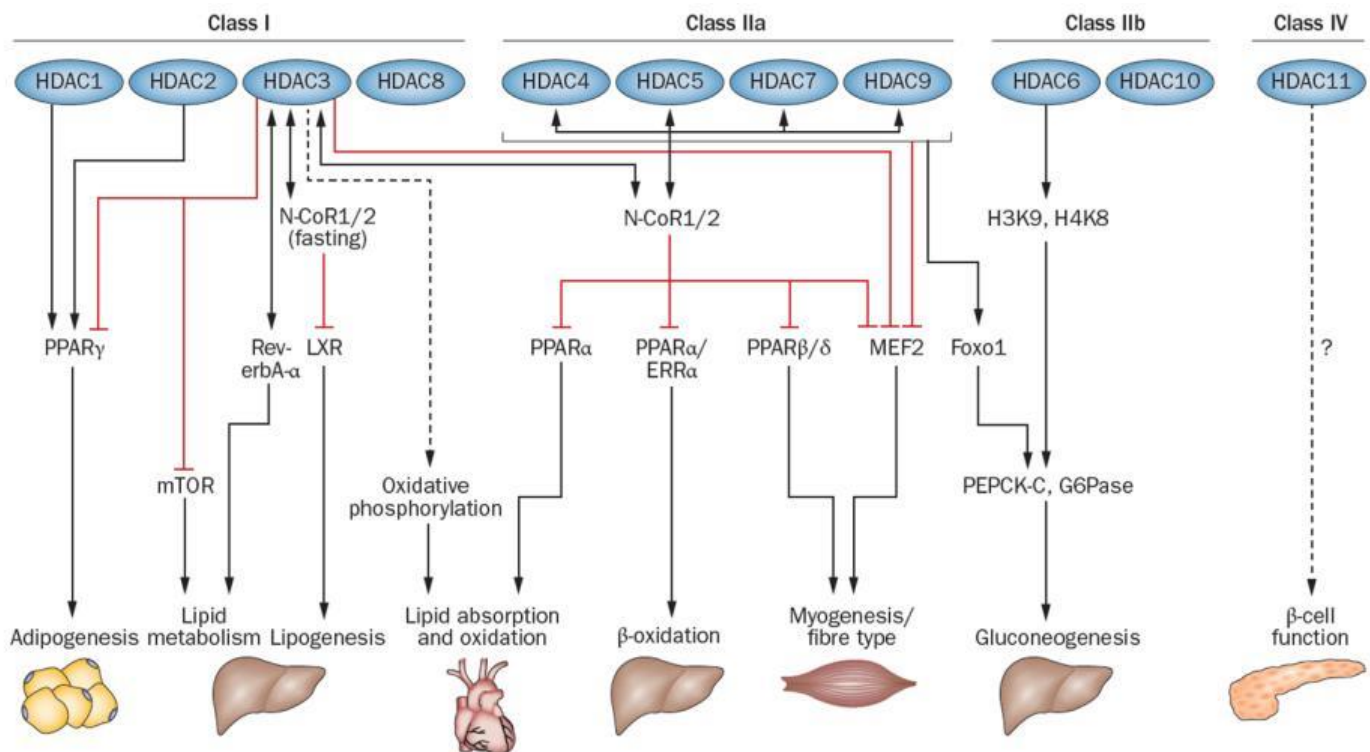


Figure 30 : Régulation du métabolisme énergétique via les 4 classes de HDAC (I, IIa, IIb et IV).

ERR α , récepteur α lié à l'œstrogène ; G6Pase, glucose-6 phosphatase ; HDAC, histone désacétylase ; KDAC, lysine désacétylases ; LXR, récepteur du foie X ; MEF2, facteur d'amélioration spécifique des myocytes 2 ; mTOR, cible mécaniste de la rapamycine ; N-CoR, corépresseur de récepteurs nucléaires ; PEPCK-C, phosphoénolpyruvate carboxykinase, cytosolique ; PPAR, récepteur activé par les proliférateurs de peroxyssomes (368)

couplés à G α q entraîneraient l'activation de la voie phospholipase C (PLC) et une augmentation du taux de calcium intracellulaire. Les trois classes de GPR (41/43/109a) auront le même effet sur la signalisation passant par l'AC alors que GPR43 est le seul à moduler la signalisation médiée par la PLC (320). Ainsi, la traduction du signal et la réponse cellulaire vont dépendre du ligand, du type de récepteur et de la protéine G associée (**Figure 28**).

Concernant l'association ligand-récepteur, le récepteur GPR43 est principalement activé par l'acétate et le propionate, et dans une moindre mesure le butyrate, tandis que le récepteur GPR41 est activé principalement par le propionate puis le butyrate. En revanche le récepteur GPR109a est spécifiquement activé par le butyrate (320). Ces récepteurs sont disséminés sur plusieurs types cellulaires permettant d'impacter sur le métabolisme énergétique, l'état inflammatoire, mais aussi la réponse immunitaire de l'hôte (**Tableau 14**).

IV. 2. 2. Le lien entre les AGCC et les HDAC

Dans le cadre des études sur la prise de fibres alimentaires et leur impact pour limiter l'occurrence du cancer du côlon chez l'homme (191–194), les rongeurs (195,196) ou *in vitro* sur des cellules cancéreuses (197–199,363–365), les auteurs se sont tout particulièrement intéressés aux mécanismes de développement de la carcinogénèse. Il a été montré que les AGCC, notamment le butyrate et le propionate, pouvaient inhiber la prolifération cellulaire et à l'inverse stimuler l'apoptose des cellules cancéreuses via leur capacité à inhiber les histones désacétylases (366,367). En effet, parmi les mécanismes de régulation de l'expression des gènes, figure la modulation de l'acétylation des histones par les histones acétyltransférases (HAT) et les histones désacétylases (HDAC). L'acétylation cible spécifiquement les résidus lysine situés en position N terminale des protéines histones et diminue ainsi la charge positive sur les histones. Cette perte de charge positive des histones empêche leur fixation à l'ADN (chargé négativement) entraînant ainsi la décompaction de l'ADN qui devient accessible aux facteurs de transcription (368) (**Figure 29**).

Ces phénomènes d'acétylation sont des modifications post traductionnelles reconnues comme clé dans la régulation des flux énergétiques et métaboliques cellulaires, les rythmes circadiens, les cycles cellulaires et la production d'énergie. Une revue très complète explique en détail comment l'acétylation/désacétylation de l'ADN peut contrôler les métabolismes (369). Menzies et coll. insistent notamment sur le rôle des HDAC dans ces régulations. Ces HDAC se regroupent en plusieurs classes (I, IIa, IIb et IV) et ont été montrées comme capables de réguler le métabolisme énergétique de nombreux tissus par l'intermédiaire de facteurs de régulation divers (PPARs, LXR, Foxo ...) comme résumé dans la **Figure 30**. Les métabolismes

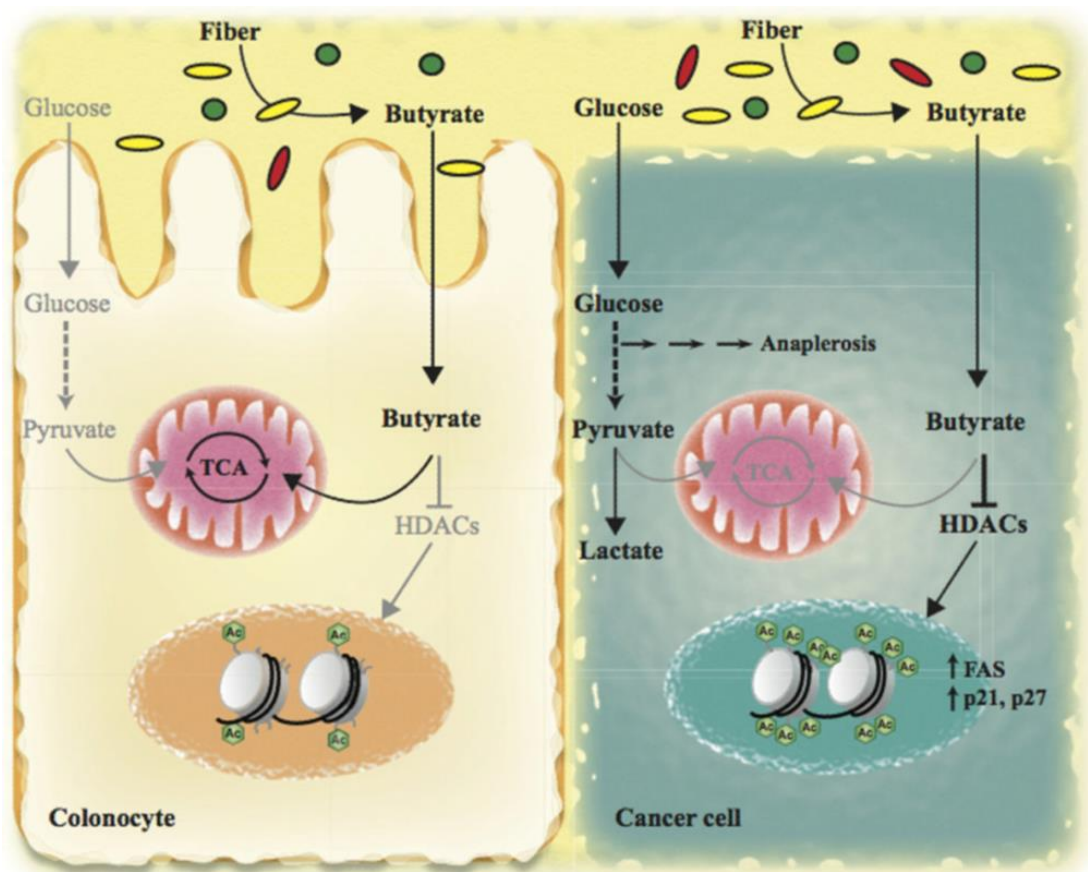


Figure 31 : L'impact du butyrate (produit de dégradation des fibres par le microbiote intestinal) sur la mort cellulaire des cellules cancéreuse via une inhibition des HDAC. HDAC, histones désacétylases ; FAS, récepteur des TNF ; P21 et P53, inhibiteurs cycle cellulaire (372)

hépatiques (lipogénèse, la β -oxydation, néoglucogénèse), musculaires (myogénèse, type de fibres), et adipeuses (adipogénèse) sont notamment régulées par les HDAC.

En dehors des effets sur le métabolisme énergétique, les AGCC, propionate et butyrate particulièrement, impactent sur la prolifération cellulaire (\uparrow P53, P21, \downarrow cycline D3, CDK1 et 2) et l'apoptose (\uparrow BCL2, \downarrow BAX) (370–372). L'effet du butyrate peut varier selon le type cellulaire ciblé : dans une situation normale le butyrate favorise la prolifération cellulaire, tandis qu'il inhibe la prolifération cellulaire via les HDAC sur les cellules cancéreuses (373). Dans le premier cas le butyrate est utilisé comme substrat énergétique, alors que pour la cellule cancéreuse, comme le substrat majoritairement utilisé est le glucose, le butyrate s'accumule et agit en tant qu'inhibiteur des HDAC (373) (**Figure 31**). En plus d'avoir un impact sur la prolifération cellulaire, le butyrate inhibe l'inflammation et la réponse immunitaire (374).

Les AGCC produits vont donc agir selon des modalités différentes selon les tissus et organes, car comme précisé dans les paragraphes précédents, les profils et quantités d'AGCC apportés aux tissus sont différents : large profil d'AGCC en quantité importante au niveau du lumen intestinal, profil appauvri en butyrate fourni au foie via la veine porte et profil très enrichi en acétate avec des quantités beaucoup plus faibles, voire quasi nulles en propionate, butyrate au niveau des tissus périphériques. Nous allons donc étudier, tissu par tissu, les effets connus des AGCC sur leurs métabolismes et les régulations mises en jeu.

IV. 3. Impact des AGCC sur l'intestin

IV.3. 1. Peptides intestinaux

La consommation de fibres alimentaires et la production d'AGCC associée par le microbiote colique, peuvent agir directement au niveau des colonocytes ou via les récepteurs GPR (GPR109a, GPR41 et GPR43). Parmi les AGCC, le butyrate est le substrat énergétique qui sera le plus utilisé par les cellules intestinales pour leur croissance et leur prolifération. Les AGCC vont ainsi jouer leur rôle de nutriment énergétique et activer des GPRs (320).

Les cellules L présentes dans l'épithélium intestinal secrètent des hormones anorexigènes (PYY et GLP-1) après la prise d'un repas. L'effet anorexigène de ces deux peptides exercerait une inhibition du NPY et une activation de la POMC dans l'ARC hypothalamique (250,251). La sécrétion de ces neuropeptides peut être un moyen de réduire l'incidence de l'obésité et les maladies qui lui sont associées. Or, les polysaccharides comme les fibres alimentaires, sont des substrats stimulant la sécrétion de GLP-1 et de PYY dans les cellules L de l'intestin via les AGCC (320) (**partie IV.1.2 et IV.2.1**).

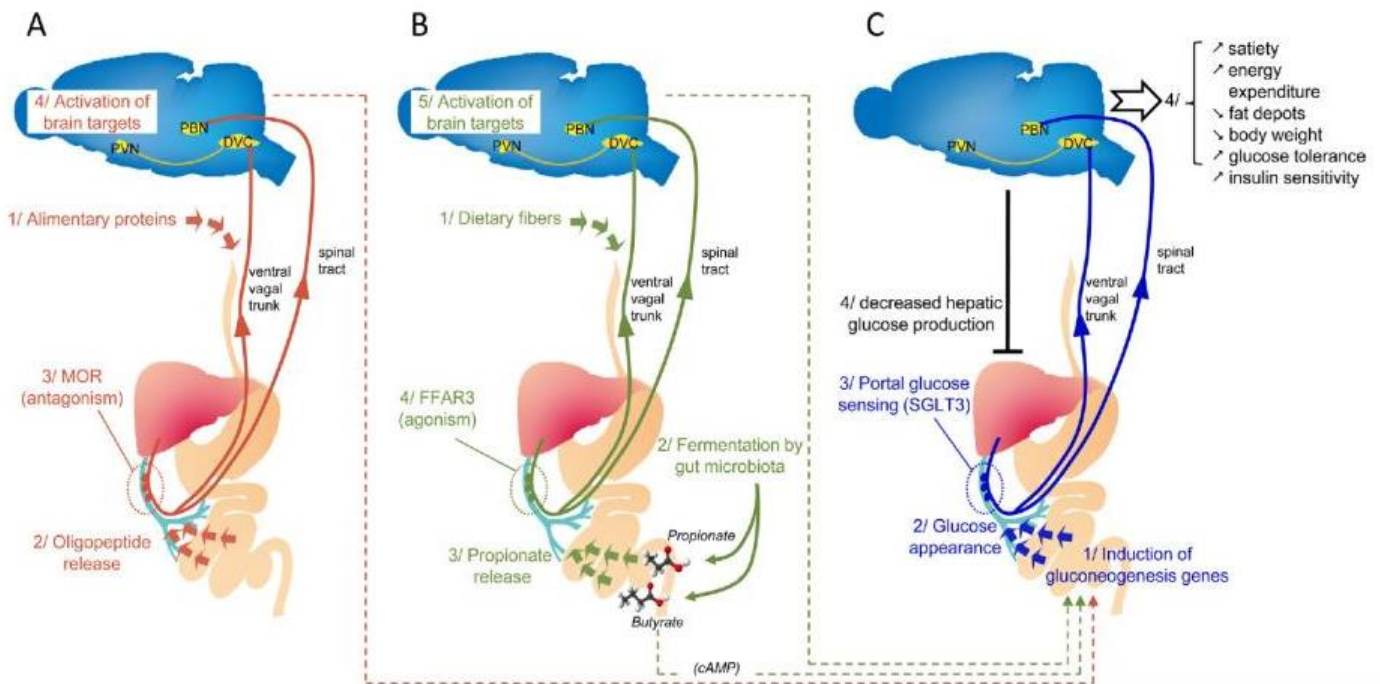


Figure 32 : Mécanismes par lesquels les métabolites microbiens contrôlent la néoglucogenèse intestinale et l'homéostasie énergétique via la diaphonie neuro-intestinale gastro-intestinale.

A) Digestion des protéines alimentaires entraîne la libération de peptides dans la veine porte. Les peptides se lient aux récepteurs MOR présents dans les afférents périportaux B) Impact des AGCC sur la néoglucogenèse intestinale via un mécanisme piloté par l'AMPC ou via l'activation du système nerveux central par FFAR3 (GPR41). C) Pendant la période post-absorptive (à jeun), les acides aminés dérivés des protéines alimentaires ou du propionate provenant des fibres alimentaires peuvent servir de précurseur du glucose dans la gluconéogenèse intestinale. Cette dernière (1) favorise la libération de glucose dans la veine porte (2). Le glucose se lie au SGLT3 en tant qu'agoniste (3), qui envoie un second message au cerveau pour diminuer la production de glucose hépatique et initier diverses adaptations métaboliques (378)

En effet, sur les cellules de côlon humaines et murines, une augmentation de la sécrétion de GLP-1 et de PYY est observée en présence d'AGCC (267,375,376). Cet effet passerait par l'activation de GPR (41 et 43) qui sont eux aussi localisés dans des cellules L du côlon (320). En effet des études *in vivo* et *in vitro* ont mis en évidence qu'un KO de GPR41 et 43 atténuait la sécrétion de GLP-1 et PYY (267,281,375,376). Plus globalement, une réduction de la motilité colique et du temps de transit intestinal a été démontré par Cherbut et coll. sur des rats suite à une infusion intracolique d'AGCC (377), ce qui pourrait s'expliquer par les mécanismes régulateurs présentés ci-dessus.

Ainsi, ces études *in vitro* et *in vivo* suggèrent un effet des AGCC sur la sécrétion des hormones satiétogènes via une signalisation mettant en jeu les récepteurs GRP41 et GRP43.

IV.3. 2. AGCC et Néoglucogenèse intestinale

Jusqu'alors, le foie et dans une moindre mesure les reins étaient connus comme étant les sites prépondérants de la néoglucogenèse. Des études plus récentes sur rongeurs décrites par le groupe de Mithieux et coll. ont mis en évidence l'existence d'une néoglucogenèse intestinale à jeun. Cette néoglucogenèse serait réalisée et/ou activée à partir des AGCC, en particulier le propionate, le butyrate (378) ainsi que d'autres molécules issues de la dégradation des fibres dans le côlon comme le succinate (379).

Contrairement au propionate, le butyrate ne serait pas utilisé comme substrat de la néoglucogenèse. De Vadder et al suggèrent un effet du butyrate sur les gènes de régulation de la néoglucogenèse intestinale via l'augmentation des concentrations d'AMPc. Or les récepteurs aux AGCC sont connus pour inhiber l'activation de l'adénylate cyclase, réduisant par la suite les concentrations de l'AMPc. Les niveaux de glucose produits par l'intestin par néoglucogenèse à jeun seraient ensuite détectés par des récepteurs situés au niveau de la veine porte, qui relaieraient le message au cerveau afin d'augmenter la sensation de satiété et réduire la prise alimentaire mais aussi de réduire la production de glucose hépatique (378,380) (**Figure 32**).

Cette théorie mettant en jeu la néoglucogenèse intestinale comme déterminante dans la régulation du comportement alimentaire, le métabolisme énergétique corporel et l'insulino-sensibilité reste néanmoins à confirmer car plusieurs auteurs ont mis en évidence par exemple une faible activité de néoglucogenèse à partir du galactose dans l'intestin du porcelet de 2 jours (381) ou une absence de néoglucogenèse intestinale chez le rat à partir de la glutamine après 72 heure de jeûne (382). Des erreurs de mesure sur des faibles différences artérioveineuse de concentrations en glucose et d'enrichissements ont été par ailleurs évoquées pour expliquer

cette « apparente » néoglucogenèse intestinale (383).

IV.3. 3. Impact des AGCC sur l'Inflammation et Immunité intestinales

L'inflammation chronique est un facteur de risque bien établi du cancer colorectal (CCR) mais aussi de nombreuses dérives/pathologies métaboliques (diabète, obésité, vieillissement ...) (384). L'inflammation chronique a également été associée à la présence de bactéries pathogènes et des éléments microbiens commensaux (385), à une dysbiose bactérienne ou à une baisse de la richesse du microbiote (386). Pour protéger les cellules épithéliales et l'organisme des agents pathogènes, la muqueuse intestinale est recouverte d'une couche de mucus qui contient des cellules immunitaires. Le mucus est constitué de différentes mucines, dont la prédominante est la mucine épithéliale 2 (MUC2). Il a été démontré que les fibres alimentaires étaient capables d'améliorer la fonction de la barrière intestinale, notamment en augmentant la sécrétion de mucines (387,388).

Comme montré précédemment, les AGCC inhibent les HDAC dans de nombreuses cellules, dont les colonocytes et les cellules immunitaires de la muqueuse, régulant ainsi l'expression des gènes dans ces cellules. L'inhibition des HDAC entraîne la suppression du facteur de transcription nucléaire NF-KB influençant ainsi la transcription des gènes associés à l'inflammation (TNF α , IL-6, IL-8) (374). Des études *in vitro* ont montré que les AGCC peuvent moduler directement la signalisation du récepteur Toll-like 4 (TLR-4), réprimant ainsi la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-6, IL-12) et augmentant la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10. Ceci est accompagné par une réduction de l'infiltration de leucocytes dans la muqueuse colique, limitant ainsi directement la réponse immunitaire (389,390). L'inhibition des HDAC par les AGCC, en particulier butyrate et propionate, conduit à une activation de la différenciation mucoale des cellules T régulatrices (Trég). Les cellules Trég stimulent la transcription du gène FOXP3, jouant un rôle anti-inflammatoire en stimulant la production de l'IL-10 (391). De plus il a été observé *in vitro*, sur des cellules murines et humaines, que les AGCC favorisent la réponse immune via la différenciation des cellules B en plasmocytes productrices d'anticorps. La même étude a également montré que les AGCC, en stimulant le métabolisme énergétique, permettent la production d'énergie nécessaire à la production d'anticorps (392) (**Figure 33**).

En deuxième lieu, les AGCC impactent sur l'inflammation et la réponse immune par signalisation via les récepteurs GPR41, GPR43 et GPR109a. Ceci a été démontré en utilisant des modèles de souris KO pour ces deux récepteurs (393). Une invalidation de GPR43, chez des souris, se traduit par une forte présence de cellules inflammatoires au niveau du côlon

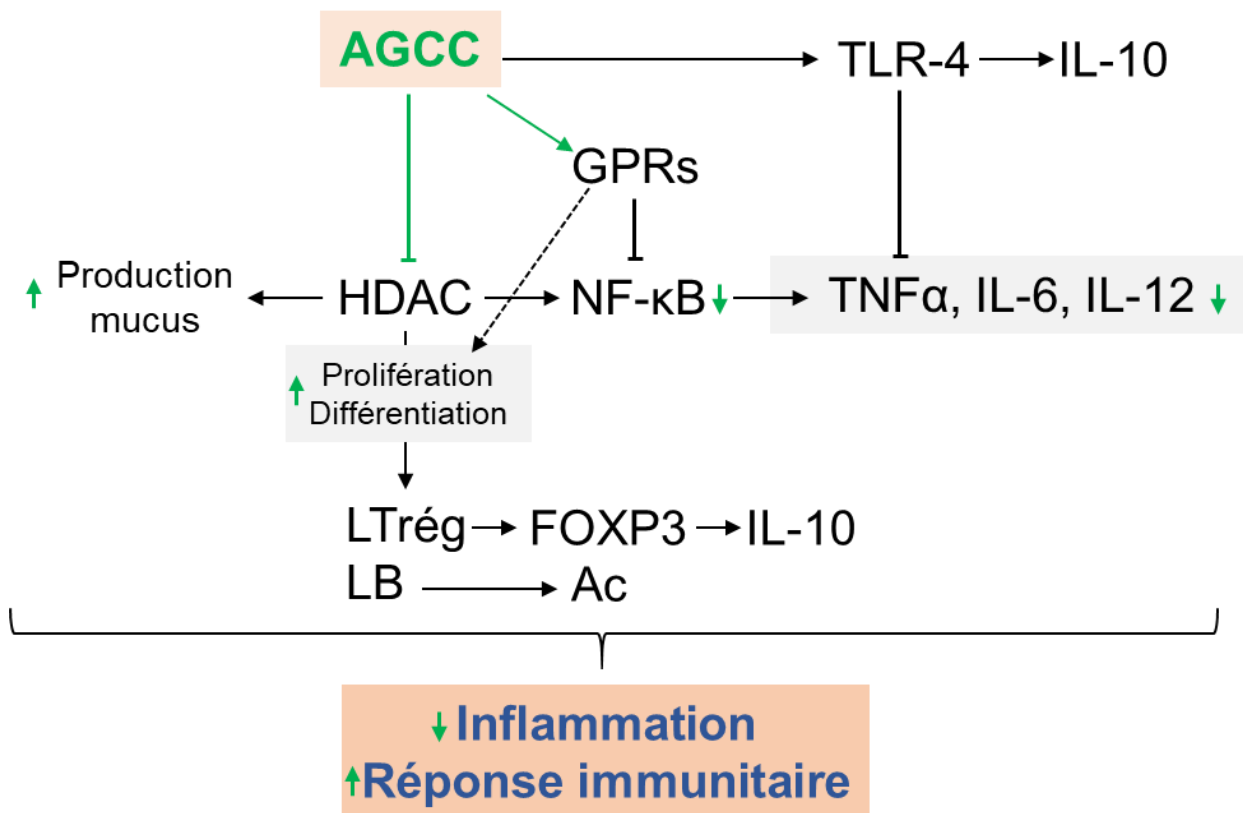


Figure 33 : Mécanisme d'action des AGCC sur la réduction de l'inflammation et l'augmentation de la réponse immunitaire via l'inhibition des HDACs ou la stimulation des GPRs. Ac, anticorps ; LTrég, lymphocyte T régulateur ; LB, Lymphocyte B ; TLR4, Toll Like Receptor 4 ; TNFα, facteur de nécrose tumorale (319, 350)

comparé au souris témoins (394).

L'un des éléments explicatifs de cette augmentation de l'inflammation colique est l'inhibition des cellules Régulatrices (Trég), productrices de molécules anti-inflammatoires (IL-10, FOXP3, TGF β ...) (395). Des études *in vitro*, ont montré que la signalisation Gpr109a favorise également une réponse anti-inflammatoire dans les macrophages et les cellules dendritiques du côlon et permettait une induction de la différenciation des cellules Trég et des cellules T productrices d'IL-10 (367). De plus cette même signalisation permet aussi d'inhiber l'activation de NF- κ B dans les lignées cellulaires cancéreuses humaines, ce qui favorise l'expression de gènes régulant l'apoptose ou l'immunité (396) (**Figure 33**).

En résumé, dans le tube digestif distal, les AGCC peuvent pénétrer dans les cellules par transport passif ou par transport à diffusion facilitée et agir comme source d'énergie ou en tant qu'inhibiteur des HDAC (partie IV. 2. 2). Le butyrate et le propionate luminal exercent des effets anti-inflammatoires via les GPR41, 43 et 109a ou l'inhibition des HDAC (320,393). Les AGCC peuvent également agir sur d'autres sites intestinaux, comme les cellules immunitaires de la lamina propria, où elles réduisent l'inflammation et la tumorigénèse. La réponse immunitaire peut être aussi améliorée via l'utilisation des AGCC comme substrats énergétiques par les cellules immunitaires afin de produire de l'énergie nécessaire à leur différenciation cellulaire.

IV. 4. Impact des AGCC sur le foie

Le foie est l'un des tissus cible majeur de la suralimentation et des régimes hyperlipidiques, hypersucrés, qui peuvent aboutir *in fine* au développement d'une stéatose hépatique non alcoolique. Cette stéatose hépatique, caractérisée par une accumulation ectopique de lipides dans le foie, est fortement liée à l'installation d'une résistance à l'insuline et associée à une diminution de la β -oxydation des lipides, d'une augmentation de leur stockage et d'une augmentation de l'état inflammatoire (398). En situation normale, lorsque l'afflux de lipides vers le foie augmente, plusieurs facteurs de transcription sont activés dont les récepteurs activés par les proliférateurs de péroxysomes (PPARs), les protéines de liaison à un élément régulateur de stérol (SREBP1-c), les récepteurs nucléaires des oxystérols (LXR (Liver X récepteur)), PGC-1 α (PPAR- γ co-activateur 1 α) (398–400).

Alors que la consommation sur le long terme de régimes hypercaloriques favorise l'occurrence de la stéatose hépatique, la consommation d'un régime supplémenté en fibres alimentaires ou en AGCC, chez des rongeur, conduit à une réduction de la teneur en lipides (cholestérol total, estérifié et TG) au niveau hépatique (170,401–405). Les AGCC, présents

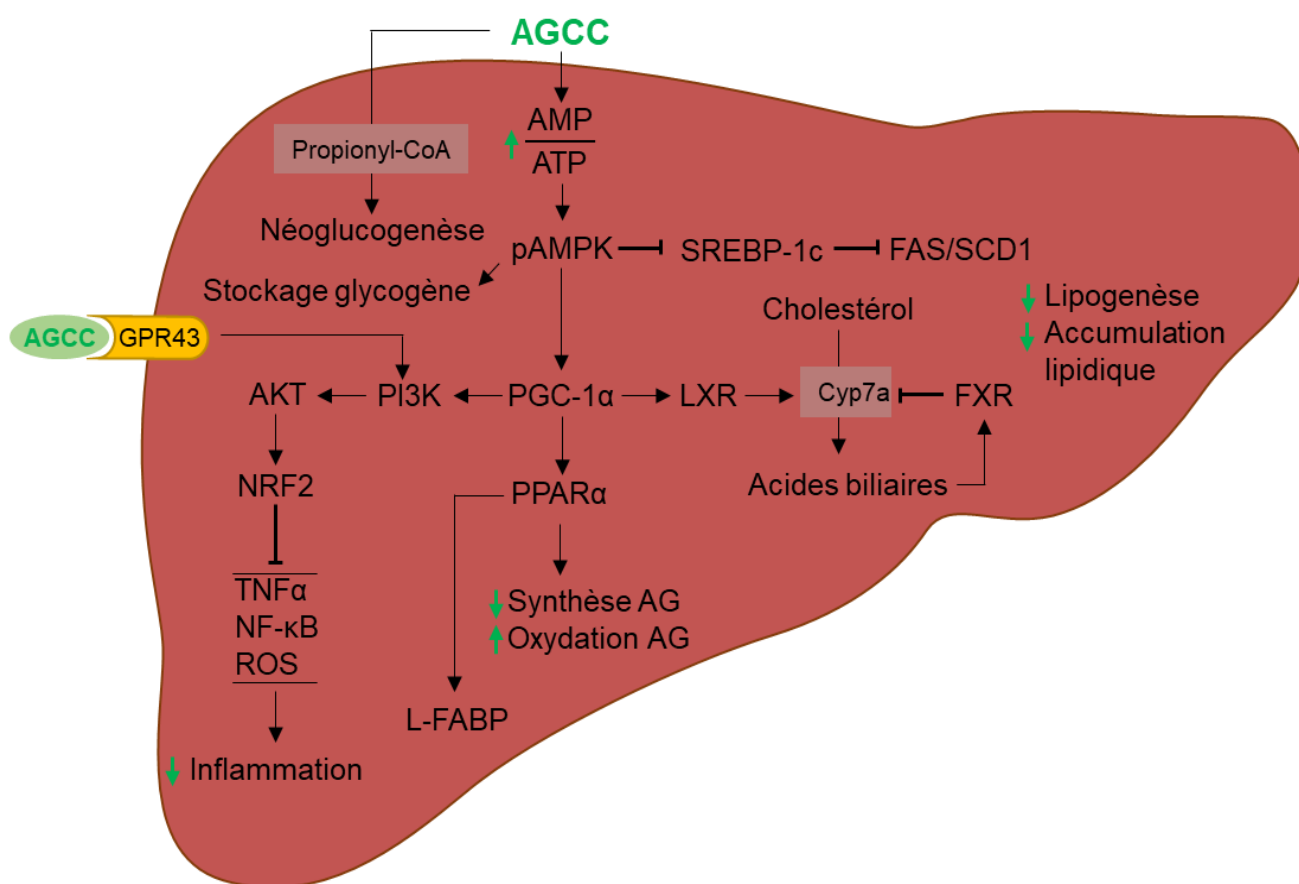


Figure 34 : Régulation hépatique de l'homéostasie glucidique et lipidique par les AGCC dans le foie. AG, acides gras ; AGCC, acide gras à chaîne courte; AKT, protéine kinase B ; AMP, Adénosine monophosphate; ATP, adénosine triphosphate; Cyp7a, Cholestérol 7-alpha hydroxylase ; FABP, protéine fixant les acides gras ; FAS, synthase d'acides gras ; FXR, récepteur Farnesoid X ; LXR, récepteur X du foie ; NF-κB, facteur nucléaire kappa B ; NRF2, Facteur nucléaire érythroïde 2 ; pAMPK, Phospho AMP kinase ; PI3K, Phosphoinositide 3-kinase ; PGC-1α, PPARγ Coactivateur 1α ; PPAR, Récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes; UCP1, Protéine découplante ; ROS, espèces réactives de l'oxygène ; SCD1, Stéaroyl-CoA désaturase-1 ; SREBP, Protéine de liaison à un élément régulateur de stérol ; TG, triglycéride ; TNF, Facteur de nécrose tumorale ; (345, 360)

en veine porte pourront à la fois être utilisés comme substrats énergétique dans le foie et jouer un rôle signal dans la régulation de l'homéostasie énergétique.

Concernant le devenir métabolique des AGCC dans le foie, il a été montré (**partie IV. 1**) que la proportion relative en acétate, propionate et butyrate variait entre la veine porte (vaisseau afférent du foie) et la veine sus-hépatique (vaisseau efférent du foie), passant de 77/15/8 à 89/6/5 respectivement pour les trois AGCC. Ceci s'explique par une utilisation hépatique importante du propionate qui est dirigé essentiellement vers la néoglucogenèse (352,406,407). Le propionate, capté par le foie, est converti en propionyl-CoA et entre dans le cycle de Krebs au niveau de la succinyl-CoA. Cela conduit à une élévation des taux d'oxaloacétate converti ensuite en glucose (352). L'acétate est également capté par le foie mais est également émis en quantités importantes vers les tissus périphériques. Il est utilisé essentiellement dans la lipogenèse, notamment au niveau hépatique (comme montré sur des études utilisant du ¹³C acétate) (361).

Les AGCC jouent également un rôle signal dans la régulation des voies dans lesquels ils sont métaboliquement impliqués dans le foie, et notamment sur le métabolisme lipidique en inhibant la lipogenèse (408). Le propionate n'est pas le seul AGCC pouvant inhiber la lipogenèse. Des études récentes ont validé que la supplémentation alimentaire d'acétate ou de butyrate stimulait la β -oxydation des lipides, via l'augmentation de l'expression de plusieurs gènes dont PPAR α , PGC-1 α , FABP (Protéine liant les acides gras) ou CPT1 et 2 (Carnitine palmitoyltransferase). A l'inverse, il a été observé une inhibition de l'expression des gènes rentrant en jeu dans la lipogenèse et l'accumulation lipidique, à l'instar de SREBP-1c, ChREBP, FAS ou SCD1 (409–411). Ces effets semblent mettre en jeu l'AMPK et son degré de phosphorylation car des études sur rongeurs ont montré que la consommation de régime obésogène supplémenté soit avec des probiotiques soit des AGCC permettait d'atténuer les effets délétères du régime obésogène via une activation de l'AMPK, une amélioration de la sensibilité à l'insuline (PI3K, AKT) et une réduction du stress oxydant et des marqueurs de l'inflammation (TNF α , IL-6, NF- κ B, ROS) par NRF2 (408,411–414). La phosphorylation de l'AMPK pourrait être liée à une activation des récepteurs GPR41 et 43 sauf que leur expression au niveau hépatique est très faible pour que les effets observés puissent être associés uniquement au GPRs (415,416). Un mécanisme alternatif serait une augmentation du ratio AMP/ATP qui activerait l'AMPK qui elle-même induirait une cascade de gènes impliqués dans l'activation de la β -oxydation et l'inhibition de la lipogenèse (**Figure 34**).

Bien que l'activation de la voie de l'AMPK par les AGCC, au niveau hépatique, ait été bien étudiée dans la littérature, d'autres voies métaboliques impactées par les AGCC, comme la régulation des HDACs, reste à éclaircir. Des études *in vitro*, sur des cellules de foie stéatosées, montrent une réduction de l'expression des HDACs de Classe I (Hdac 1), Classe II (Hdac 7, 9, 10), Classe IV (Hdac 11) et réduction de l'expression du gène de HDAC3 de la classe I (417,418). De plus s'associe à cette dérégulation des HDAC une augmentation de l'expression des gènes de la lipogenèse, comme SREBP-1c, ChREBP, FASN ou SCD1 (417,418). En revanche des études *in vitro* ont mis en évidence que le butyrate inhibait l'expression de l'HDAC3, et stimulait par la suite l'expression des gènes du transport des lipides dans le foie et de leur oxydation (PPAR α , CPT1, FABP) (419,420). La régulation de l'expression hépatique des HDACs par les AGCC joue probablement un rôle majeur dans la stéatose hépatique en impactant la lipogenèse et la β -oxydation des acides gras. Cet effet des AGCCs sur la régulation de l'homéostasie lipidique du foie via les HDACs reste à approfondir, étant donné le peu d'études réalisées dans la littérature.

Schématiquement, le devenir métabolique des molécules de propionate dans le foie est la néoglucogenèse alors que le butyrate et l'acétate est la lipogenèse. L'acétate et le butyrate en particulier semblent également jouer un rôle régulateur majeur, en passant par une voie AMPK dépendante ou par une régulation des HDAC. Le rôle des GPRs et leur interaction avec les AGCC dans la régulation de l'homéostasie énergétique hépatique par les AGCC, s'il est avéré, a un rôle probablement mineur (**Figure 34**).

IV. 5. Impact des AGCC sur le muscle

Le muscle squelettique est l'un des tissus les plus sensibles à l'insuline et régulateur de la glycémie, notamment en utilisant le glucose plasmatique pour son propre métabolisme. En cas d'obésité ou de DT2, les voies d'utilisation des lipides et du glucose et notamment la β -oxydation sont perturbées, le muscle étant incapable d'adapter le niveau d'oxydation des lipides à l'apport, entraînant de ce fait une accumulation de lipides dans le muscle squelettique. Ceci est associé à une réduction de l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme oxydatif (421). La suralimentation a également été associée à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les mitochondries, qui peuvent également interférer avec les voies de signalisation de l'insuline. A l'inverse, l'activation de l'expression de PPAR α via PGC-1 α , a été associée à une augmentation de la capacité oxydative du muscle squelettique et a une amélioration de l'insulinorésistance (400) (**Figure 35**).

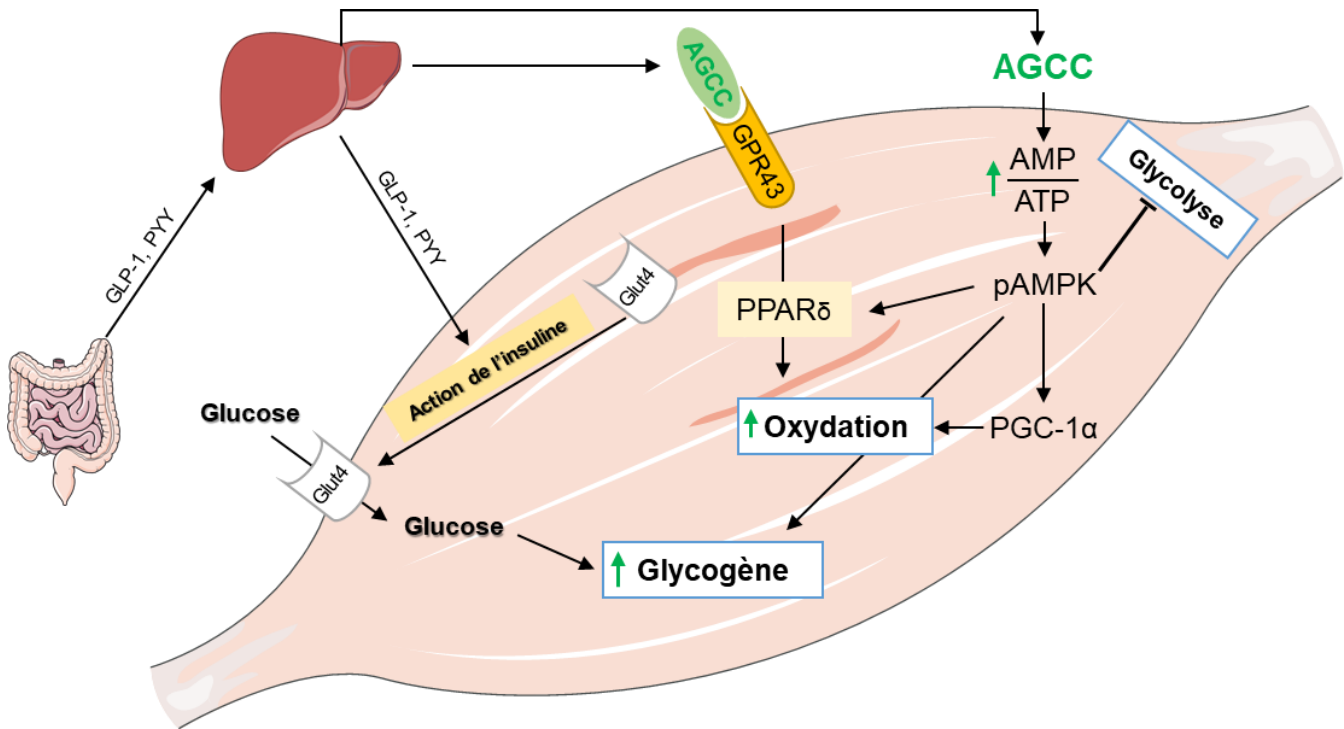


Figure 35 : Régulation du métabolisme énergétique musculaire par les AGCC et les hormones digestives. AGCC, acide gras à chaîne courte ; AMP, Adénosine monophosphate ; ATP, Adénosine triphosphate ; pAMPK, phospho AMP kinase ; GLUT4, Glucagon-like peptide ; PGC-1 α , PPAR γ Coactivateur 1 α ; PPAR, récepteurs activés par Proliférateur de Peroxisome, ; PYY, Peptide YY ; (345, 360)

Le muscle étant un tissu périphérique, le profil en AGCC est fortement modifié par rapport à celui mesuré dans le lumen du tube digestif et est très en faveur de l'acétate qui pourra être utilisé comme nutriment énergétique (β -oxydation ou lipogenèse). Concernant l'effet des AGCC sur les voies métaboliques musculaires, des injections d'acétate ou des suppléments alimentaires en butyrate ou en acétate chez des rats obèses ont des impacts à la fois sur les voies du métabolisme du glucose et des lipides (422–424). Concernant le glucose, la consommation d'un régime supplémenté en acétate a permis d'augmenter le captage du glucose (GLUT4) et d'inhiber la glycolyse par suppression de l'activité phosphofructokinase-1 (PFK1), orientant ainsi le glucose vers le stockage sous forme de glycogène (424). Concernant l'oxydation des lipides et le métabolisme mitochondrial, une supplémentation en butyrate, dans cadre d'une alimentation obésogène, altère le profil métabolique des fibres musculaires en augmentant la proportion de fibres musculaire oxydatives et cette stimulation de la β -oxydation musculaire passerait par l'activation de l'AMPK relayée ensuite par les facteurs de transcription PGC-1 α , PPAR δ et une stimulation de la transcription de CPT1 (423,425) (**Figure 35**). Bien que l'expression des GPR 41 et 43 soit retrouvée au niveau musculaire, et pourrait expliquer les effets métaboliques retrouvés sur l'activité oxydative musculaire, les données manquent sur d'autres mécanismes potentiels de régulation directs de ces voies métaboliques par les AGCC (ex : la régulation des HDAC).

Les AGCC, par leur action au niveau digestif, peuvent également avoir un impact indirect sur le muscle. En effet, il a été vu précédemment que les AGCC présents dans le lumen intestinal stimulent la libération plasmatique de peptides (GLP-1 et PYY) satiétogènes insulino-sensibilisateurs. Il a été récemment démontré chez les rongeurs que le GLP-1 favorisait la microvascularisation musculaire augmentant ainsi l'utilisation du glucose et la signalisation à l'insuline (426). Une activation de la signalisation de l'insuline, plus particulièrement les voies en aval de la PI3K, stimule l'absorption du glucose via l'augmentation des taux de la protéine GLUT4 (427). Comme GLP1, PYY synthétisé par les cellules intestinales est capable de stimuler le captage du glucose plasmatique via une augmentation de la sensibilité à l'insuline des tissus musculaires (428–430), de plus il inhibe la lipogenèse via une baisse de l'expression de la FASn (en anglais Fatty acid synthase) (431). Ces mécanismes d'actions médiés par GLP-1 et PYY sont associés fortement à la signalisation de l'insuline au niveau cellulaire et participent donc à l'effet bénéfique des AGCC sur le métabolisme musculaire (**Figure 35**).

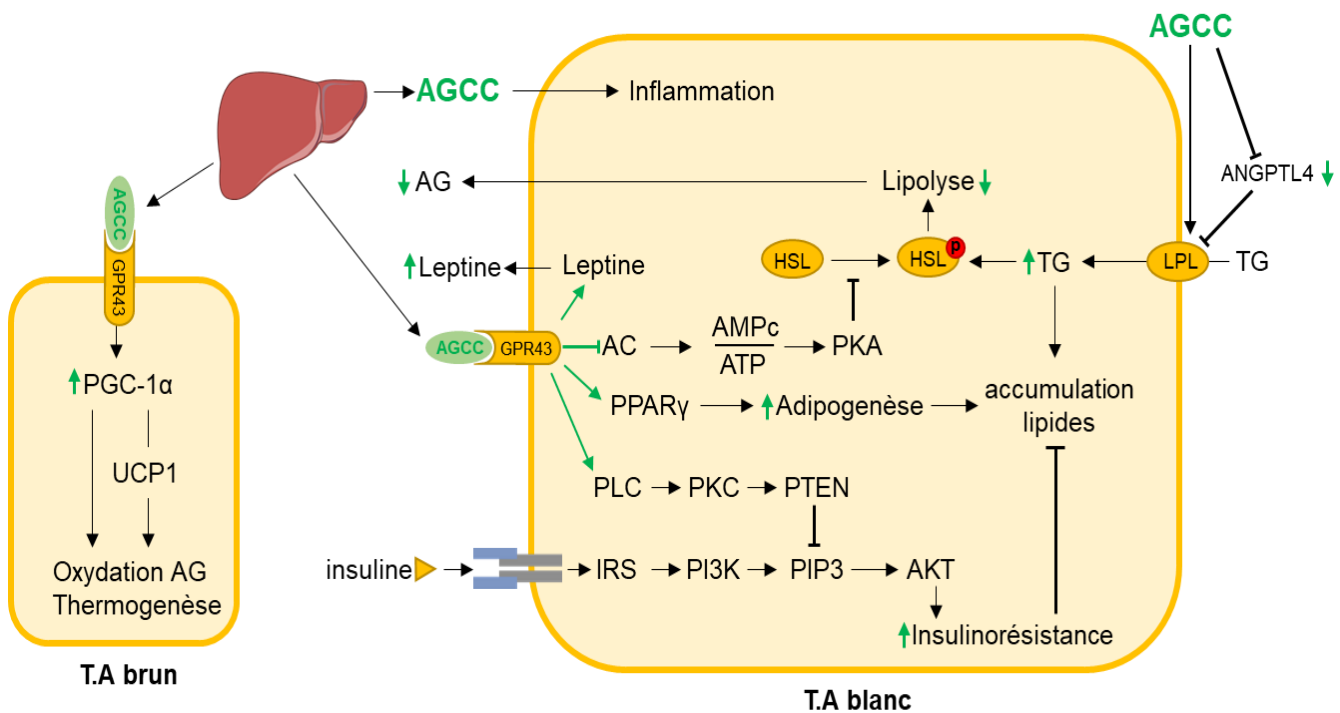


Figure 36 : Rôle des AGCC dans la regulation de l'homeostasie énergétique et inflammatoire dans les tissus adipeux blanc et brun.

AC, adénylate cyclase ; AGCC, acide gras à chaîne courte ; AG, acides gras ; AKT, tyrosine kinase ; AMPc, Adénosine monophosphate cyclique ; ANGPTL4, angiopoïétine like 4 ; ATP, Adénosine triphosphate ; HSL, lipase hormonosensibles ; IRS, Substrat du récepteur d'insuline ; LPL, lipoprotéine lipase ; PI3K, Phosphoinositide 3-kinase ; PKA, AMPc protéine kinase ; PKC, protéine kinase C ; PLC, phospholipase C ; PTEN, Homologation de la phosphatase et de la tensine ; Phosphoinositide 3-kinase ; PIP3, Phosphatidylinositol triphosphate ; PGC-1α, PPARγ Coactivateur 1α ; PPAR, récepteurs activés par Proliférateur de Peroxisome ; UCP1, Protéine découplante ; TG, triglycéride (345, 360, 437)

IV. 6. Impact des AGCC sur le tissu adipeux

Le tissu adipeux est le principal site de stockage de l'énergie excédentaire sous forme de triglycérides. Il est constitué de plusieurs types de cellules, notamment des adipocytes, des pré adipocytes, des cellules endothéliales et des cellules immunitaires. Lors de la consommation d'un régime obésogène, le tissu adipeux va jouer dans un premier temps un rôle tampon, permettant de stocker l'excès d'énergie sous forme de triglycérides dans les gouttelettes lipidiques des adipocytes (398). Dans des situations de demande d'énergie (jeune, activité sportive) les triglycérides adipocytaires sont libérés sous forme d'acides gras non estérifiés (AGNE) dans la circulation pour une utilisation par les tissus cibles. Cependant, une présence de fortes concentrations AGNE (et sur des durées longues) dans la circulation sanguine conduit à des perturbations métaboliques et la mise en place de phénomènes de résistance à l'insuline (398). La consommation de régime hypocalorique, ainsi que la consommation de fibres alimentaires, permettent de réduire les taux de lipides circulants et d'améliorer l'insulino-sensibilité, limitant ainsi l'apparition des maladies. Les AGCC issus des fibres alimentaires peuvent agir plus ou moins directement pour induire ces effets sur la lipémie.

Des études *in vivo* sur rongeurs et homme ont pu mettre en évidence qu'une administration orale, une perfusion rectale ou intraveineuse d'AGCC (acétate et propionate) réduisait le taux de TG circulant en augmentant l'expression de la lipoprotéine lipase (c'est-à-dire en augmentant la lipolyse intravasculaire) (432,433). Néanmoins, les données sur la lipoprotéine lipase (LPL) seule ne suffisent pas, car l'enzyme peut être inhibée par l'angiopoïétine protéine 4 (angptl4) dont il a été montré, sur le foie et l'intestin, qu'elle répondait *in vitro* au propionate et butyrate (inhibition) (434,435) mais dont la réponse aux AGCC est mal connue dans le tissu adipeux. *In vitro*, et au sein même des adipocytes, il a été également mis en évidence par plusieurs études que les AGCCs (acétate et propionate en particulier) favorisaient la différenciation cellulaire des préadipocytes en adipocytes, réduisaient l'activité lipolytique intracellulaire via une diminution de l'activité de la lipase hormonosensible (HSL) et favorisaient l'abiogénèse par une stimulation du facteur de transcription PPAR γ (436,437) (**Figure 36**). La réduction de la lipolyse adipocytaire serait également associée à une augmentation des concentrations plasmatiques de leptine et de glycérol. Ces effets d'inhibition de la lipolyse intracellulaire passeraient principalement par l'activation des récepteurs GPR en particulier GPR43. Cet effet observé sur le tissu adipeux blanc est différent dans le tissu adipeux brun car l'activation des GPR43 par les AGCC favoriserait notamment l'oxydation et la dépense énergétique dans le tissu adipeux brun (PGC-

1 α et UCP1) (423,438,439). Les cibles des AGCC dépendraient donc de la nature des tissus adipeux. L'ensemble des mécanismes cités ci-dessus laissent penser que les lipides devraient s'accumuler dans le tissu adipeux blanc (à la différence du tissu adipeux brun qui oxyde les lipides), ce qui suggèrerait que le tissu adipeux jouerait un rôle tampon de stockage des nutriments énergétiques en excès sous forme de lipides (346).

Néanmoins, l'impact des AGCC sur l'accumulation des lipides dans le tissu adipeux blanc, et notamment le rôle des GPRs, n'est pas aussi clair. Tout d'abord, certaines études montrent que la supplémentation en AGCC peut limiter l'adiposité au sens large (423). De plus, les études sur souris KO pour GPR43 sont contradictoires : Kimura et coll. (2013) montrent que des souris GPR43^{-/-} sont plus obèses que les souris « wild type » quand nourries avec un régime obésogène (sous-entendu que la stimulation de GPR43 limite l'accumulation de lipides) (439). A l'inverse, les souris GPR43^{-/-} nourries avec le même régime par Bjursell et coll. (2011) présentent une masse graisseuse inférieure (mais sans effets sur le tissu adipeux blanc) (440). Le KO total réalisé dans ces deux études citées ci-dessus pourrait néanmoins être un biais et éliminer toutes les régulations croisées entre les tissus et organes, notamment les tissus présentant également GPR43 : l'intestin, le foie, le cerveau.

Pour résumer, les études concordent pour montrer que les AGCC ont la capacité d'inhiber la lipolyse intracellulaire via une réduction de l'activité de l'HSL. L'effet des AGCC sur la lipolyse extracellulaire reste mal connu même s'il n'est pas à exclure. Il est également bien montré que les AGCC agissent de manière différente dans le tissu adipeux brun ou le tissu adipeux blanc. Dans les adipocytes bruns, les AGCC stimuleraient l'oxydation des acides gras et la dépense énergétique (via PGC-1 α , UCP1), tandis que le tissu adipeux blanc va jouer un rôle tampon en favorisant le stockage ectopique des lipides (via LPL, HSL, PPAR γ). Le rôle du tissu adipeux blanc comme « tampon » permettant de protéger ou non les autres tissus d'un afflux trop important de lipides reste néanmoins un point à investiguer, en particulier du fait des résultats contradictoires obtenus dans la littérature sur les animaux GRP43^{-/-}. Plus généralement, le rôle global de GPR43 dans la régulation du stockage des lipides dans le tissu adipeux blanc mériterait une investigation plus approfondie.

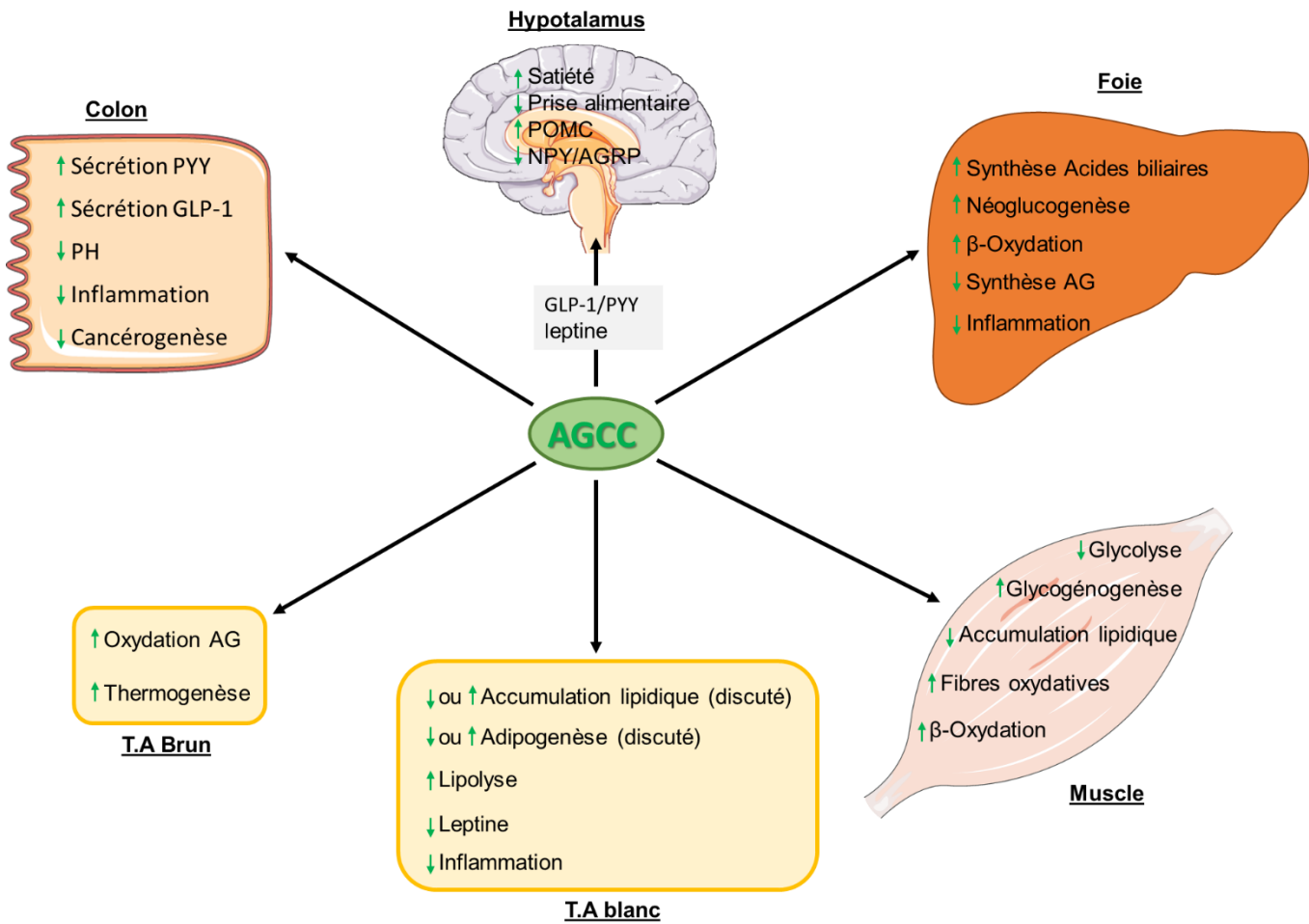


Figure 37 : Résumé des principaux effets métaboliques des AGCCs (acétate, propionate et butyrate) sur le côlon et les tissus périphériques (foie, muscle squelettique, tissu adipeux et cerveau). AG, acides gras ; TA, tissu adipeux, POMC, pro-opiomélanocortine, NPY, Neuropeptide Y, AGRP, protéine agouti

IV. 7. AGCC et régulation intégrée du métabolisme

Les AGCC se caractérisent donc par leur capacité à agir sur les métabolismes tissulaires via de nombreux mécanismes : tout d'abord en tant que nutriment énergétique, mais aussi en tant que signal (via des récepteurs ou sur les HDACs régulant l'acétylation de l'ADN). Ils se caractérisent également par des effets différents selon la cible tissulaire (côlon, foie, muscle, tissus adipeux, cerveau...). L'ensemble des effets tissulaires des AGCC sont résumés sur la **Figure 37**.

Objectifs de l'étude et stratégie expérimentale

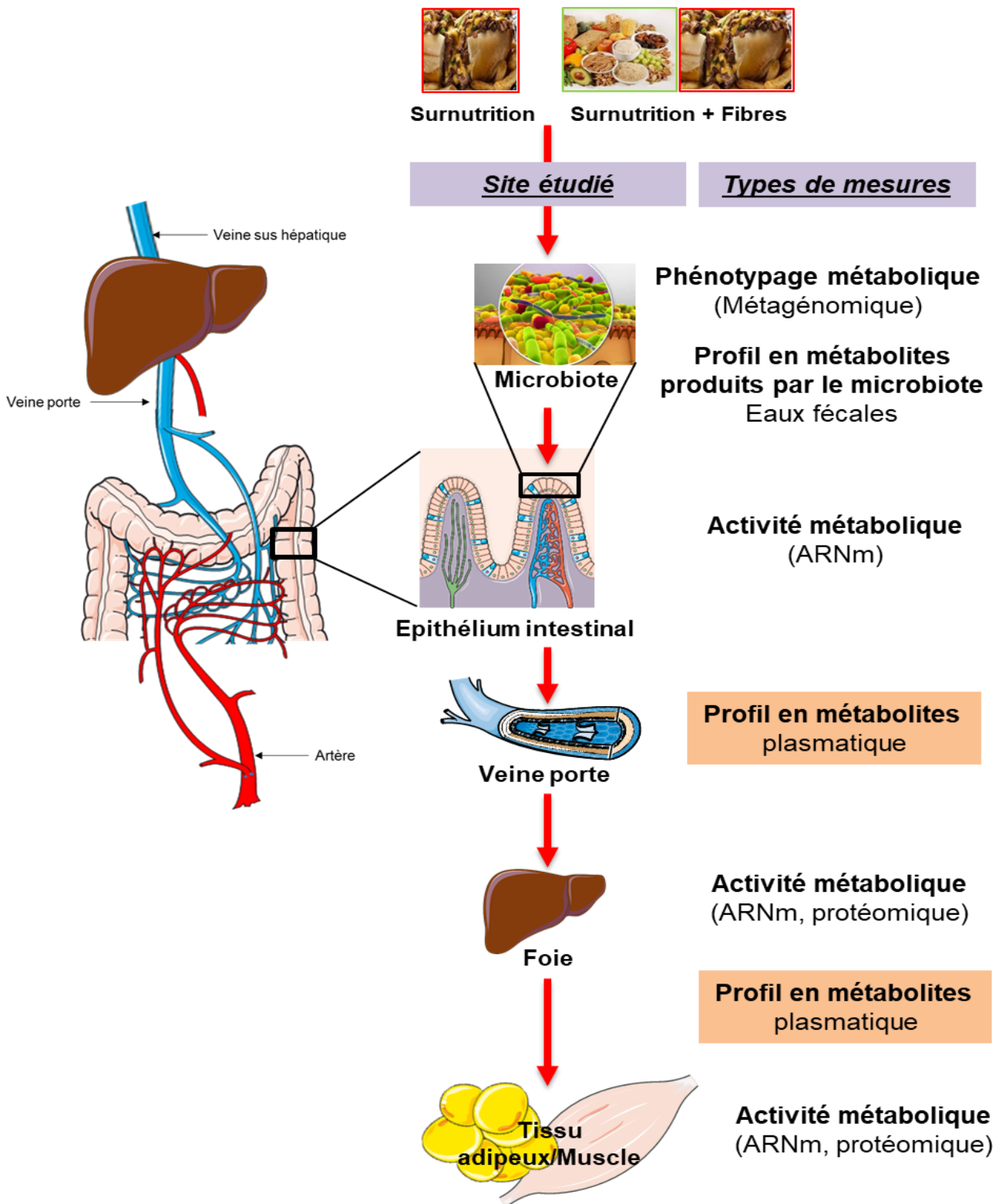


Figure 38 : La démarche expérimentale permettant de suivre l'impact de la supplémentation en fibres alimentaires depuis l'intestin jusqu'aux tissus périphériques

I. Contexte général appliqué à la question de recherche abordée

Alors que l'obésité progresse dans de nombreux pays industrialisés dont la France, les politiques de santé préconisent une augmentation de l'ingestion d'aliments riches en fibres comme un des moyens de limiter son occurrence et celle des pathologies associées. Parmi les stratégies capables de favoriser l'ingestion de fibres alimentaires, l'optimisation et mise à disposition d'aliments enrichis en fibres est une des options possibles. Il convient, dans ce cas, de réaliser des produits dans lesquels les fibres sont choisies comme étant potentiellement efficaces pour améliorer la santé, sans pour autant avoir d'effet délétère, et de vérifier qu'à des quantités ingérées raisonnables, cet effet est avéré. Concernant le choix de la nature des fibres potentiellement efficaces, il semblerait que les fibres fermentescibles, notamment via les métabolites générés lors de leur dégradation par le microbiote colique, soient capables de favoriser l'insulino-sensibilité et par là même de limiter l'occurrence de nombreuses pathologies nutri-induites (**partie bibliographique**).

Or, si l'ingestion quotidienne de fibres au sens large ou de certaines catégories de fibres en particulier est corrélée positivement avec un poids corporel plus faible, une insulino-sensibilité accrue et moins de diabète, l'impact d'une supplémentation en fibres dans le cadre d'un régime par ailleurs obésogène reste mal connu. *Ainsi, l'objectif de mon travail de thèse a été de déterminer si, en situation de surnutrition chronique (2 mois), une supplémentation en un mélange de fibres fermentescibles spécifiques (incluses dans un aliment de consommation courante) était capable de limiter l'apparition des désordres métaboliques associés au développement de l'obésité.*

II. Originalité du travail de recherche et de l'approche utilisée

Pour déterminer l'impact des fibres alimentaires fermentescibles sur les métabolismes énergétique-protéiques et leur régulation, outre des mesures globales (évolution du poids des animaux, paramètres plasmatiques périphériques classiques (insuline, glucose, HOMA)), nous avons trouvé pertinent de décortiquer l'effet des fibres depuis leur dégradation dans le côlon en AGCC et autres molécules, jusqu'à l'impact/l'utilisation de ces molécules/métabolites au niveau intestinal, hépatique et périphérique. En effet, les métabolites (dont les AGCC) produits dans le côlon à partir des fibres fermentescibles sont utilisés dans l'épithélium intestinal (cas du butyrate) et le foie (cas du propionate pour la néoglucogénèse) et sont peu présents dans le sang artériel.

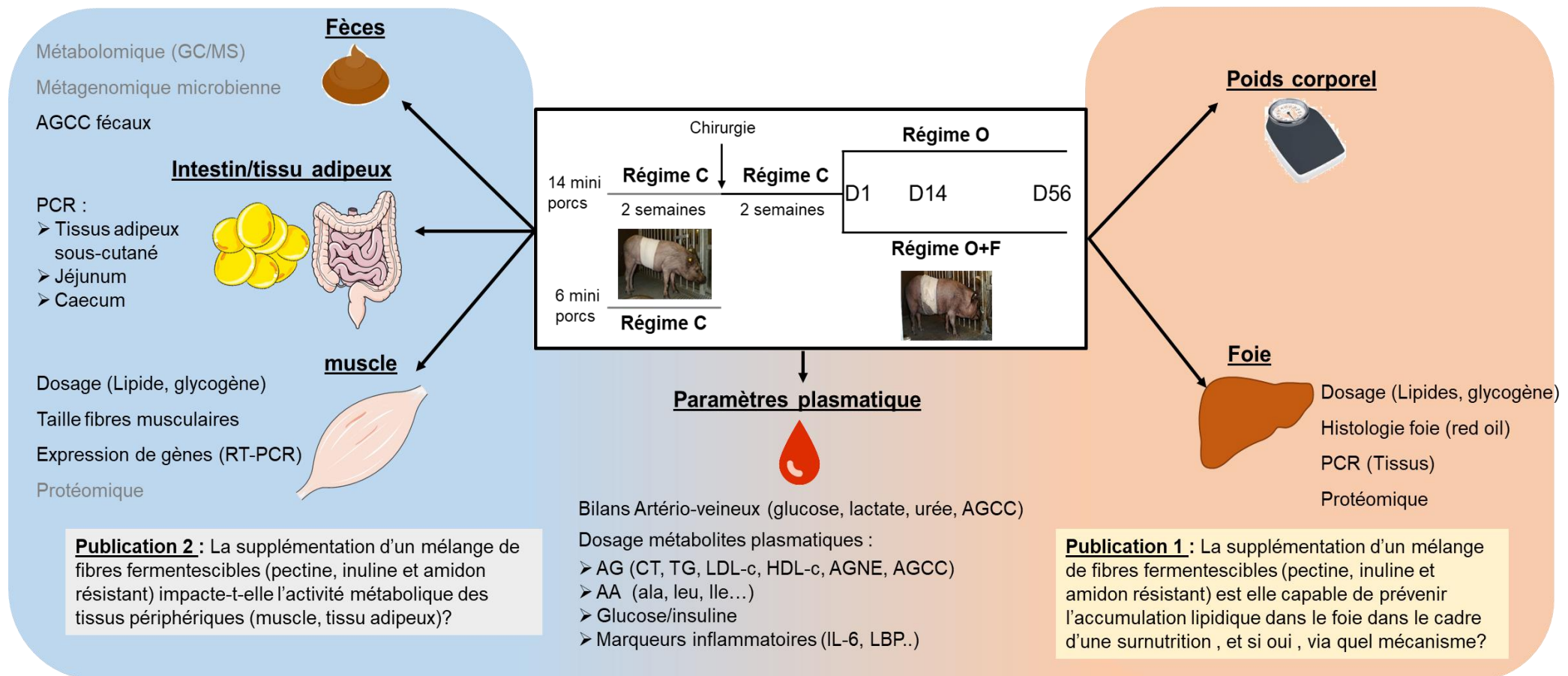


Figure 39 : Schéma récapitulatif des analyses réalisées ou qui seront réalisées, ainsi que leur stratégie de valorisation. AA, acides aminés ; AGNE, acides gras non estérifiés ; AGCC, Acides gras à chaîne courte ; AG, acides gras ; Ala, alanine ; C, régime témoin ; CT, cholestérol total ; HDL-c, HDL cholestérol ; Ile, isoleucine ; IL-6, interleukine 6 ; LBP, lipopolysaccharide binding protéine ; LDL-c, LDL cholestérol ; leu, leucine ; O, régime en surnutrition ; O+F, régime en surnutrition supplémenté en fibres alimentaires ; TG, triglycérides

L'originalité du travail consiste donc à utiliser une approche intégrée visant à suivre les métabolites issus de la digestion des aliments expérimentaux (en incluant les AGCC produits dans le côlon à partir des fibres), à quantifier l'apparition des métabolites en veine porte, leur utilisation par le foie, et leur biodisponibilité pour les tissus périphériques. Ainsi l'effet des fibres alimentaires utilisées dans l'étude est analysé au niveau de l'organisme entier, au niveau des tissus mais aussi niveau des échanges de nutriments et signaux entre ces tissus.

Pour aborder cette question à tous ces niveaux physiologiques et métaboliques, nous avons utilisé le modèle de mini-porc multicathétérisé en surnutrition, mis au point récemment dans l'équipe (9,10,441). Il a été choisi car il permet de mesurer en temps réel et de manière répétée dans le temps (cinétiques post prandiales et adaptations aux régimes), l'impact d'une stratégie nutritionnelle sur les flux nets de nutriments et métabolites dans des tissus comme l'intestin ou le foie à la fois à l'état à jeun et nourri. Ces mesures de flux de nutriments sont complémentaires d'analyses de capacités d'utilisation métabolique des nutriments par les tissus. Celles-ci sont réalisées sur les tissus collectés après sacrifice des animaux et ont pour objectif de conforter des hypothèses sur l'utilisation des nutriments dans les divers tissus et organes et les voies métaboliques potentiellement impliquées et régulées (**Figure 38**). Enfin, la composition du microbiote et son activité métabolique ont été également prévues par métagénomique sur prélèvement de fécès (Collaboration avec Métagénopolis, J Doré) et analyse des métabolites présents dans les eaux fécales (Plateforme d'Exploration du Métabolisme, UNH, E Pujos Guillot et Unité MEDIS INRA, A Bernalier-Donadille) (**Figure 39**)

Cette approche permet, chez des animaux nourris avec un régime obésogène supplémenté ou non en fibres :

1/ d'apporter des données quantitatives de l'évolution relative des flux de nutriments au niveau de l'intestin et du foie et donc de ce qui sera biodisponible pour les tissus périphériques sur les deux mois d'adaptation aux régimes expérimentaux

2/ d'émettre des hypothèses explicatives concernant les variations de flux mesurées dans l'intestin, le foie et les tissus périphériques (muscle et tissu adipeux) via des techniques de biologie moléculaire et protéomique.

III. Stratégie expérimentale

III. 1. Choix des fibres et réalisation du pain expérimental

Préalablement à l'étude *in vivo* de l'impact d'une supplémentation en un aliment riche en fibres fermentescibles sur la santé, il était nécessaire de réaliser un aliment expérimental enrichi en fibres alimentaires. Ce travail a été réalisé au printemps-été 2015, c'est-à-dire juste avant mon arrivée dans l'équipe en Décembre 2015.

Le choix du pain a été motivé par le fait que le pain est, comme précisé dans la partie bibliographique, un des aliments vecteurs naturels de fibres (sauf si réalisé avec des farines très raffinées) et qui reste consommé en quantité importante (autour de 60 kg par an et par personne, soit un peu plus de 150 g par jour) par une fraction large de la population.

Concernant le choix des fibres, les collaborateurs du projet regroupaient les compétences complémentaires nécessaires au choix des fibres utilisées puis à la réalisation du pain expérimental (et les contraintes techniques associées à sa fabrication).

-G Della Valle, H Chiron, S Arufe et L Saulnier : Unité Biopolymères Interactions et Assemblages (BIA), Nantes : Spécialistes de la caractérisation de l'ensemble des phénomènes physicochimiques intervenant dans la panification et en parallèle des contraintes technologiques associées à la fabrication du pain.

- J Doré : Metagénopolis (Jouy en Josas) : spécialiste du microbiote et notamment de l'impact de la nutrition sur la diversité et la composition du microbiote intestinal.

- I Savary-Auzeloux, S Polakof et D Rémond : Unité de Nutrition Humaine (Clermont Ferrand)

- Société Cargill® : fournisseur d'ingrédients pour l'industrie de l'agroalimentaire, et notamment des fibres alimentaires

III. 1. 1. Choix des fibres

Les critères majeurs retenus pour le choix des fibres étaient les suivants :

- Utilisation **de fibres fermentescibles**. L'utilisation des fibres fermentescibles avait pour objectif d'orienter la composition du microbiote vers une plus grande diversité et un profil bactérien associé à un état plus insulino-sensible (442). Les fibres fermentescibles génèrent également des acides gras à chaîne courte et métabolites capables d'impacter favorablement sur le métabolisme énergétique et la sensibilité à l'insuline (cf. revue bibliographique).

-L'utilisation d'un mélange de fibres ou d'une fibre seule s'est basée sur l'hypothèse qu'un mélange de fibres était plus à même de stimuler le métabolisme d'un nombre plus

important de phyla bactérien, de générer une plus grande variété de métabolites utilisables par l'ensemble de l'écosystème microbien et *in fine* de favoriser ainsi la diversité et l'activité de l'ensemble de cet écosystème.

La stratégie préalable étant fixée, nous avons sélectionné dans le portfolio proposé par Cargill, impliqué dans le projet, des fibres les plus susceptibles de répondre à notre cahier des charges.

Cette première étape a conduit à sélectionner trois types de fibres : l'inuline à courte chaîne (Oliggo-Fiber inulin instant, extraite de racine de chicorée, $DP \leq 10$), la pectine (Unipectin A100 (high methoxyl pectin) obtenue à partir de citron), un amidon résistant (Actistar 11700 : maltodextrines obtenues à partir du tapioca après traitement enzymatique ; Les fractions résistantes sont des cristaux d'amylose rétrogradées : 50% de l'amidon de l'Actistar est résistant).

III. 1. 2. Optimisation du pain enrichi en fibres fermentescibles

Le choix des fibres réalisé, il était ensuite nécessaire de déterminer d'une part les **proportions de chaque type de fibres** utilisées dans le mélange **et de déterminer la quantité maximale de fibres incorporables dans le pain** pour que celui-ci présente des caractéristiques rhéologiques et gustatives acceptables pour le consommateur. L'objectif était d'incorporer une quantité suffisamment importante de fibres dans le pain pour espérer observer un effet santé significatif avec l'ingestion d'une quantité de pain raisonnable en pratique.

L'intégration de fibres alimentaires fermentescibles en quantités significatives dans un pain nécessite des optimisations techniques. En effet, comme précisé dans la partie bibliographique, les pectines, inulines et amidons résistants présentent des caractéristiques physicochimiques spécifiques (capacités d'hydratation (viscosité), solubilité) dont nous avons vu qu'elles avaient un impact sur la composition physicochimique du bol alimentaire et de sa digestion. Ces caractéristiques ont évidemment également un impact sur les caractéristiques mécaniques et rhéologiques de la pâte à pain (élasticité, collant), sur la fermentation par les levures, le gonflement du pain et enfin sur le comportement de la matrice obtenue au cours de la cuisson.

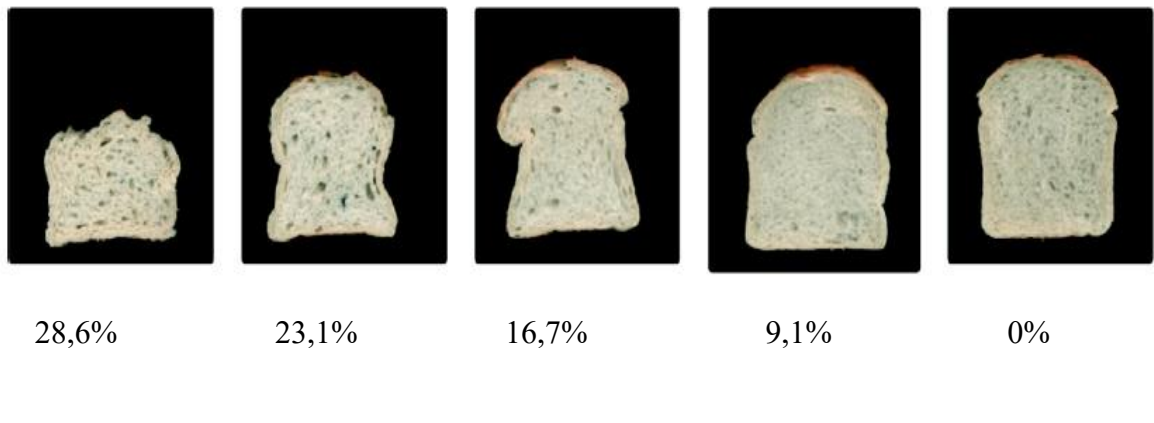


Figure 40 : Images de tranches de pains obtenues suite à la substitution de la farine par un mélange de fibres fermentescibles (amidon résistant (60%), pectine (20%) et inuline (20%)) en quantités variant de 0% (pain témoin) à 28,6% de substitution

L'optimisation de pains expérimentaux enrichis en un mélange de fibres telles que choisies dans le projet (solubles pour certaines, fermentescibles pour toutes) n'avait jamais été réalisée, elle a donc fait l'objet d'une publication (443) dans laquelle 13 types de formulation ont été testées. Les ratios entre chacune des trois fibres ainsi que la quantité totale de fibres substituées dans la farine étaient modulés et les conséquences sur de nombreuses caractéristiques physicochimiques de la pâte et du pain mesurées.

La conclusion générale de ce travail est que la substitution de 23% de la farine par un mélange d'amidon résistant, pectine et inuline en proportion (60 :20 :20) permettait d'obtenir un pain de densité globalement similaire à celle d'un pain témoin sans fibres ajoutées (Figure 40). Les caractéristiques gustatives étaient à priori également acceptables pour le consommateur même si aucune étude n'a été réalisée par un jury de dégustation (mais l'ensemble des collaborateurs du projet a goûté le pain...).

Cette étape préalable consistant en la mise au point du pain expérimental (contenant 23% de fibres dans la matière sèche) étant réalisée, il a ensuite été possible de passer à la seconde étape du projet qui consistait en l'étude nutritionnelle expérimentale *in vivo* chez le mini-porc. Pour cela, plus de 150 kg de pain enrichi en fibres et 200 kg de pain témoin ont été fabriqués par l'Unité BIA de Nantes. Le pain ainsi réalisé a été congelé immédiatement et transporté sous cette forme à Clermont Ferrand où les portions nécessaires à l'étude étaient décongelées chaque jour. Une quantité plus importante de pain témoin a été fabriquée pour tenir compte de la période d'habituation des animaux au pain (aliment inconnu pour les mini-porcs) avant le début de l'étude.

III. 2. Réalisation de l'étude animale : régimes utilisés

Période d'adaptation : L'ensemble des animaux recevaient, en début d'expérimentation, un même régime de base correspondant à 500 grammes par jour d'aliment pour porc Porcyprima (Sanders) contenant 17% de protéines, 3,3% matières grasses, 5,5% cellulose, 5% de cendres (régime témoin, T), le reste étant essentiellement de l'amidon. Cet apport alimentaire correspond au besoin d'entretien des animaux qui se maintiennent donc à un poids constant au cours de cette période. Du pain témoin leur était donné en petites quantités afin de les habituer à ce nouvel aliment. A la fin de cette période d'adaptation, des cathéters en aorte (artère), veine porte, veine sus hépatique, veine splénique et mésentérique (vaisseaux utilisés pour perfusion) ont été chirurgicalement implantés. Les animaux ont ensuite eu une période de 2 semaines de récupération post opératoire minimum avant l'entrée en expérimentation (**Figure 39**).

Période expérimentale :

Il s'agit d'une période de surnutrition au cours de laquelle une quantité de 800 g/j d'aliment est offerte par jour (+32% w/w par rapport à ce qu'ils avaient auparavant) aux mini-porcs. L'aliment était composé de l'aliment porc Porcyprima précédemment utilisé dans le régime T mixé avec 10% (poids/poids) d'huile de palme et 10% (poids/poids) de saccharose. A ces 800 g d'aliment étaient ajoutés soit 250 g de pain témoin (régime obésogène, O), soit 250 g de pain supplémenté en fibres fermentescibles (régime obésogène + fibres, O+F). Les animaux ingéraient donc la cellulose présente dans les 800g d'aliment obésogène (environ 40 g de cellulose) + les fibres présentes dans le pain, et notamment les fibres fermentescibles présentes dans le pain supplémenté pour les animaux O+F.

La durée d'absorption du régime expérimental était de 56 jours (2 mois) avec des points de mesure de métabolites sanguins à jeun (jeûne d'une nuit) et à l'état nourri (de 30 minutes à 8h30 après l'ingestion d'un repas).

- Dès le 1^{er} jour d'adaptation aux régimes O ou O+F (D1)
- 14 jours après le début de l'adaptation aux régimes O ou O+F (D14)
- 56 jours après le début de l'adaptation aux régimes O ou O+F (D56)

Avant D60, les animaux O et O+F ont été euthanasiés à jeun. Pour avoir une idée du phénotype et de l'activité métabolique potentielle d'un animal à l'entretien, 6 animaux (« minces ») nourris avec le régime témoin T ont également été euthanasiés à jeun, ce qui correspond à l'état métabolique des animaux O et O+F à jeun à D1. L'ensemble du dispositif expérimental est présenté en **Figure 39**.

Quantités de fibres ingérées :

Après analyse de la littérature, il a été décidé d'apporter une supplémentation en fibres fermentescibles de l'ordre de 20-30 grammes par jour afin de pouvoir visualiser un effet santé bénéfique significatif. Si on se base sur un apport en pain de 250 grammes en 2 repas par jour (125g par repas, 23% du mélange de fibres substituées à la farine, avec une proportion d'amidon résistant dans l'actistar de 50%), nous obtenons une supplémentation en fibres de l'ordre de 25 grammes par jour (matière sèche des pains : 58% pour le pain témoin et 62% dans le pain fibres) avec le pain supplémenté en fibres. La quantité de 250 grammes par jours de pain était bien acceptée par nos mini-porcs alimentés en 2 repas (un repas le matin à 8h et un autre à 16h). Cette quantité peut également être considérée comme raisonnable dans le cadre d'une éventuelle recommandation chez l'homme.

Ainsi, il est à noter que l'apport de pain supplémenté en fibres correspond donc à 37% de l'apport total de fibres dans l'alimentation. Néanmoins, il est également à noter que dans notre étude, en termes d'apport en fibres totales, nous sommes au-dessus des ingérés moyens dans la population française (environ 20g), ce qui sera un des éléments discutés à la fin du document.

III. 3. Organisation des résultats obtenus.

Les effets santé positifs observés dans le cas de cette étude chez le mini-porc ont été mis en évidence sur le foie avec une plus faible accumulation de gouttelettes lipidiques chez les animaux O+F relativement aux animaux O. Des effets spécifiques du régime O+F ont également été observés sur le muscle avec des tailles de fibres musculaires globalement plus petites chez les animaux O+F relativement à O, suggérant un impact des fibres fermentescibles sur le métabolisme énergétique dans les tissus, notamment les tissus périphériques. Deux publications ont donc été articulées autour de ces deux résultats majeurs.

La publication n°1 est donc focalisée sur le foie, avec une étude plus approfondie des voies métaboliques potentiellement impliquées dans la moindre accumulation de lipides dans le foie chez les animaux O+F. Bien que nous ayons mesuré les flux de nombreux métabolites en entrée et sortie de foie, il n'est pas possible d'avoir une vision appropriée et globale des échanges de lipides entre tissus par ces approches. En effet, une majorité des lipides est transportée par les lipoprotéines et/ou les chylomicrons et non sous forme de molécules libres. De plus l'absorption intestinale post prandiale des lipides se fait essentiellement non pas par la veine porte mais par la lymphe qui véhicule les chylomicrons nouvellement synthétisés directement en veine cave. Nous avons donc fait le choix d'utiliser d'autres méthodes pour comprendre et expliquer les mécanismes métaboliques explicatifs de cette altération du métabolisme lipidique hépatique chez nos animaux O+F : la biologie moléculaire (RT-qPCR quantitative) et la protéomique, qui ne mesurent pas l'activité réelle d'une voie métabolique mais l'activité potentielle de certaines protéines (ou leurs gènes) clés impliquées dans les voies métaboliques majeures ou leur régulation.

La publication n°2 s'est focalisée sur les tissus périphériques et notamment le muscle qui présente un phénotype chez les animaux O+F, en termes de taille des fibres musculaires, similaire à un animal « mince » (T) alors que la taille des fibres musculaires moyenne est augmentée chez les animaux obèses (O). La réponse du métabolisme musculaire (et adipeux) à la supplémentation en fibres est analysée à la fois au niveau des tissus eux-mêmes (par RT-qPCR quantitative) mais aussi en relation avec les tissus de l'aire splanchnique et la biodisponibilité en nutriments dépendante de l'activité métabolique de l'aire splanchnique. Le rôle régulateur des acides gras à chaîne courte au niveau périphérique est discuté tout particulièrement.

Présentation des travaux

Publication N°1

A mix of dietary fermentable fibers improves lipids handling by the liver of overfed minipigs

*Ahmed Ben MOHAMED, Didier RÉMOND, Christophe CHAMBON, Thierry SAYD,
Michel HEBRAUD, Frédéric CAPEL, Benoit COHADE, Noureddine HAFNAOUI,
Daniel BÉCHET, Cécile COUDY-GANDILHON, Carole MIGNÉ, Jérémie DAVID,
Dominique DARDEVET, Joel DORÉ, Sergio POLAKOF, Isabelle SAVARY-AUZELOUX*

*(Publié dans **Journal of Nutritional Biochemistry**, 2019 ; 65, 72-82)*

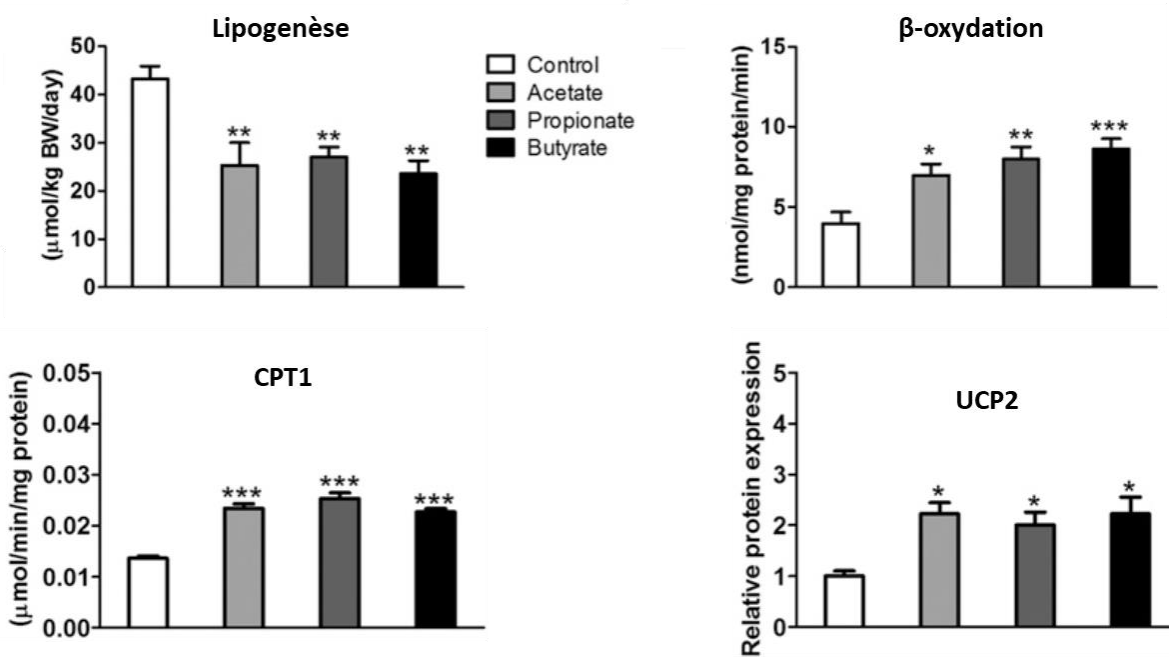


Figure 41 : Impact des AGCC sur la lipogenèse et la β -oxydation hépatique. CPT1, Carnitine palmitoyltransferase I ; UCP2, Protéine de découplage 2 (406)

Introduction :

Plusieurs études de cohortes et revues de la littérature ont mis en évidence le rôle bénéfique des fibres alimentaires et notamment des fibres fermentescibles sur les régulations métaboliques et la santé humaine et animale en limitant la prise de poids, les maladies cardiovasculaires, risque de diabète. Certains de ces effets pourraient être provoqués par diverses molécules comme les acides gras à chaîne courte (AGCC (propionate, butyrate, butyrate...)) libérées lors de la fermentation des fibres (inuline, pectine et AR pour ce qui est des molécules nous concernant) par le microbiote intestinal. Il a été suggéré dans la littérature que les fibres alimentaires, via les AGCC, pouvaient également moduler les voies métaboliques impliquées dans la synthèse et l'oxydation des lipides dans le foie. Notamment, Den Besten et coll. (2015) ont récemment montré très clairement que les AGCC (acétate, propionate et butyrate) étaient capables de réguler certaines voies métaboliques hépatiques en stimulant notamment l'oxydation des lipides et inhibant la lipogenèse à partir de l'acétate chez la souris (408) (**Figure 41**). La régulation de ces voies métaboliques par les fibres alimentaires passerait par une activation des facteurs de transcription que sont PGC-1 α , PPAR α ou SREBP1-c, permettant ainsi de limiter l'infiltration lipidique causée par les régimes hypercaloriques (408). Cependant, les régulations métaboliques mises en jeu par les fibres alimentaires fermentescibles ont généralement été étudiées en utilisant des suppléments d'AGCC per os et à des doses fortes. En effet, dans le cas de Den Besten et coll., 2015, les suppléments en acétate, propionate et butyrate sont réalisés à des doses de 5% w/w sur un régime de base constitué de graisse à 45% de l'énergie ingérée. Ainsi, les doses d'AGCC appliquées sont très significatives, et les AGCC sont absorbés dans l'intestin grêle et non pas dans le côlon comme lors d'une supplémentation en fibres (où le lieu de synthèse majeur des AGCC est le côlon).

Par conséquent, l'objet de mon étude a été de déterminer si une supplémentation potentiellement applicable en pratique chez l'Homme (25 g/j) en fibres fermentescibles pourrait prévenir l'accumulation lipidique dans le foie dans le cadre d'une suralimentation et si oui, si les mécanismes sont similaires de ceux mis en évidence par den Besten et coll. (2015).

Matériel et méthodes :

L'étude a été réalisée sur des mini-porcs Yucatan, un modèle animal plus proche de l'homme que les rongeurs concernant sa taille, sa physiologie digestive et sa composition microbienne. Une vingtaine de mini-porcs femelles ont été nourries avec un régime témoin (C, n=6) ou un régime enrichi en lipides/sucrose et supplémenté (O + F, n=7) ou non (O, n=7) en

un mélange de fibres (pectine, inuline, amidon résistant). Le mélange de fibres, réalisée dans un pain, était constitué de 20% d'inuline, 20% de pectine et 60% d'amidon résistant. Des prélèvements sanguins artériels, ont été réalisés à jeun avant (D1) et après 14 (D14) et 56 (D56) jours d'adaptation aux régimes O ou O+F, ainsi que le prélèvement d'une section de foie à l'euthanasie (D56). Des analyses de métabolites et paramètres plasmatiques ainsi qu'au niveau hépatique (RT-PCR, protéomique, et histologique (red oil)) ont été réalisées.

Résultats majeurs /discussion :

Suite à 2 mois des régimes expérimentaux, nous avons montré que la supplémentation en fibres limitait la prise de poids corporel (-8%, $p < 0,05$ O vs O+F) et l'accumulation de gouttelettes lipidiques dans le foie (-34%, $p < 0,001$). Le régime O, à lui seul, a été responsable d'une augmentation du poids corporel (+41% D1 vs D56 pour le régime O, $P < 0,05$) et de l'accumulation des gouttelettes lipidiques dans le foie. La moindre accumulation de gouttelettes lipidiques dans le foie des animaux supplémentés en fibres pourrait s'expliquer par une réduction de l'entrée des acides gras dans le foie via une diminution de leur protéine de transport (ARNm FABP1, -50% O+F vs O, $p < 0,05$). Cette moindre entrée des acides gras dans le milieu intracellulaire pourrait être responsable du défaut de stimulation de PPAR alpha (-58% O+F vs O, $p < 0,05$) et de la baisse de l'expression d'un des facteurs régulant la lipogenèse (ARNm SREBP1c -36% O+F vs O, $p = 0,07$) constatés chez les animaux O+F. Cet effet des fibres alimentaires sur la diminution de la lipogenèse sont très cohérents avec les résultats précédemment décrits notamment par den Besten et coll. (2015) (**Figure 41**). Par contre, et contrairement à ce qui a été observé par den Besten et coll. (2015), aucune stimulation de la β -oxydation n'a été observée suite à la supplémentation en fibres (c'est-à-dire pas de différence entre O et O+F), comme montré à la fois par l'analyse de l'expression des gènes et par l'analyse protéomique de nombreuses protéines impliquées dans la β -oxydation ou la chaîne respiratoire mitochondriale. Autrement dit, dans le cas de notre étude, au niveau hépatique, la baisse du stockage des lipides n'est pas liée à une utilisation accrue des lipides à des fins cataboliques. La conséquence est que les lipides et les nutriments énergétiques apportés par l'alimentation avec le régime O et surtout O+F restent disponibles en quantités importantes pour les autres tissus de l'organisme utilisateurs d'énergie : muscle, tissu adipeux et dans une moindre mesure intestinale.

Concernant le métabolisme du glucose, la supplémentation en fibres alimentaires s'est traduite également par une émission hépatique de glucose à jeun plus élevée ($p = 0,01$) à D56 chez O+F vs O, qui pourrait être expliquée par une augmentation possible de la synthèse de

glycogène à l'état nourri (protéine GYS2 impliquée dans la glycogénogenèse : +82%, $P < 0,09$, O+F vs O, tendance mais la mesure a été réalisée sur des foies d'animaux euthanasiés à jeun). Si la glycogénogenèse est accrue à l'état nourri, une glycogénolyse accrue à jeun est possible. Une autre voie de synthèse du glucose dans le foie pourrait être la néoglucogenèse. Cependant, aucun élément à notre disposition (utilisation hépatique des AGCC, du lactate, de l'alanine), ne nous permet de conclure à une stimulation de la néoglucogenèse hépatique (voir aussi publication 2) lors de la supplémentation en fibres.

Conclusions / perspectives :

Notre étude montre donc qu'une supplémentation en fibres alimentaires fermentescibles de 25g par jour, en situation de surnutrition, permet de limiter la prise de poids corporelle et l'accumulation de gouttelettes lipidiques dans le foie des mini-porcs femelles adultes. Le foie se trouve ainsi en situation métabolique favorable puisque le stockage de lipides et la lipogenèse sont limités. Une accumulation lipidique qui aurait pu à terme, se traduire par le développement d'une stéatose hépatique. Cependant, cette diminution de stockage des lipides et de lipogenèse hépatique est associée avec une absence d'effet sur la β -oxydation. Ainsi, les nutriments énergétiques (acétate non utilisé pour la lipogenèse et lipides alimentaires non stockés / catabolisés dans le foie) se retrouvent nécessairement disponibles en quantité accrue pour les autres tissus et organes. Or, nous n'avons pas noté de différences notables de concentrations en de nombreux nutriments énergétiques (AGCC, glucose, AG libres, ...) au niveau artériel. Ceci suppose donc que d'autres tissus et organes (et en particulier le muscle et le tissu adipeux) devraient jouer un rôle important dans l'utilisation de ces nutriments (voir publication n°2).

A mix of dietary fermentable fibers improves lipids handling by the liver of overfed minipigs

Ahmed Ben MOHAMED¹, Didier RÉMOND¹, Christophe CHAMBON^{2,3}, Thierry SAYD^{2,3}, Michel HEBRAUD^{3,4}, Frédéric CAPEL¹, Benoit COHADE¹, Nouredine HAFNAOUI¹, Daniel BÉCHET¹, Cécile COUDY-GANDILHON¹, Carole MIGNÉ^{1,3}, Jérémie DAVID¹, Dominique DARDEVET¹, Joel DORÉ⁵, Sergio POLAKOF¹, Isabelle SAVARY-AUZELOUX¹

¹Université Clermont Auvergne, INRA, UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

²INRA, UR370 Qualité des Produits Animaux, F-63122 Saint Genès Champanelle, France.

³Université Clermont Auvergne, INRA, Plateforme d'Exploration du Métabolisme, Clermont, F-63000 Clermont-Ferrand, France

⁴Université Clermont Auvergne, INRA, UMR 454 MEDiS, F-63122 Saint-Genès Champanelle, France.

⁵INRA, UMR 1319 Microbiologie de l'Alimentation au Service de la Santé Humaine, F-78352 Jouy-en-Josas, France.

(Journal of Nutritional Biochemistry 2019 ; 65, 72-82)

Abstract:

Obesity induced by overfeeding ultimately can lead to non-alcoholic fatty liver disease whereas dietary fiber consumption is known to have a beneficial effect. We aimed to determine if a supplementation of a mix of fibers (inulin, resistant starch and pectin) could limit or alleviate overfeeding-induced metabolic perturbations. Twenty female mini-pigs were fed with a control diet (C) or an enriched fat/sucrose diet supplemented (O+F) or not (O) with fibers. Between 0 and 56 days of overfeeding, insulin (+88%), HOMA (+102%), cholesterol (+45%) and lactate (+63%) were increased, without any beneficial effect of fibers supplementation. However, fibers supplementation limited body weight gain (vs O, -15% at D56) and the accumulation of hepatic lipids droplets induced by overfeeding. This could be explained by a decreased lipids transport potential (-50% FABP1 mRNA, O+F vs O) inducing a down regulation of regulatory elements of lipids metabolism / lipogenesis (-36% SREBP1c mRNA, O+F vs O) but not to an increased oxidation (O+F not different from O and C for proteins and mRNA measured). Glucose metabolism was also differentially regulated by fibers supplementation with an increased net hepatic release of glucose in the fasted state (diet x time effect, $P < 0.05$ at D56) that can be explained partially by a possible increased glycogen synthesis in the fed state (+82% GYS2 protein, O+F vs O, $P = 0.09$). The direct role of short chain fatty acids on gluconeogenesis stimulation is questioned, with probably a short-term impact (D14) but no effect on a long term (D56) basis.

Introduction:

To nutritionally prevent the occurrence of overweight, obesity and associated complications (diabète, cardiovascular diseases, colorectal cancer ...) [1], public health policies promote the consumption of dietary fibers (edible parts of plant or analogous carbohydrates that are resistant to digestion in the human small intestine with a complete or partial fermentation in the large intestine) [2-7]. Several cohort studies and literature reviews have highlighted the beneficial role of dietary fibers, and particularly soluble fibers [8] on health status in humans and animal models [9] by limiting weight gain [10], the occurrence of coronary heart and cardiovascular diseases [11, 12], diabète risk [13] or preventing constipation [14]. More precisely, soluble fibers such as inulin and pectins, but also resistant starch have been shown to prevent hypercholesterolemia [15, 16], limit oxidative stress and inflammation [17, 18], decrease fat weight [19, 20], limit appetite, accelerate digestive transit (increase bowel movement) [21] and increase insulin sensitivity [20, 22, 23]. Some of these effects could be

mediated by various molecules released by the gut microbiota upon fermentation of the mixture of inulin, pectin and resistant starch: the short chain fatty acids (SCFA) (e.g. propionate, butyrate, butyrate ...) [24].

Many tissues and organs present an altered metabolic activity in a situation of overfeeding and obesity. The liver is one of the tissues targeted by overfeeding leading to the development of nonalcoholic fatty liver disease [25]. Nevertheless, in the early steps of pathology development, lipid infiltration in hepatocytes can be reversible (at least in the early steps of pathology development), and the liver is still responsive to nutritional interventions, such as dietary fibers and SCFA supply [26-28]. To date, the metabolic response of the liver to high fat feeding, extensively described in rodents, comes with alterations of a wide range of metabolic activities such as increased fatty acid synthesis and down regulation of lipid oxidation capacities, alteration of amino acids catabolism and upregulation of apoptosis [29-32]. Some of these intertwined metabolic pathways and key regulatory enzymes leading to lipids accumulation in the liver are under the regulation of the transcription factors PPAR alpha (PPAR α) and SREBP1-c which are both known to be targeted by obesity [33-35]. Studies suggested that dietary fiber/SCFA supplementations may act through these regulatory components as well [36, 37], to modulate the metabolic pathways cited above.

Taken together, dietary fibers could be efficient to counteract hepatic lipid infiltration. Although highly informative on how fibers work at the liver level, many studies were designed in rodents (presenting digestive physiology and microbiota relatively different from humans) [38, 39] and using control diets sometimes fiber free [16, 37]. Many detailed metabolic regulations have also been explored using orally supplemented single or mixed short chain fatty acids instead of dietary fibers [40, 41], hence with doses and sites of absorption different from what happens when fibers are fermented in the hindgut.

Consequently, the aim of the present study is double:

1/ Study the impact of overfeeding on hepatic metabolism and lipids accumulation in Yucatan minipig, an animal model closer to humans than rodents in size, digestive physiology, metabolism and microbiota composition and for which hepatic proteome profile (giving an overview of a wide range of proteins potentially involved in metabolic adaptation to overfeeding in the liver) has been rarely investigated in such nutritional situation [42].

2/ Determine if a reasonable supplementation of soluble fibers (25 grams included in a 250 g portion of a specially designed bread) could prevent/modulate the hepatic lipids accumulation during overfeeding. The mixed fibers (pectin, inulin and resistant starch mixture)

were administered using a bread specifically designed for this study [43].

Materials and Methods:

Animals and experimental procedure

The study involved 20 female adult (one year) Yucatan minipigs with an average bodyweight of 34.8 ± 1.5 kg at the beginning of the experiment.

The animals were housed individually in pens (1x1.5 m) in a ventilated room with controlled temperature (21°C) and regular light cycle (L12:D12). At the beginning of the experiment, the 20 animals were fed with 500 g/day of a standard diet (control diet (C)) containing 69,2% Starch, 17% protein, 3,3% fat, 5,5% cellulose, 5% ashes (Porcyprima; Sanders Centre Auvergne, Aigueperse, France) and had free access to tap water.

After this adaptation period, animals were divided into three groups. Six pigs were used as control animals (group C) and were euthanized after an overnight fast by intravenous administration of Dolethal® (pentobarbitone sodium 200 mg/L, Vetoquinol®, France). The remaining 14 mini-pigs were then surgically fitted with a catheter in the abdominal aorta, portal and hepatic veins. After 3 weeks of post-surgical recovery, 7 mini-pigs received a fat and saccharose supplemented diet diet (group O) for 56 days consisting in the regular pig diet (800g) as described above enriched with fat (10% palm oil) and sugar (10% sucrose) (2570 kcal/kg) and 250g of regular bread (Figure 1 A). The last 7 mini-pigs received the same fat and saccharose supplemented diet, but regular bread was replaced by experimental bread, in which 23% of the flour was substituted with a mix of dietary fibers (group O+F) as previously described [43]. Food intake was recorded daily, and animals' body weight was measured weekly. The fiber mix used in the bread from O+F diet consisted in 20% inuline (Oliggo-Fiber inulin instant), 20% pectin (Unipectin A100) and 60% resistant starch (Actistar 11700, containing 50% resistant starch). All fibers were supplied by Cargill (Minnetonka, Minnesota USA). Taking into account of the bread intake, the bread dry matter (62% in O+F bread) and fibers purity, the fermentable fibers supplementation to the O+F animals was 25 g per day.

After an overnight fast, blood was sampled through the catheters on heparinized or EDTA treated tubes, before the 1st day of overfeeding (D1) (i.e. the animals in the fasted state at D1 correspond to animals adapted to the standard diet) and 8 weeks (i.e. 56 days) after adaptation to each experimental (O and O+F) diets. Blood was centrifuged at $4.500 \times g$ for 10 min, plasma rapidly collected and stored at -80°C until further analyses. At D56 minipigs of the groups O and O+F were euthanized after an overnight fast period as describe for group C. Then liver

tissues were collected and a cross-sections were fixed in ice isopentane and stored at -80°C .

All procedures were in accordance with the guidelines formulated by the European Community for the use of experimental animals (L358-86/609/EEC, Council Directive, 1986) and the accreditation number for the present study is C63 34514.

Plasma measurements

Glucose, lactate, urea, triacylglycerol (TG), HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total cholesterol (TC), concentrations were enzymatically measured using commercial kits on an automotive ABX Pentra 400 (Horiba Medical, France) test system. Free fatty acids were measured using Wako NEFA assay kit (Wako Diagnostics, Richmond, USA). Plasma insulin levels were assayed using a commercial ELISA kit (Merckodia, Sweden).

For amino acids measurement, detailed procedures are described elsewhere [44]. Shortly, plasma samples were deproteinised with sulphosalicylic acid after adding norleucine ($50\ \mu\text{L}$, $1.25\ \text{mmol/L}$) as an internal standard. The supernatant was diluted ($2/3$) with a lithium injection buffer (Bioritech, Guyancourt, France) containing glucosaminic acid as an injection standard and amino acids concentrations were determined with an amino acid analyzer (Hitachi L8900, Sciencetec, Villebon/Yvette, France) by ion exchange chromatography (with post – column derivatisation with ninhydrine).

Short chain fatty acids (SCFA) in plasma were measured using 1-(tert-butyl)dimethylsilyl) imidazole (MTBSTFA) derivatization and analysis by gas chromatography (GC) according to [45]. Shortly, to $500\ \mu\text{L}$ of plasma was added $50\ \mu\text{L}$ of a mixture of ^{13}C labelled $1\text{-}^{13}\text{C}$ -acetate ($4\ \text{mM}$), $1\text{-}^{13}\text{C}$ -propionate ($1.5\ \text{mM}$), $1\text{-}^{13}\text{C}$ -butyrate ($0.6\ \text{mM}$) (Cortecneq, Voisins Le Bretonneux, Fr) and $10\ \mu\text{L}$ of 37% (v/v) HCL solution. $2\ \text{mL}$ of diethyl ether was added to plasma and the mixture was centrifuged ($10\ \text{min}$, $2000\ \text{rpm}$). $50\ \mu\text{L}$ of MTBSTFA (Tokyo Chemical Industry, Tokyo, Japan) was added to supernatant for SCFA derivatization. The mixture was injected in GC–MS system 7890A (Agilent Technologies California, USA) using the splitless mode equipped with a quadrupole detector (5975C) and autoinjector (7683). The ionisation mode was operated in electron impact (electron energy $70\ \text{eV}$). The GC system was fitted with a nonpolar capillary column DB-5 MS (J&W Scientific, Folsom, CA, $30\ \text{m} \times 0.25\ \text{mm i.d} \times 0.25\ \mu\text{m}$ film thickness) for chromatographic separation. Quantification of the SCFA was performed using the Selected Ion Monitoring acquisition Mode by measurement of the m/z ratios of the specific ^{13}C and ^{12}C ions of each quantified SCFA and comparison to a standard curve: $117/118$ (^{12}C acetate/ $1\text{-}^{13}\text{C}$ -acétate), $131/132$ (^{12}C propionate/ $1\text{-}^{13}\text{C}$ -propionate), $145/146$ (^{12}C butyrate/ $1\text{-}^{13}\text{C}$ -butyrate).

RNA extraction and quantification

Total RNA Extraction from tissues and reverse transcription (RT)

Total RNA from 30 mg of liver tissue was isolated by using a PureLink RNA Mini Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, CA USA) according to manufacturer's protocol. RNA samples purity was verified using NanoDrop spectrophotometer (ND-1000, NanoDrop Technologies Inc., USA) and RNA (1 µg) integrity was electrophoretically verified on 1 % agarose ethidium-bromide-stained gel. cDNA was synthesised from 1 µg of RNA using the high-capacity cDNA reverse transcription kit ((AB Applied Biosystems, Foster City, CA USA), containing a mix of random primers and oligo(dT), according to the manufacturer's instructions.

Quantitative real-time PCR (RT-qPCR) methods and data analysis

cDNA was diluted 1:20 in RNase free water. Pre-amplification was performed using PowerUp SYBR Green Master Mix (AB Applied Biosystems, life technologie, woolston warrington UK). Real-time quantitative PCR was carried out on a Bio-Rad CFX-96 detection system with quantitative qPCR SYBR Green reagents. Primer sequences are available upon request (Sigma Aldrich) see Table 2. PowerUp SYBR Green Master Mix (7.5 µL) was mixed with 0.3 µL of forward (10 µM) and reverse (10 µM) primer mix and 2 µL of diluted cDNA, and incubated at 95°C for 10 min. PCR conditions were standardized to 40 cycles of: 95°C for 15s, 59°C for 30s and 65°C for 5s. Relative quantification of the target genes were done using hepatic eef1a gene expression as a reference and relative gene expression was quantified using the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method.

Primer design

Primers were designed using Primer3 software (Whitehead Institute for Biomedical Research/MIT Center, Cambridge, MA, USA), while gene sequences were obtained from public databases (PubMed, Ensembl). If possible, primers were designed to span intron/exon boundaries to prevent amplification of contaminating genomic DNA, if present. BLAST searches were performed to ensure the absence of intraspecies polymorphisms at the primer site. Primers were designed so that they are overlapping an intron.

Histological studies and image analysis.

Liver biopsies were frozen in isopentane cooled on liquid nitrogen and stored at -80°C. Cross-sections (5 µm thick) were performed using a cryostat (Microm, Francheville, France) at -25°C. Cross- sections were fixed in 10% formalin for 10 min, washed with cold running water and dried in 60% isopropanol. The sections were incubated for 20 min in Oil-Red-O (Sigma-Aldrich, L'Isle d'Abeau, France) and then washed with cold running water. Images were

captured with a high-resolution cooled digital DP-72 camera coupled to a BX-51 microscope (Olympus, Rungis, France), and analyzed on random fields per slide. To estimate the hepatic lipid accumulation, digitized images of liver slides stained with Oil-Red-O were used. We recorded the area of Oil-Red-O staining above a constant optical density threshold using ImageJ (National Institutes of Health, US) to determine the number and mean area of lipid droplets (LD) and a lipid accumulation index (LAI, ie, the percentage hepatocyte area occupied by LD) for each pig. Constant optical conditions were maintained along the entire morphometric evaluation.

Proteomic study

Protein Extraction and SDS-PAGE migration

Frozen liver (200mg) was homogenized in an extraction buffer [40 mM Tris (pH 8.8), 2 mM EDTA, 0.1% SDS, 1% DTT and a protease inhibitors cocktail (Sigma Aldrich, L'Isle d'Abeau, France)] using a mixer mill type MM2 (Retsch, Haan, Germany). The homogenate was centrifuged (10000g for 10 min at 10°C). Soluble protein concentration was determined using the infrared spectrometry system: Direct Detect® (Millipore, France). Protein sample (20µg) were concentrated on a 12 % SDS-PAGE. Gel was stained with Coomassie Brilliant Blue R250 and the single bands in each lane were excised into fractions (<5mm).

Preparation for LC-MS/MS

After immobilization of the proteins in the concentration gel, the proteins bands, stained with colloidal blue G250 (ref) are taken using a scapel blade and put in an eppendorf tube. First, proteins bands were dehydrated with 50% ethanol/ammonium bicarbonate 50 mM and were reduced with 10 mM DTT dissolved in 50 mM ammonium bicarbonate, 100 µl, 30 min, at 56°C. Then the proteins were alkylated with 55 mM iodoacetamide dissolved in 50 mM ammonium bicarbonate, 200 µl, 30 min, in the dark. Then, the reduction/alkylation solutions were removed and the bands were washed with a solution of 50 mM ammonium bicarbonate buffer, 200 µl, 15 min. The strips were destained with 25 mM ammonium bicarbonate solutions containing increasing (v/v) concentrations of acetonitrile, twice 5% and twice 50%, 200 µl, 15 min (the buffer is removed after each wash). Finally, each band dehydrated with 100% acetonitrile were placed in a speed-vac for 10 minutes to complete the dehydration and completely remove the solvent before adding the enzyme. Thus, 400 ng of trypsin (10 ng/µl) in solution of 25 mM of ammonium bicarbonate were added on each band and the hydrolysis left overnight at 37 °C. The digestion is stopped with a solution of 99.9 acetonitrile (ACN), 0.1% formic acid (FA). The peptides were then extracted from the gel by sonication, 15 min and

transferred to an HPLC vial after being concentrated to 20 µl in a speed vac, during 20 min. An additional sample was made with 2 µl of each peptides extract. This sample, called 'Pool', was used as reference in the step of alignment of the ionic map in LCProQI Quanfication Software (Non LinearDynamics).

Mass spectrometry and data analysis

The mixture of peptides extracted from each proteins band has been analyzed in LC-MS/MS for protein identification and quantification. Briefly, 1µl of the peptide mixture was injected into Ultimate nano HPLC (Thermo Fisher). After desalting on the load column (Pepmap, C18, 300 µm, 0.5 cm) during 6 min, peptides were separated on an analytical C18 nanocolumn (Pepmap C18, Acclain, ThermoFisher, 75 µm, 15 cm) using a gradient of a solution of acetonitrile (99.9% ACN, 0.1% Formal Ac) of 10 to 40% in 150 min at a flow rate of 300 nL/min for 150min. The separated peptides were electrosprayed in the nanoESI source of an orbitrap mass spectrometer (LTQ Orbitrap Velos, ThermoFisher). The mass spectrometer was used in DDA mode, each full scan MS1 (350-4000 m/z, R60000) is followed by 15 MS/MS CID (R15000, with dynamic exclusion).

The acquired runs were loaded into the LCProQI Quanfication Software (Non LinearDynamics). For protein identification, the LCProQI exports a file (493826 MS/MS) in MASCOT input format (mfg). The query of the database (suscrofa, 26103 sequences-08/17)) via MASCOT (v 2.52) was carried out with the following parameters: carbamidomethylation (C), deamidation (NQ) and oxidation (M) as variable modifications; peptide and fragment mass tolerance set to 10 ppm and 0.5 Da respectively, and two missed cleavages were allowed. Peptide identification was accepted when its mascot score allowed having less than 1% of false positive (FDR correction). Protein identification was validated when two unique peptides of this protein have been identified. The identification result file (.html) were loaded into ProQi. For protein quantification, the software performs a run alignment and peak picking steps to obtain a single ion map gathering all the detected ions. Detected ions having at least one MSMS are exported to the Mascot identification. The quantification of the validated proteins then takes into account the normalized (details on normalization, see www.nonlinear.com) intensity of peptides (two minimum) validating the protein.

Protein identification, biological process classification, cluster and protein-protein interaction analysis were performed using panther (<http://www.pantherdb.org/>), string software (<https://string-db.org>) and KEGG Mapper-Search Pathway (www.genome.jp/kegg/tool/map_pathway1.html).

The clustering analysis (unsupervised modelling) of the significant proteins was

performed using hierarchical clustering with the Euclidian distance of calculating the similarity between proteins and the Ward's distance aggregation for the similarity between conditions (C, O and O+F) using average linkage. The hierarchical clustering analysis (HCA) was performed using Permutmatric v1.9 [46]

Statistical analyses.

All data are expressed as means \pm SEM. Differences were considered significant if $P < 0.05$ and as a tendency (t) for $0.05 < P < 0.1$.

Weight and plasma parameters data

For the fourteen O and O+F minipigs, body weight and plasma parameters were determined at D1, D14 and D56 on the same animals. Comparisons of data between D1, D14 and D56 in the fasted state were performed using a two way repeated measures ANOVA with Time and Diet as main factors (SigmaPlot 12, Systat software, San Jose, USA) followed by a post hoc analysis using the Tuckey test. Differences were considered significant if $P < 0.05$ and as a tendency (t) for $0.05 < P < 0.1$.

Liver tissues data

The differences in genes and proteins expressions in the liver between C, O and O+F groups were analyzed using a one-way ANOVA followed by a post hoc analysis using the Tukey test (XLSTAT 2013.1.01, Addinsoft, Paris, France). Differences were considered significant if $P < 0.05$ and as a tendency (t) for $0.05 < P < 0.1$. For proteomic data, statistical analysis (One way ANOVA, Diet effect) was generated from LCProQI Quantification Software (Durham, USA).

Results:

Animals' phenotype

Minipigs from the O or O+F groups gained weight steadily over time and showed an increase body weight gain of 41% and 34%, respectively, after 8 weeks of adaptation to the diet (Diet effect : $P=0.01$). At D30 and D56, the average body weight gain in group O+F was lower compared to the O group (Figure 1 B, $P<0.05$). As could be expected with such diets, a significant Time effect was observed for several plasma parameters (Table 1). Between D1 and D56, for all animals, the following parameters were significantly increased: insulin (+88%), HOMA (+102%), total cholesterol (+45%), LDL cholesterol (+25%), HDL cholesterol (+71%), lactate (+63%). Some but not all indispensable amino acids were also increased after 56 days

of overfeeding (leucine, +19%; isoleucine, +14%; valine, +12%; Phenylalanine, +20%; methionine, +13%; $P < 0.05$). No significant difference between O and O+F (no diet effect and no interaction diet x time) was observed for all arterial plasma parameters measured.

As short chain fatty acids are produced in the gut by the microbiota and are highly metabolized within the splanchnic area, their concentration was measured in the portal vein (close to their production site). A significant Time effect was observed for the three major short chain fatty acids (acetate (C2), propionate (C3) and butyrate (C4) and the sum of them) (Table 1). This is also the case for Diet x Time interaction but only for C3 and C4. A transient increase in C3 and C4 plasma levels in the portal vein occurred at D14 (+104% for C3 and +117% for C4 between D1 and D14, $P < 0.05$) in O+F diet vs O.

Red oil staining of hepatic sections biopsied in the fasted state showed a significant Diet effect ($P < 0.001$) (Figure 1C). The red oil staining was the highest in the O group, significantly superior to O+F (+ 53%, $P < 0.001$) and tended to be higher to C group (+24%, $P = 0.07$) whereas no difference existed between C and O+F.

Overall hepatic Protein profiling:

For a detailed exploration of the adaptation of the hepatic metabolism to the O and O+F diets, a proteomic analysis of hepatic proteins was implemented. A total of 905 proteins were identified in the liver with a FDR (false discovery rate) of 1%. Among the 905 proteins identified, 202 were altered by the O diet relatively to C significantly (144) or as a tendency (58). Thirty proteins were either significantly (10) or tended to be (20) different between O+F and C diets and eighteen (2 significant) between O and O+F groups. Overall, 212 proteins were significantly modified by the experimental diets (Figure 2 and supplementary Table for the detailed list of the 212 proteins).

Among these 212 proteins, 38% are involved in metabolic processes (Figure 3A). These metabolic processes could be divided into ten subclasses. The primary metabolic process (40%) were prevailing (Figure 3B) including carbohydrate (13%), amino acid (23%), protein (20%), nucleobase-containing compound (18%) and lipid (27%) metabolic processes (Figure 3C). Among metabolic processes, the lipid metabolic processes (Steroid (39%), fatty acid (50%) and phospholipid (11%) metabolic processes) are the most impacted by the diets. A parallel analysis of protein-protein interaction networks proteins (supplementary Figure) highlighted five clusters (fatty acids, but also carbohydrates, amino acid, and steroid, coagulation/complement cascades) and confirmed that fatty acids metabolic processes were highly influenced by our nutritional intervention (overfeeding or overfeeding + fibers). Taken together, these analyses

show that 18% (38/212) of significantly altered proteins are involved in fatty acids-oxidation and oxidative phosphorylation.

Focus on mitochondrial and peroxisomal fatty acids oxidation and lipid metabolism proteins

More precisely, an up-regulation of proteins involved in fatty acid oxidation in the O group relatively to C is observed (Figure 4A) : Acyl-CoA-Binding Protein ACBD5 (+1.33 fold), Acyl-CoA oxidase ACOX1 (+1.37 fold), Carnitine palmitoyltransferase CPT2 (+1.55 fold), Acyl-CoA dehydrogenase family member 10 ACAD10 (+1.29 fold), Enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase EHHADH (+1.23 fold). Proteins involved in mitochondrial electron transfer chain are also upregulated: NADH dehydrogenase (ubiquinone) flavoprotein 1 NDUFV1 (+1.35 fold), Ubiquinol-cytochrome c reductase core protein I UQCRC1 (+1.29 fold), ATP Synthase Subunit O ATP5O (+1.18 fold) and ADP/ATP translocase 1 SLC25A4 (+1.30 fold) (Figure 4B and supplementary Table for details). Only one protein was significantly down regulated: Acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 ACAA2 (-1.42 fold) (Supplementary Table). In addition to proteomic data on mitochondrial fatty acids oxidation pathway, *Cpt1* (Carnitine palmitoyltransferase 1) gene expression was performed by RT-PCR and a tendency for an increase in O diet vs C was observed (+85% P=0.07) (Figure 4C). Aside from the proteins involved in fatty acids oxidation, Fatty acid-binding protein FABP1 (+1.47 fold), Acyl-CoA-binding domain-containing protein 5 ACBD5 (+1.27 fold), Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase HMGCS1 (+1.50 fold) and glycerol kinase GK (-1.27 fold) proteins were changed (P<0.05) in O as compared to C groups (Figure 5B).

Contrarily to O and although overall energy and lipids supply was similar in O and O+F groups, no significant effect of fibers supplementation on proteins involved in hepatic lipids handling (oxidation, transport, ketogenesis) was observed relatively to C (except for ACAA2 (-1.5 fold, P=0.01) and ACAT1 (-1.32 fold, P=0.07)) (Figure 4B). For these proteins, the O+F group was not different from O. This was confirmed at the gene expression level of proteins involved in oxidation (CPT1 and CPT2) which were upregulated by O vs C (+85% and +152%, P=0.07 and 0.03 respectively) whereas O+F was not different to O and C.

Impact of dietary fibres at regulatory levels (PPARs) and impact on lipogenesis and lipids transport

Using KEGG pathway analysis, a major positive correlation between some of the significantly altered proteins with O diet and PPARs could be highlighted (Figure 5A). To

assess if PPARs could be involved in the regulation of the metabolic pathways and proteins levels measured above, PPARs mRNA levels were quantified, as well as gene expression of key enzymes involved in major metabolic pathways regulated by PPARs (Figure 5). Contrarily to what observed at protein level, where O+F group was generally not different from C and O groups, the up-regulation of PPAR α (+252%, $p < 0.05$) in O group vs C did not occur in O+F group which was similar to C ($P = 0.8$) and lower from O (-58%, $p = 0.04$) (Figure 5C). Genes involved in regulation and activity of lipogenesis were specifically altered by fibers supplementation with a tendency for a down regulation of SREBP1-C in O+F vs O (-36%, $P = 0.07$) as well as a significant down regulation of SCD1 gene expression (a target of SREBP1-C) in O+F group vs C (-64%, $P = 0.01$) whereas this was a tendency for O vs C (-48%, $P = 0.07$). Lastly, fatty acids transport, even if FABP1 protein was not significantly altered by the O+F diet, the mRNA content of *Fabp1* gene was lower for both C (-49%, $P = 0.04$) and O+F (-50%, $P = 0.04$) diets relatively to O.

Fiber supplementation and glucose metabolism

Concerning the other metabolic processes highlighted in Figure 3, we showed, using the proteomic approach, that fibers supplementation did not induce a decrease of glycogen synthase GYS2 protein ($p = 0.95$, O+F vs C) whereas it tended to be decreased by overfeeding (+1.82 fold, $P = 0.087$, O+F vs O, Figure 5B and supplementary Table). In parallel, in the fasted state, the difference in plasma glucose concentration between the hepatic vein and the portal vein is increased by the fiber supplementation (0.09 mM vs 0.80 mM at D56 for O and O+F respectively, $P = 0.01$, Figure 6B). This observation was not reinforced by the liver glycogen content (diet effect = 0.9, Figure 6A) but it must be kept in mind that this glycogen content was measured in the fasted state and not in the fed state.

Discussion:

The aim of the present study was to investigate the impact of overfeeding on the hepatic metabolism of an animal model metabolically and physiologically close to humans: mini pig (for model description see [47]). The other aim of the study was to determine if a supplementation with a mixture of inulin, resistant starch and pectin included in a bread [43] on these overfed mini pigs could significantly reverse the impact of overfeeding on animals' phenotype and hepatic metabolism.

1. Impact of overfeeding on whole body and hepatic metabolism

As previously observed on a similar model [48], a strong Time effect was observed in the present study on several plasma parameters (insulin, HOMA, cholesterol, lactate, some indispensable amino acids) and weight gain. However, glucose, triglycerides or urea were not significantly modified contrarily to what generally observed in high fat diet fed animals [49]. This means that the diet enriched with 10% sucrose and 10% fat used in the present study (associated with increased intake) was sufficient to durably alter insulin sensitivity but not sufficient to induce hyper-glycemia and hyper-lipidemia. The lipid and sucrose content in the diet from our study (less than 15% of lipids in the diet w/w and 10% sucrose) is lower than what normally used in western diets studies (where 20 to 30% of the diet composition (w/w) are lipids, whereas sucrose can reach 10% up to 30%). The relatively low lipids and sucrose content and the 2 months duration of the experiment can explain why, despite an important weight gain, the animals from the present study were still in the early stages of obesity-related metabolic shifts [47]. This suggests also that the metabolic adaptations observed are still reversible.

The proteome shift induced by overfeeding was massive with expression of 144 proteins significantly modified between C and O animals. Some proteins highly over expressed are involved in lipids handling by the hepatic cells. This concerns lipids entry/transport in and out of the cell (FABP1, ABCD5 and APOE), long chain fatty acids oxidation at mitochondrial and peroxisomal levels (ACOX1, ACAD10, EHHADH), ketogenesis (HMGCS1) and activation of mitochondrial respiratory chain (NDUFA4, OQCRC1, ATP50). The increased lipids transport within hepatic cells and oxidation hypothesized from proteome analysis is confirmed at the mRNA level with an increased expression of FABP1, CPT1 (tendency) and CPT2. Data from literature concerning the impact of high fat feeding or obesogenic diet on lipids handling in the liver are contradictory. Indeed, lipid hepatic oxidation and mitochondrial function has been described as decreased in NASH [50, 51] but mitochondrial function measured *in vivo* can be up or down regulated by nutritionally induced insulin resistance (for review, [52]). Proteomic studies have shown that the profile of mitochondrial hepatic proteins can be up regulated in high fat fed mice [30, 31, 53], or pigs [42] or down regulated in hamster or T2M patients [54]. An explanation for this apparent discrepancy lies in a slow and progressive adaptation of the liver to the lipids oversupply. First, due to lipids overload, the liver responds by increasing the lipids binding to transport proteins (FABP1), which increases the entry and transport of fatty acids in the liver for storage, export and oxidation [55, 56]. This lipids overload in the liver will

ultimately generate oxidative stress and inflammation leading to diabetes, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and mitochondrial's dysfunctions. As we are in the onsets of development of insulin resistance, the increased oversupply of lipids is still associated with an adapted liver response (increased lipids transport, entry within the cell associated with a stimulated oxidative capacity). As we also observed a tendency for an inhibition of SCD1 mRNA (involved in lipogenesis) by overfeeding, we confirmed here that in the present study the liver was still metabolically flexible in the fasted state [57].

As overfeeding includes oversupply of proteins, the increased protein intake is associated with an overall expression of amino acids metabolism/catabolism pathways (branched chain amino acids (TDH, BCKDHB), serine (SHMT2, PSAT1), cysteine (CTH), arginine (ASL), ornithine (ACY1, ARG1). Plasma levels of some specific circulating amino acids are known to increase early in the development of the insulin resistant state: leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, tyrosine, as well amino acids playing a key role in urea cycle (ornithine, arginine) [58, 59]. This is the case in the present study (leucine, valine, isoleucine, phenylalanine) as well as in mini pigs fed a similar diet in a previous experiment [60]. The increased level of BCKDHB protein observed in our overfed animals is not consistent with the decreased mRNA level of BCKDH complex (but not its phosphorylation state) and BCAT2 activity observed previously in the liver of similar pigs fed a high fat high sucrose diet [60], even if it is not always the case in similar nutritional situations [61]. It is clear that the role of the liver in the complex regulation of plasma branched chain amino acids levels should require further investigation both at cellular level (genes, phosphorylation status, activity, interaction with BCKD kinase) and in interaction with other tissues (adipose, muscle) in our model.

The overall regulation of lipids handling in the liver is known to be under the control of transcription factors, and particularly PPAR α [56] in tight connection with FABP1 and lipids concentration within the cells [62]. The overnutrition-induced increased mRNA level of PPAR α and FABP in our study may explain the increased lipids transport, catabolism and ketogenesis we observed [63, 64].

2. Impact of the dietary fibers supplementation on whole body metabolic adaptation and hepatic metabolism

2.1 Impact of fibers on pig phenotype and hepatic metabolic pathways

After 2 months of overfeeding, fibers supplementation reduced body weight gain in our female pigs. Similarly, dietary fibers supplementation has been proven efficient to favor weight

loss in obese people [2] . The overall lower ingested metabolizable energy (due to replacement of a part of the flour by fibers mix in the bread), but also a potential reduction in lipid absorption due to increased gastric and colonic transit [14] could explain the slower weight gain we observed. Viscous fibers (like pectin) are indeed known to increase gastric emptying rate and to limit metabolites absorption (see [14] as a review). The use of a mix of fermentable fibers induced (as shown in Table 1) transient increase in propionate and butyrate concentration in the portal vein of fiber supplemented animals, as could be expected due to the fiber fermentation in the colon [5]. At the peripheral level, and in the fasted state, however, no diet effect and no interaction Time x Diet was observed for all metabolites measured in arterial plasma. Plasma arterial parameters of overfed fiber supplemented animals followed the same pattern of changes as overfed animals over time.

In the liver, fibers supplementation induced a reduction in lipids droplet accumulation (red oil) compared to the overfed groups. Thus, even in a situation of weight gain due to overfeeding, dietary fibers have limited the development of an obesity-related phenotype (i.e. weight gain and hepatic lipids accumulation). To our knowledge, this is the first demonstration of such an effect in overfed pigs with fibers supplementation. These data are consistent with results obtained in high fat fed rodents supplemented with 7% of inulin when hepatic lipid metabolism was altered and triglycerides content lowered [65]. A 10% of oligofructose supplementation in the diet of rats also limited accumulation of lipid droplets in the liver [66].

At the proteome level, fibers supplementation limited the impact of overfeeding on hepatic proteins (O+F not different from C) but the effect was not sufficient to lead to significant differences with the O diet. At genes level, several genes involved in lipids transport (FABP1: O+F<O) and regulation of hepatic lipids metabolism (PPAR alpha, O+F<O and SREBP1c O+F < O, tendency), with SREBP1c particularly involved in lipogenesis regulation, are specifically affected by fibers supplementation. On the contrary, genes (CPT1 and CPT2) and proteins (ACOX, ACAA, EHHADH) involved in lipids oxidation are numerically intermediate between C and O, suggesting that for this pathway of lipids utilization, the effect of the fibers was not strong enough to reach a statistical significance. Consequently, the decreased lipids droplets content in the O+F animals could be a consequence of a decreased entry of lipids within the liver associated with a potential specific decreased lipogenesis but not to an increased oxidation rate of lipids. A fiber-induced decreased hepatic lipogenesis was demonstrated in rodents, but is generally associated with an increased oxidation of lipids that we did not show in the present study at protein and gene levels [37]. In the present study, lipids oxidation seem to respond to a mass action effect. Nevertheless, this absence of effect of fibers on lipids oxidation that we

observed at the protein level should be confirmed by the measurement of lipids oxidation rate *in vivo* which could validate/invalidate this hypothesis.

2.2 Regulatory mechanisms

At this point, it can be noted that FABP1 hepatic protein content is not significantly decreased by fibers supplementation diet whereas the gene is clearly down regulated by fibers. One explanation to this apparent discrepancy between genes and proteins may lie in the difference in half life time between mRNA (2-7 hours) and proteins (about 2 days) [67]. FABP1 (and PPARs) are regulated by lipids content in the liver and are subject to diurnal variations corresponding to fasted and fed states [68]. Due to different half-lives, FABP1 mRNA level may be more representative of the fasted state whereas FABP1 protein levels may be the consequence of a mix between the fasted and fed states (within the 2 previous days before animals' euthanasia). Recent data have highlighted the key role of FABP1 in the development of non-alcoholic fatty liver disease, showing that down regulation of FABP1 gene protected mice from hepatic steatosis [69] with a shift in energy substrate use from lipids to carbohydrates. As fibers supplementation down regulated FABP1 mRNA levels, such a regulatory role of FABP1 can be speculated.

In parallel, a tendency for a superior GYS2 protein content in O+F relatively to O as well as a significant increased glucose net release by the fasted liver of O+F animals after the 56 days of diet adaptation were noted. An increased glycogen synthesis capacity (i.e. increased glucose storage) in overfed fiber supplemented animals in the fed state may have led to an increased glucose release via glycogenolysis in the fasted state. Unfortunately, no significant alteration of hepatic glycogen content was observed to validate our hypothesis (whatever the diet considered). Nevertheless, it should be kept in mind that liver samples were obtained in fasted animals and glycogen stores may already be catabolized and at a low level in O and O+F groups. Another explanation that cannot be excluded for the increased net glucose release in fiber supplemented animals may come from an increased gluconeogenesis, even if GK protein is not differently altered between O and O+F diets. Looking at portal supply of propionate to the liver (i.e. a direct effect of fibers fermentation on hepatic metabolism), it can be concluded that if a stimulation of gluconeogenesis from propionate can be hypothesized at D14, this is not the case at D56 and other precursors for glucose synthesis could have been substituted (e.g. alanine, glycerol, lactate).

The role of short chain fatty acids, aside from their role as energy nutrients, is their signaling effect (mediators/regulators), with a probable role of propionate and butyrate on hepatic metabolic pathways regulation via PPARs pathways [41, 70]. In our case, if the role of

SCFA is possible as both propionate and butyrate are increased in the portal vein of O+F animals. However, this increase is not persistent over time (present only at D14, whereas PPARs were measured at D56), suggesting that they may not be the only regulatory molecules or mediators involved in the differences observed in the liver at D56 in O+F animals. However, the fact that propionate and butyrate were not different in the portal vein at D56 between O and O+F does not mean that they were not produced in the caecum. Indeed, the gut wall may have adapted its energy metabolism (and in the present study its SCFA utilization) to the increased supply of SCFA over time. Other metabolites (such as succinate) produced by the microbiota from fibers [71] could relay propionate or butyrate action. Gut hormones/peptides (GLP-1, PYY..), whose secretion is also known to be affected by SCFA, may be also involved as regulatory molecules [72].

3. *Conclusion*

In the present study, despite a significant body weight gain and alteration of metabolic pathways due to nutrients overload, the liver of our mini pigs were still responsive to overfeeding and our animals were still in the early stages of obesity-related metabolic shifts. In this context, we have shown that a dietary supplementation of a mix of fibers (+25 g of fermentable fibers supplied in 250 g of bread, applicable in practice) limited weight gain and liver lipids droplets accumulation in overfed Yucatan mini-pigs. A reduction of FABP1 (and regulatory elements such as PPAR α and SREBP1-c) expression in fibers supplemented overfed animals tend to show a specific decreased entry/transport of fatty acids and potentially lipogenesis within the liver could explain the limited lipids storage in liver. A potential channeling of glucose to glycogen synthesis (GYS 2) and a hypothesized decreased utilization of glucose for pyruvate synthesis (leading to lipogenesis) by the liver could be increased after 56 days of fibers supplementation. Such an effect of dietary fibers may have been mediated by propionate and butyrate but not on a long-term basis. Other regulatory signals derived from direct interaction between microbiota and gut or metabolites derived from fibers fermentation by the microbiota (other microbiota-derived metabolites, odd chain fatty acids, digestive peptides, anti-inflammatory signals) should also be involved in these long term adaptations and require further investigations. Taken together, these data tend to show that a fiber-supplemented food product can delay and limit the impact of a western diet on weight gain and hepatic lipids storage as lipids droplets in mini pigs. As the liver seems to limit entry of fatty acids and storage within the liver in overfed fiber supplemented animals, it could be of interest to decipher which tissues will handle the excess of lipids available and what will be their fate.

Acknowledgments

To Cargill © for providing the dietary fibers (pectin, inulin and resistance starch). The authors acknowledge G Della-Valle, H Chiron, M Jarzaguet, C Buffière, JP Rigaudière and the personnel of Animal facility (C Delhomme, J Hermet) for technical assistance.

Financial support

The project was supported by INRA (AlimH, CEPIA and MICA research departments). No conflict of interest.

Bibliography

- [1] Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *The New England journal of medicine*. 2017.
- [2] Anderson JW, Baird P, Davis RH, Jr., Ferreri S, Knudtson M, Koraym A, et al. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition reviews*. 2009;67:188-205.
- [3] Lattimer JM, Haub MD. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*. 2010;2:1266-89.
- [4] Flint HJ, Duncan SH, Scott KP, Louis P. Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2015;74:13-22.
- [5] Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut microbes*. 2012;3:289-306.
- [6] Slavin J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 2013;5:1417-35.
- [7] Cluny NL, Eller LK, Keenan CM, Reimer RA, Sharkey KA. Interactive effects of oligofructose and obesity predisposition on gut hormones and microbiota in diet-induced obese rats. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23:769-78.
- [8] Thompson SV, Hannon BA, An R, Holscher HD. Effects of isolated soluble fiber supplementation on body weight, glycemia, and insulinemia in adults with overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 2017;106:1514-28.
- [9] Park Y, Subar AF, Hollenbeck A, Schatzkin A. Dietary Fiber Intake and Mortality in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Archives of internal medicine*. 2011;171:1061-8.
- [10] Liu S, Willett WC, Manson JE, Hu FB, Rosner B, Colditz G. Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:920-7.
- [11] Pereira MA, O'Reilly E, Augustsson K, Fraser GE, Goldbourt U, Heitmann BL, et al. Dietary fiber and risk of coronary heart disease - A pooled analysis of cohort studies. *Archives of internal medicine*. 2004;164:370-6.
- [12] Threapleton DE, Greenwood DC, Evans CE, Cleghorn CL, Nykjaer C, Woodhead C, et al. Dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2013;347:f6879.
- [13] Schulze MB, Schulz M, Heidemann C, Schienkiewitz A, Hoffmann K, Boeing H. Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes - A prospective study and meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2007;167:956-65.

- [14] Muller M, Canfora EE, Blaak EE. Gastrointestinal Transit Time, Glucose Homeostasis and Metabolic Health: Modulation by Dietary Fibers. *Nutrients*. 2018;10.
- [15] Arjmandi BH, Ahn J, Nathani S, Reeves RD. Dietary soluble fiber and cholesterol affect serum cholesterol concentration, hepatic portal venous short-chain fatty acid concentrations and fecal sterol excretion in rats. *J Nutr*. 1992;122:246-53.
- [16] Jakobsdottir G, Xu J, Molin G, Ahrne S, Nyman M. High-fat diet reduces the formation of butyrate, but increases succinate, inflammation, liver fat and cholesterol in rats, while dietary fibre counteracts these effects. *PloS one*. 2013;8:e80476.
- [17] Sanchez D, Quinones M, Moulay L, Muguerza B, Miguel M, Aleixandre A. Soluble fiber-enriched diets improve inflammation and oxidative stress biomarkers in Zucker fatty rats. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2011;64:31-5.
- [18] Dehghan P, Gargari BP, Jafar-Abadi MA, Aliasgharzadeh A. Inulin controls inflammation and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: a randomized-controlled clinical trial. *International journal of food sciences and nutrition*. 2014;65:117-23.
- [19] Adam CL, Thomson LM, Williams PA, Ross AW. Soluble Fermentable Dietary Fibre (Pectin) Decreases Caloric Intake, Adiposity and Lipidaemia in High-Fat Diet-Induced Obese Rats. *PloS one*. 2015;10:e0140392.
- [20] Keenan MJ, Zhou J, Hegsted M, Pelkman C, Durham HA, Coulon DB, et al. Role of resistant starch in improving gut health, adiposity, and insulin resistance. *Adv Nutr*. 2015;6:198-205.
- [21] Ge X, Tian H, Ding C, Gu L, Wei Y, Gong J, et al. Fecal Microbiota Transplantation in Combination with Soluble Dietary Fiber for Treatment of Slow Transit Constipation: A Pilot Study. *Archives of medical research*. 2016;47:236-42.
- [22] Kellow NJ, Coughlan MT, Savige GS, Reid CM. Effect of dietary prebiotic supplementation on advanced glycation, insulin resistance and inflammatory biomarkers in adults with pre-diabetes: a study protocol for a double-blind placebo-controlled randomised crossover clinical trial. *BMC endocrine disorders*. 2014;14:55.
- [23] Polakof S, Diaz-Rubio ME, Dardevet D, Martin JF, Pujos-Guillot E, Scalbert A, et al. Resistant starch intake partly restores metabolic and inflammatory alterations in the liver of high-fat-diet-fed rats. *J Nutr Biochem*. 2013.
- [24] Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature reviews Endocrinology*. 2015;11:577-91.
- [25] Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulin resistance underlying obesity? Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity. 2012;19:81-7.
- [26] Delzenne NM, Neyrinck AM, Cani PD. Gut microbiota and metabolic disorders: How prebiotic can work? *The British journal of nutrition*. 2013;109 Suppl 2:S81-5.
- [27] Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500:585-8.
- [28] Tilg H, Cani PD, Mayer EA. Gut microbiome and liver diseases. *Gut*. 2016;65:2035-44.
- [29] Moschen AR, Kaser S, Tilg H. Non-alcoholic steatohepatitis: a microbiota-driven disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2013;24:537-45.
- [30] Benard O, Lim J, Apontes P, Jing X, Angeletti RH, Chi Y. Impact of high-fat diet on the proteome of mouse liver. *J Nutr Biochem*. 2016;31:10-9.
- [31] Guo Y, Darshi M, Ma Y, Perkins GA, Shen Z, Haushalter KJ, et al. Quantitative proteomic and functional analysis of liver mitochondria from high fat diet (HFD) diabetic mice. *Molecular & cellular proteomics : MCP*. 2013;12:3744-58.

- [32] Soltis AR, Kennedy NJ, Xin X, Zhou F, Ficarro SB, Yap YS, et al. Hepatic Dysfunction Caused by Consumption of a High-Fat Diet. *Cell reports*. 2017;21:3317-28.
- [33] Morgan K, Uyuni A, Nandgiri G, Mao L, Castaneda L, Kathirvel E, et al. Altered expression of transcription factors and genes regulating lipogenesis in liver and adipose tissue of mice with high fat diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2008;20:843-54.
- [34] Ferre P, Foufelle F. Hepatic steatosis: a role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2010;12 Suppl 2:83-92.
- [35] Hu M, Phan F, Bourron O, Ferre P, Foufelle F. Steatosis and NASH in type 2 diabetes. *Biochimie*. 2017;143:37-41.
- [36] Han S, Jiao J, Zhang W, Xu J, Wan Z, Zhang W, et al. Dietary fiber prevents obesity-related liver lipotoxicity by modulating sterol-regulatory element binding protein pathway in C57BL/6J mice fed a high-fat/cholesterol diet. *Scientific reports*. 2015;5:15256.
- [37] den Besten G, Gerding A, van Dijk TH, Ciapaite J, Bleeker A, van Eunen K, et al. Protection against the Metabolic Syndrome by Guar Gum-Derived Short-Chain Fatty Acids Depends on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma and Glucagon-Like Peptide-1. *PloS one*. 2015;10:e0136364.
- [38] Chassaing B, Miles-Brown J, Pellizzon M, Ulman E, Ricci M, Zhang L, et al. Lack of soluble fiber drives diet-induced adiposity in mice. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2015;309:G528-41.
- [39] Adam CL, Gratz SW, Peinado DI, Thomson LM, Garden KE, Williams PA, et al. Effects of Dietary Fibre (Pectin) and/or Increased Protein (Casein or Pea) on Satiety, Body Weight, Adiposity and Caecal Fermentation in High Fat Diet-Induced Obese Rats. *PloS one*. 2016;11:e0155871.
- [40] Lin HV, Frassetto A, Kowalik EJ, Jr., Nawrocki AR, Lu MM, Kosinski JR, et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PloS one*. 2012;7:e35240.
- [41] Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*. 2009;58:1509-17.
- [42] Sejersen H, Sørensen MT, Larsen T, Bendixen E, Ingvarsten KL. Liver protein expression in young pigs in response to a high-fat diet and diet restriction. *J Anim Sci*. 2013;91:147-58.
- [43] Arufe S, Chiron H, Dore J, Savary-Auzeloux I, Saulnier L, Della Valle G. Processing & rheological properties of wheat flour dough and bread containing high levels of soluble dietary fibres blends. *Food research international (Ottawa, Ont)*. 2017;97:123-32.
- [44] Barbe F, Menard O, Le Gouar Y, Buffiere C, Famelart MH, Laroche B, et al. The heat treatment and the gelation are strong determinants of the kinetics of milk proteins digestion and of the peripheral availability of amino acids. *Food chemistry*. 2013;136:1203-12.
- [45] Pouteau E, Meirim I, Metairon S, Fay LB. Acetate, propionate and butyrate in plasma: determination of the concentration and isotopic enrichment by gas chromatography/mass spectrometry with positive chemical ionization. *Journal of mass spectrometry : JMS*. 2001;36:798-805.
- [46] Caraux G, Pinloche S. PermutMatrix: a graphical environment to arrange gene expression profiles in optimal linear order. *Bioinformatics*. 2005;21:1280-1.
- [47] Polakof S, Remond D, Bernalier-Donadille A, Rambeau M, Pujos-Guillot E, Comte B, et al. Metabolic adaptations to HFHS overfeeding: how whole body and tissues postprandial metabolic flexibility adapt in Yucatan mini-pigs. *European journal of nutrition*. 2018;57:119-35.

- [48] Heinritz SN, Weiss E, Eklund M, Aumiller T, Heyer CM, Messner S, et al. Impact of a High-Fat or High-Fiber Diet on Intestinal Microbiota and Metabolic Markers in a Pig Model. *Nutrients*. 2016;8.
- [49] Litten-Brown JC, Corson AM, Clarke L. Porcine models for the metabolic syndrome, digestive and bone disorders: a general overview. *Animal*. 2010;4:899-920.
- [50] Rubio-Aliaga I, Roos B, Sailer M, McLoughlin GA, Boekschoten MV, van Erk M, et al. Alterations in hepatic one-carbon metabolism and related pathways following a high-fat dietary intervention. *Physiological genomics*. 2011;43:408-16.
- [51] Garcia-Ruiz C, Baulies A, Mari M, Garcia-Roves PM, Fernandez-Checa JC. Mitochondrial dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance: cause or consequence? *Free radical research*. 2013;47:854-68.
- [52] Crescenzo R, Bianco F, Mazzoli A, Giacco A, Liverini G, Iossa S. A possible link between hepatic mitochondrial dysfunction and diet-induced insulin resistance. *European journal of nutrition*. 2016;55:1-6.
- [53] Nesteruk M, Hennig EE, Mikula M, Karczmariski J, Dzwonek A, Goryca K, et al. Mitochondrial-related proteomic changes during obesity and fasting in mice are greater in the liver than skeletal muscles. *Functional & integrative genomics*. 2014;14:245-59.
- [54] Valle A, Catalan V, Rodriguez A, Rotellar F, Valenti V, Silva C, et al. Identification of liver proteins altered by type 2 diabetes mellitus in obese subjects. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2012;32:951-61.
- [55] Koliaki C, Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular and cellular endocrinology*. 2013;379:35-42.
- [56] Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Progress in lipid research*. 2014;53:124-44.
- [57] Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*. 2012;148:852-71.
- [58] Lake AD, Novak P, Shipkova P, Aranibar N, Robertson DG, Reily MD, et al. Branched chain amino acid metabolism profiles in progressive human nonalcoholic fatty liver disease. *Amino Acids*. 2015;47:603-15.
- [59] Han J, Dzierlenga AL, Lu Z, Billheimer DD, Torabzadeh E, Lake AD, et al. Metabolomic profiling distinction of human nonalcoholic fatty liver disease progression from a common rat model. *Obesity (Silver Spring)*. 2017;25:1069-76.
- [60] Polakof S, Remond D, David J, Dardevet D, Savary-Auzeloux I. Time-course changes in circulating branched-chain amino acid levels and metabolism in obese Yucatan minipig. *Nutrition*. 2017;50:66-73.
- [61] Shin AC, Fasshauer M, Filatova N, Grundell LA, Zielinski E, Zhou JY, et al. Brain Insulin Lowers Circulating BCAA Levels by Inducing Hepatic BCAA Catabolism. *Cell metabolism*. 2014.
- [62] Wang G, Bonkovsky HL, de Lemos A, Burczynski FJ. Recent insights into the biological functions of liver fatty acid binding protein 1. *Journal of lipid research*. 2015;56:2238-47.
- [63] Rodriguez JC, Gil-Gomez G, Hegardt FG, Haro D. Peroxisome proliferator-activated receptor mediates induction of the mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase gene by fatty acids. *The Journal of biological chemistry*. 1994;269:18767-72.
- [64] Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. Molecular mechanism of PPARalpha action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2015;62:720-33.
- [65] Weitkunat K, Stuhlmann C, Postel A, Rumberger S, Fankhanel M, Woting A, et al. Short-chain fatty acids and inulin, but not guar gum, prevent diet-induced obesity and insulin resistance through differential mechanisms in mice. *Scientific reports*. 2017;7:6109.

- [66] Kok NN, Taper HS, Delzenne NM. Oligofructose modulates lipid metabolism alterations induced by a fat-rich diet in rats. *Journal of applied toxicology : JAT*. 1998;18:47-53.
- [67] Stare T, Stare K, Weckwerth W, Wienkoop S, Gruden K. Comparison between Proteome and Transcriptome Response in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Leaves Following Potato Virus Y (PVY) Infection. *Proteomes*. 2017;5.
- [68] Glatz JF, Baerwaldt CC, Veerkamp JH, Kempen HJ. Diurnal variation of cytosolic fatty acid-binding protein content and of palmitate oxidation in rat liver and heart. *The Journal of biological chemistry*. 1984;259:4295-300.
- [69] Newberry EP, Xie Y, Kennedy SM, Luo J, Davidson NO. Protection against Western diet-induced obesity and hepatic steatosis in liver fatty acid-binding protein knockout mice. *Hepatology*. 2006;44:1191-205.
- [70] den Besten G, Bleeker A, Gerding A, van Eunen K, Havinga R, van Dijk TH, et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet-Induced Obesity via a PPARgamma-Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. *Diabetes*. 2015;64:2398-408.
- [71] De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Zitoun C, Duchamp A, Backhed F, Mithieux G. Microbiota-Produced Succinate Improves Glucose Homeostasis via Intestinal Gluconeogenesis. *Cell metabolism*. 2016;24:151-7.
- [72] Adam CL, Williams PA, Garden KE, Thomson LM, Ross AW. Dose-dependent effects of a soluble dietary fibre (pectin) on food intake, adiposity, gut hypertrophy and gut satiety hormone secretion in rats. *PloS one*. 2015;10:e0115438.

Figures et Tableaux de la publication N°1

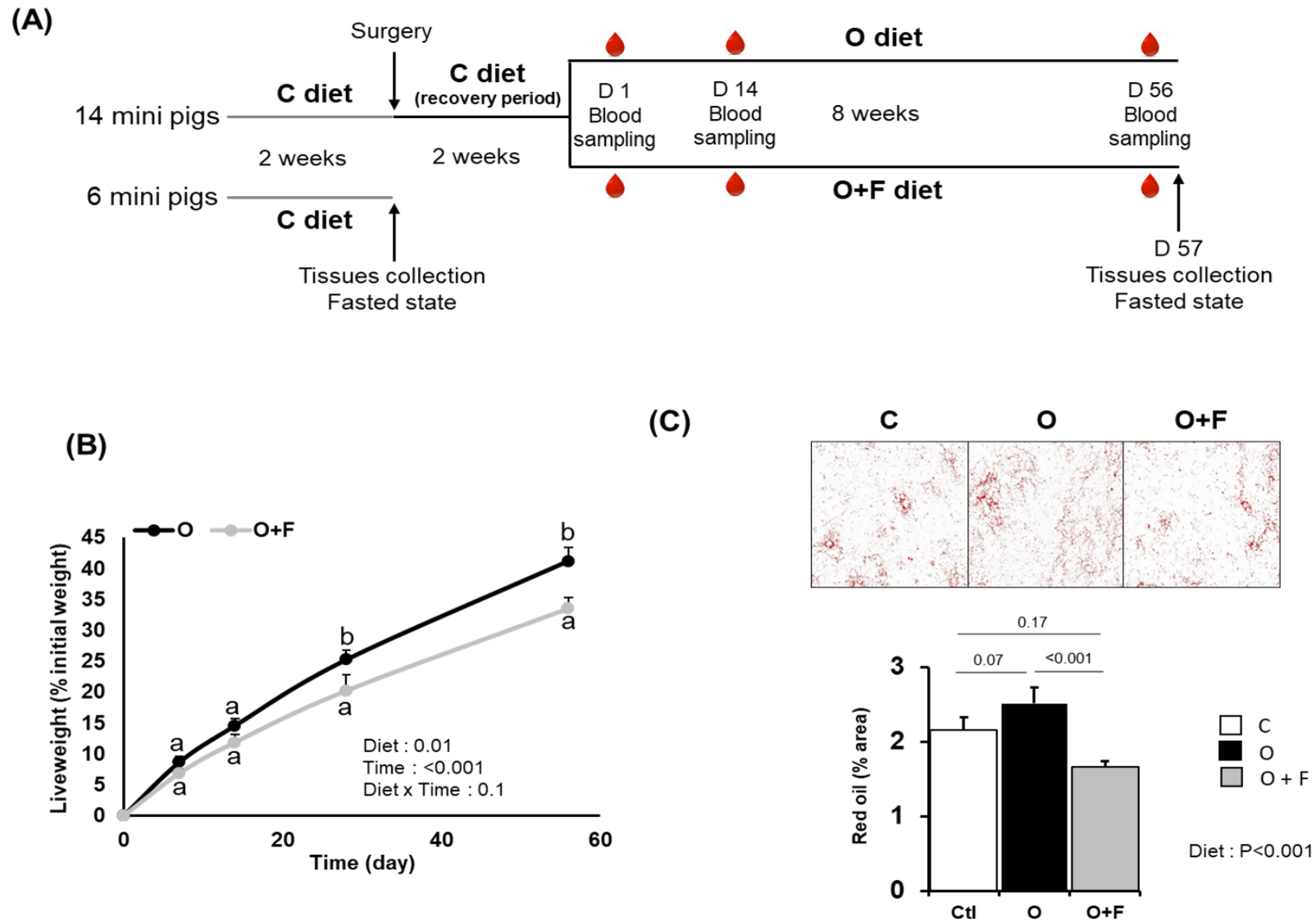


Figure 1: Impact of 56 days of adaptation to overfeeding (O) and overfeeding supplemented with dietary fibers (O+F) on mini pigs: (A) experimental design, (B) body weight evolution over the experimental period, (C) lipids contents in the liver (red oil staining). Oil Red O-stained images were binarized and thresholded for the lipid droplet signal using imaging software ImageJ. The analysis of the area of each individual lipid droplet done by Algorithms software. Values are means \pm SEM. For (B), different letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$) and were obtained by Two Way Repeated Measures ANOVA. For (C) Diet effect was obtained by one way Anova

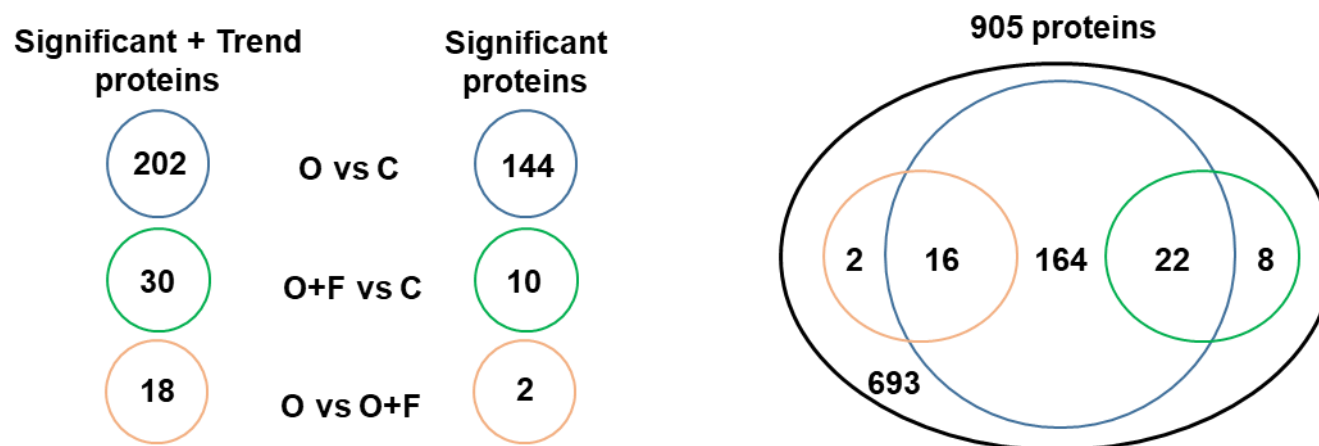
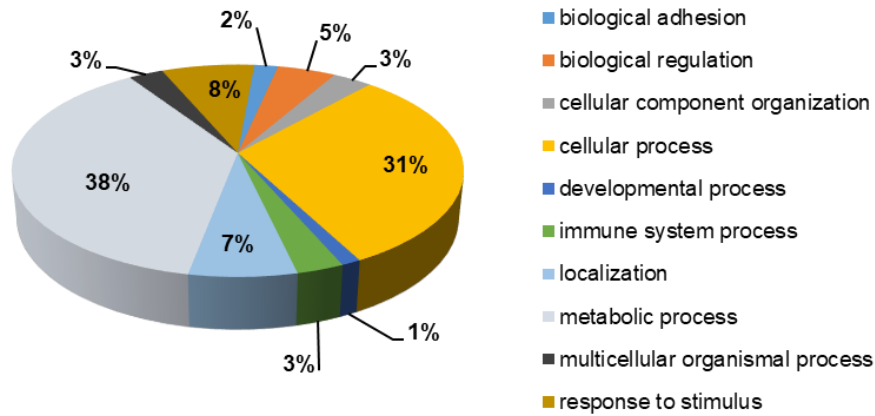
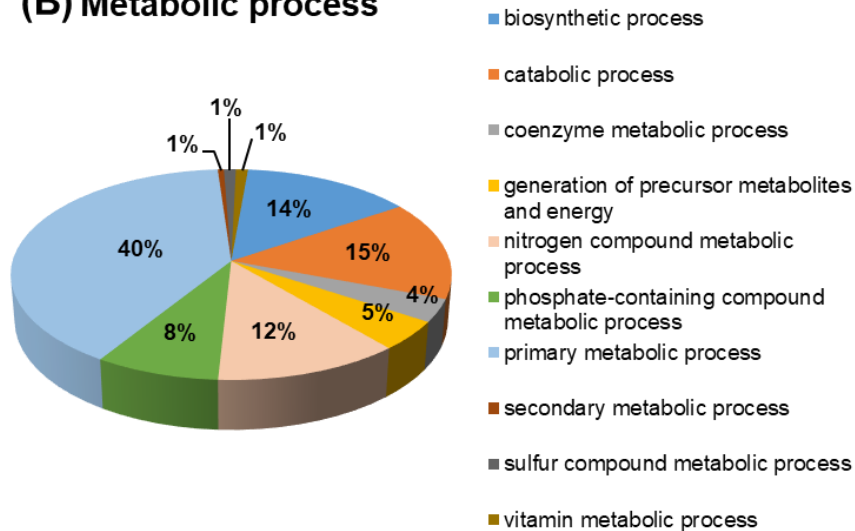


Figure 2: Venn diagram presenting all proteins identified and proteins modified by the experimental diets C, O and O+F (significantly ($P < 0.05$) or trend ($P < 0.1$)) (see table 1 supplementary data for details)

(A) Biological process



(B) Metabolic process



(C) Primary metabolic process

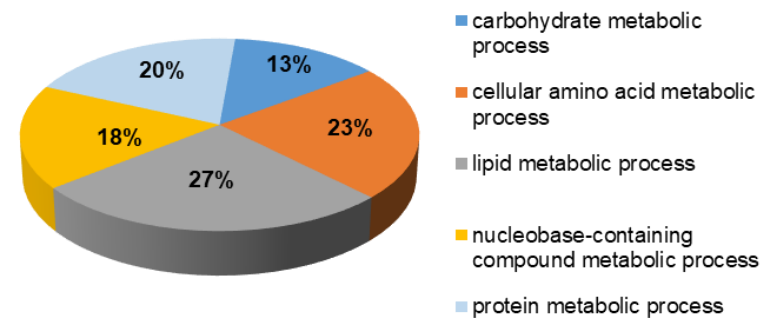


Figure 3: Classification of proteins significantly altered by the O diet vs C using Panther analysis (see M&M section). (A) overall biological processes, (B) Metabolic processes from A were divided into various more specific metabolic processes. (C) Primary metabolic processes from B were divided into carbohydrate, amino acids, lipids, nucleobases and protein metabolic processes

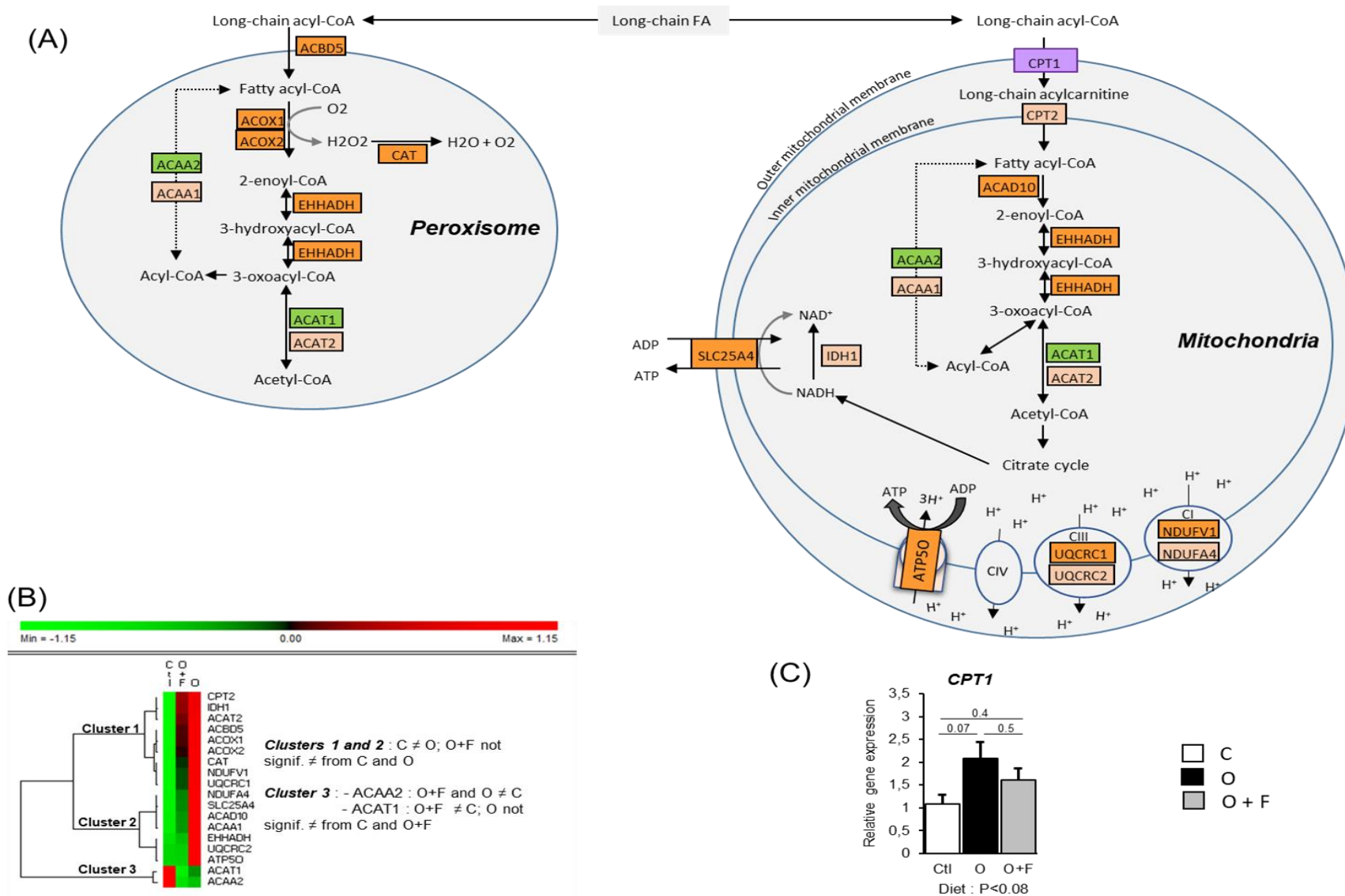


Figure 4: Pathways of lipids degradation and mitochondrial respiratory chain. (A) Proteins in orange are significantly (dark) or tend to be (light) up or down regulated by the O vs C diet. Proteins in green are significantly altered in O+F diet vs C. (B) For sake of clarity, all proteins differentially up and down regulated by the diets are presented using a heat map with hierarchical clustering (Euclidian distance, Ward aggregation). The clustering was performed on 20 values obtained for livers of animals (C: n=6; O+F: n=7; O: n=7). Lowest intensities of proteins are shown in green while maximum intensities are shown in red. (C) mRNA levels for CPT1 gene is presented in purple in the (A) picture. Each value is the mean \pm SEM. mRNA expression values were normalized using Eef1a expressed transcripts and are expressed in AU

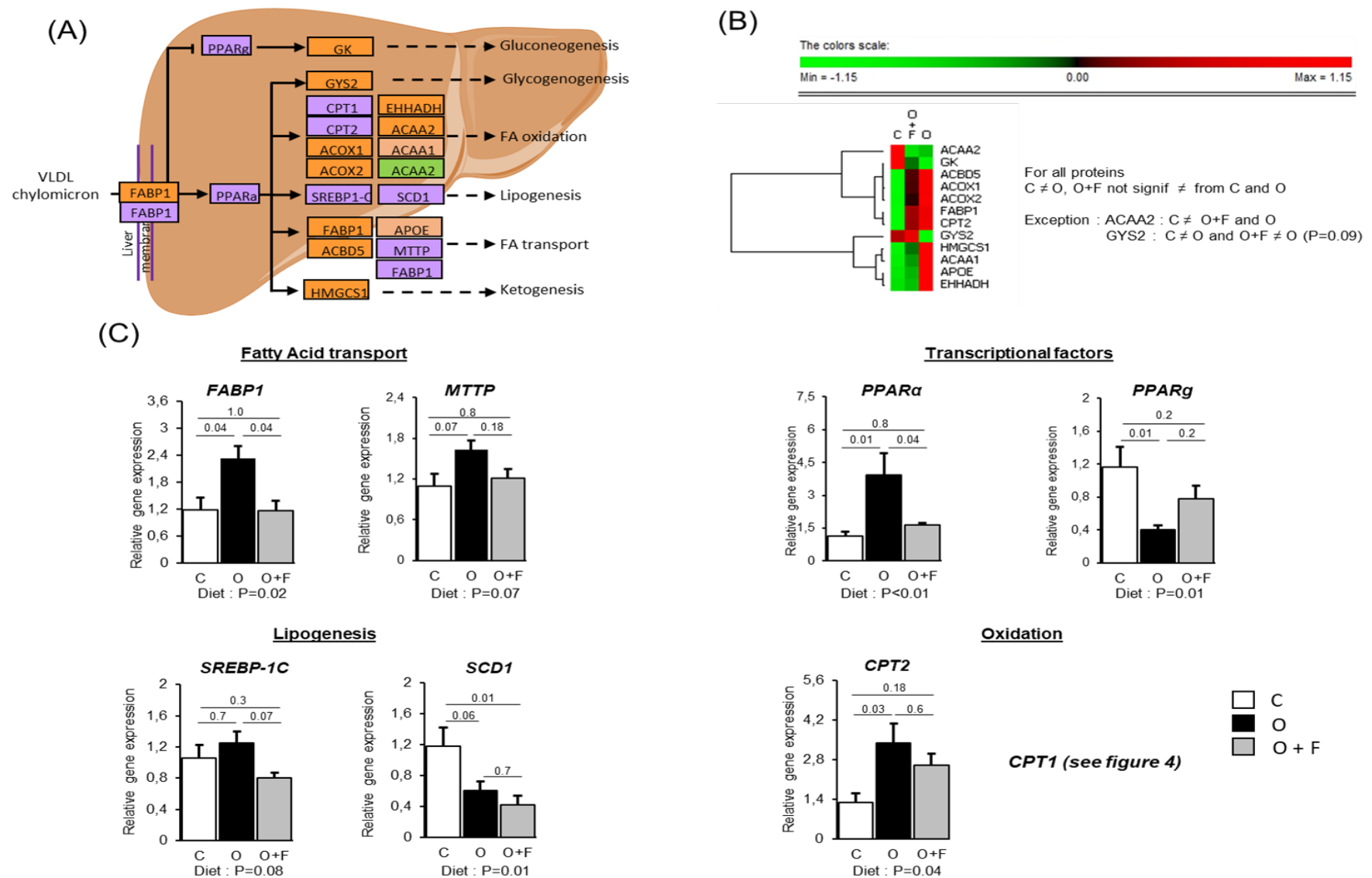


Figure 5: PPAR alpha- regulated energy metabolism pathways. (A) Proteins in orange are significantly (dark) or tend to be (light) up regulated in the O diet vs C. Proteins in green are significantly (dark) or tend to be (light) up or down regulated by the O vs C diet. Proteins in purple are significantly altered in O+F diet vs C. (B) For sake of clarity, all proteins differentially up and down regulated by the diets are presented using a heat map with hierarchical clustering (Euclidian distance, Ward aggregation). The clustering was performed on 20 values for each animal liver. Lowest intensities of proteins are shown in green while maximum intensities are shown in red. (C) mRNA levels for *Fabp1*, *Mtp*, *Ppara*, *Pparg*, *Srebp-1c*, *Scd1* and *Cpt2* genes are presented in purple in the (A) picture. Each value is the mean ± SEM. mRNA expression values were normalized using *Eef1a* expressed transcripts and are expressed in AU.

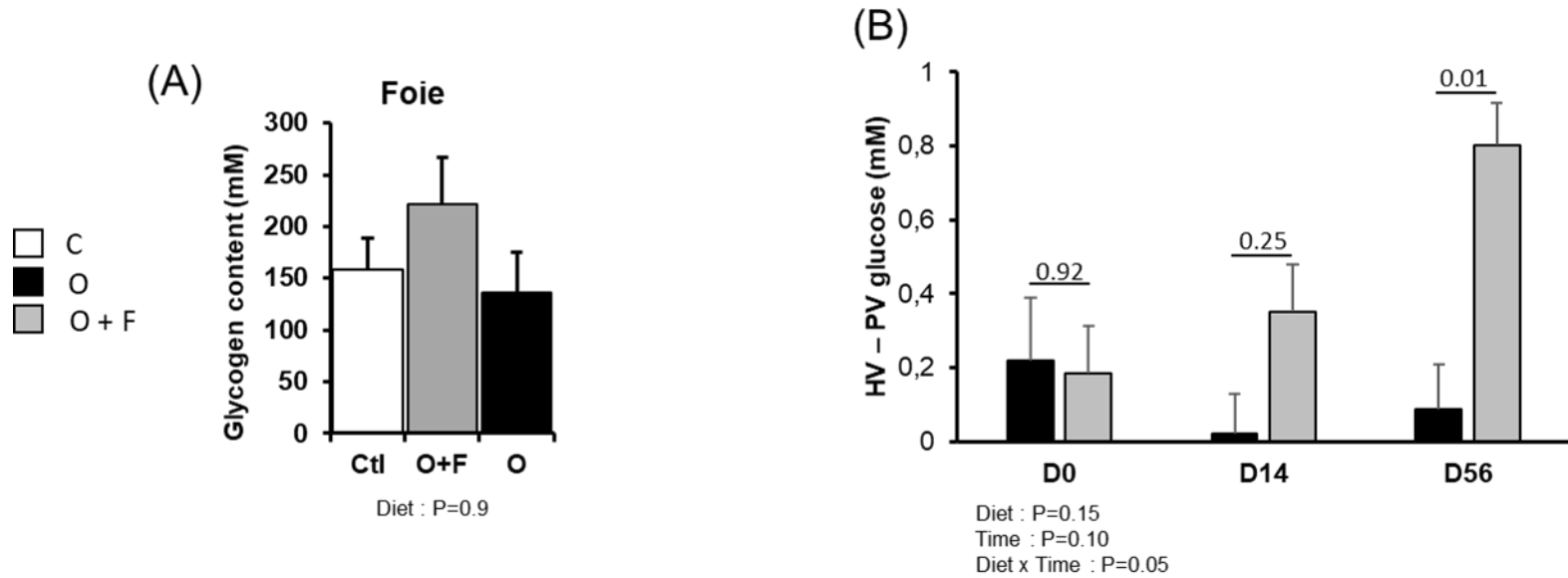


Figure 6: Glucose net export from the liver. (A) glycogen content in the liver of C animals, and after adaptation to 56 days of experimental diet for O and O+F animals. Each value is the mean \pm SEM and were analysed by one-way ANOVA. (B) Difference between glucose concentration in the hepatic vein (HV) and portal vein (PV) (mM) in the fasted state before (D0), 14 days (D14) and 56 days (D56) after adaptation to overnutrition supplemented (O+F) or not (O) with dietary fibers. Data are means \pm SEM and were analysed using 2 ways repeated measured ANOVA

Table 1: Arterial and portal plasma biochemical parameters in mini-pigs in the fasted state before (D1) and after 14 (D14) and 56 days (D56) of adaptation to overfeeding (O) or overfeeding supplemented with fibers mixture (O+F)

Parameters	O				O+F				P value		
	D1	D14	D56	SE M	D1	D14	D56	SEM	Diet effect	Time effect	Diet x Time
Artery											
Glucose (mmol/L)	4.93	5.57	5.26	0.14	5.22	5.15	5.34	0.14	0.93	0.28	0.16
Insuline (µg/L)	0.05	0.15	0.14	0.02	0.09	0.13	0.14	0.02	0.68	0.03	0.54
HOMA-IR	0.26	0.90	0.82	0.12	0.55	0.75	0.85	0.12	0.75	0.04	0.44
Total Cholesterol (mmol/L)	1.87	2.86	2.73	0.09	1.98	3.11	2.85	0.09	0.22	<0.001	0.81
LDL Cholesterol (mmol/L)	0.96	1.25	1.25	0.07	1.02	1.33	1.23	0.07	0.71	<0.001	0.59
HDL Cholesterol (mmol/L)	0.77	1.42	1.35	0.04	0.83	1.56	1.40	0.04	0.15	<0.001	0.78
Free Fatty Acids (mmol/L)	0.17	0.26	0.19	0.02	0.23	0.22	0.22	0.02	0,8	0,18	0,56
Triglycerides (mmol/L)	0.19	0.16	0.26	0.03	0.20	0.27	0.32	0.03	0.20	0.15	0.55
Lactate (mmol/L)	0.42	0.62	0.68	0.02	0.44	0.58	0.72	0.02	0.76	<0.001	0.70
Urea (mmol/L)	4.30	3.78	3.94	0.17	4.15	3.60	3.56	0.18	0.36	0.10	0.90
Acetate (µmol/L)	613	755	679	15	664	658	664	15	0.37	0.11	0.08
Propionate (µmol/L)	20.7	27.4	22.1	0.6	22.6	23.3	20.3	0.6	0.13	0.01	0.11
Butyrate (µmol/L)	2.97	5.45	5.40	0.75	3.15	5.01	2.53	0.75	0.34	0.13	0.37
Leucine (µmol/L)	177	193	211	8	171	183	211	9	0.65	0.01	0.90
Isoleucine (µmol/L)	126	157	144	7	119	157	147	7	0.90	0.004	0.88
Valine (µmol/L)	324	314	362	11	314	313	365	12	0.85	0.04	0.94
Lysine (µmol/L)	166	165	156	8	163	163	177	8	0.62	0.96	0.39
Phenylalanine (µmol/L)	64.1	71.3	77.2	3.4	63.4	65.3	76.7	3.5	0.63	0.005	0.66
Methionine (µmol/L)	22.4	26.8	25.2	1.9	22.9	29.4	25.1	2.0	0.72	0.03	0.77
Threonine (µmol/L)	156	161	166	8	164	164	172	9	0.65	0.57	0.94
Tryptophane (µmol/L)	51.6	53.9	45.8	3.1	49.2	58.3	49.5	3.2	0.68	0.17	0.71
Portal vein											
Acetate (µmol/L)	891	1094	1003	34	969	1232	937	36	0.34	0.007	0.31
Propionate (µmol/L)	204	272	288	19	202 a	413 b	200 a	21	0.55	0.002	0.012
Butyrate (µmol/L)	38.0	54.6	51.2	5.0	41.0 a	88.9 b	32.9 a	5.4	0.40	0.002	0.02
Total SCFA (µmol/L)	1133	1420	1342	55	1212 a	1734 b	1170 a	58	0.37	0.003	0.09

Table 2: Primer sequences used for qRT-PCR

Gene symbol	Primer sequence (Forward)	Primer sequence (Reverse)
<i>Cpt1</i>	GACGAGGACCCCTGATGGTG	CGTGGATCCCAGGAGAATCG
<i>Cpt2</i>	TGGCCAGTTCAGGAAAACAG	CTGGTCGTTGTACTCGGACT
<i>Scd1</i>	AGACATCCGCCCTGAAATGA	AGCAGATAGTAGGCAAACGC
<i>Srebp-1c</i>	AGGCAGCACCTTTGCAGACC	GCGGTAGCGTTTCTCGATGG
<i>Ppara</i>	CAGCAATAACCCGCCTTTCG	ACTTGGCGAACTCCGTGAGC
<i>Pparg</i>	TGTGAAGGATGCAAGGGTTTC	CAACAGCTTCTCCTTCTCAGC
<i>Mttp</i>	TGGGTGGACTTGAAAGAGCA	AGGGGCATCATATCTCTGGAG
<i>Fabp1</i>	GTCGGTCTGCCCGATGAACT	TCTCCCCAGTCATGGTCTCCA

Cpt1, Carnitine O-Palmitoyl transferase 1; *Cpt2*, Carnitine O-Palmitoyl transferase 2; *Ppara*, Peroxisome proliferator-activated receptor alpha; *Pparg*, Peroxisome proliferator-activated receptor gamma; *Scd1*, Stearoyl-CoA desaturase-1; *Srebp-1c*, Sterol regulatory element-binding protein; *Mttp*, Microsomal Triglyceride Transfer Protein; *Fabp1*, Fatty acid binding protein 1

Données supplémentaires

Table 1: Hepatic proteins differentially expressed (fasted state) in mini pigs after 60 days of adaptation to Control (C), overfeeding (O) and overfeeding supplemented with dietary fibers (O+F).

Protein ID	Description	Mascot score	Total peptides	Fold (O+F/C)	Fold (O/C)	Fold (O+F/O)	P-value (O+F/C)	P-value (O/T)	P-value (O+F/O)
F1RZN0	CYP4V2: Cytochrome P450 4V2	317,55	4	+ 1,57	+ 2,12	- 1,35	0,110	0,0007	0,102
Q5S1S4	CA3: Carbonic anhydrase 3	724,15	12	+ 1,69	+ 2,03	- 1,20	0,207	0,0097	0,347
F1RPB0	ACSM2A: Acyl-Coenzyme A Synthetase	575,79	9	+ 1,21	+ 1,41	- 1,17	0,668	0,0733	0,327
F1SB62	ACAT2: Acetyl-CoA Acetyltransferase	237,85	5	+ 1,25	+ 1,40	- 1,12	0,557	0,0599	0,380
A5GFY8	PHGDH D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	598,24	10	+ 1,47	+ 1,96	- 1,33	0,405	0,0054	0,1941
Q95JC8	ARG1: Arginase-1	914,16	13	+ 1,31	+ 1,95	- 1,49	0,264	0,0019	0,069
P00371	DAO: D-amino-acid oxidase	382,93	8	+ 1,30	+ 1,78	- 1,37	0,609	0,0042	0,094
O46420	CYP51A1: Lanosterol 14-alpha demethylase	140,11	4	+ 1,29	+ 1,67	- 1,30	0,359	0,0015	0,111
I3L5K3	HSD17B13: 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 13	316,64	5	+ 1,51	+ 1,63	- 1,08	0,329	0,0173	0,475
F1SSI2	DHRS7: Dehydrogenase/reductase SDR family member 7	298,58	5	+ 1,51	+ 1,62	- 1,08	0,134	0,0050	0,422
Q8MIR0	TDH: L-threonine 3-dehydrogenase	409,87	5	+ 1,28	+ 1,60	- 1,26	0,395	0,0083	0,216
A5GFQ6	GNMT: Glycine N-methyltransferase	292,87	6	+ 1,22	+ 1,57	- 1,28	0,574	0,0024	0,1130
F1RHC1	CYP2A19: cytochrome P450 2A19	707,01	12	+ 1,18	+ 1,52	- 1,28	0,504	0,0016	0,0674
F1S6P3	urah: 5-hydroxyisourate hydrolase	174,25	3	+ 1,28	+ 1,51	- 1,17	0,281	0,0092	0,279
F1S764	ACAT: Carnitine O-Palmitoyltransferase 2	645,94	11	+ 1,36	+ 1,51	- 1,11	0,185	0,0540	0,618
I3LGJ8	LSS: Lanosterol synthase	209,3	3	+ 1,46	+ 1,50	- 1,03	0,274	0,0110	0,557
F1SJ26	CYP1A2: Cytochrome P450 1A2	226,69	6	+ 1,28	+ 1,50	- 1,18	0,477	0,0222	0,260
F1SMG8	HMGCS1: Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	153,39	3	+ 1,19	+ 1,50	- 1,26	0,504	0,0283	0,159
F1S0V3	ANXA6: Annexin A6	1309,05	21	+ 1,26	+ 1,48	- 1,17	0,559	0,0060	0,233
F1RFD0	SEC14L2: SEC14-like protein 2	330,11	7	+ 1,38	+ 1,48	- 1,07	0,363	0,0240	0,5200
P49924	FABP1: Fatty acid-binding protein	489,42	6	+ 1,34	+ 1,47	- 1,09	0,465	0,0211	0,378
F1SQR6	AMDHD1: Amidohydrolase Domain Containing 1	304,11	6	+ 1,30	+ 1,47	- 1,13	0,405	0,0243	0,367
F1SA24	RDH11: Retinol dehydrogenase 11	272,41	5	+ 1,29	+ 1,45	- 1,12	0,423	0,0063	0,349
F1RJH8	ASL: Argininosuccinate lyase	1042,37	15	+ 1,27	+ 1,45	- 1,14	0,382	0,0080	0,2835
Q9TSX9	PRDX6: Peroxiredoxin-6	1016,49	13	+ 1,29	+ 1,42	- 1,11	0,338	0,0012	0,339
Q8HXW0	GULO : L-gulonolactone oxidase	258,61	6	+ 1,28	+ 1,41	- 1,1	0,284	0,0196	0,420
F1S8V3	Cyp2c23 : cytochrome P450 2C23	821,97	14	+ 1,26	+ 1,41	- 1,11	0,362	0,0219	0,425
F1RXT2	HDAC10 : Histone deacetylase 10	112,91	2	+ 1,31	+ 1,41	- 1,08	0,298	0,0312	0,536
F1ST73	GRHPR : Glyoxylate and hydroxypyruvate reductase	386,4	5	+ 1,21	+ 1,40	- 1,16	0,561	0,0028	0,229
I3L7C2	LSS : Lanosterol synthase	246,14	4	+ 1,22	+ 1,40	- 1,14	0,379	0,0045	0,236
F1RL81	HSD17B14 : 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 14	306,06	4	+ 1,21	+ 1,40	- 1,15	0,434	0,0129	0,286
F1SHW5	AGXT : Serine--pyruvate aminotransferase	315,72	5	+ 1,10	+ 1,40	- 1,54	0,478	0,0518	0,016
P79381	EPHX1 : Epoxide hydrolase 1	1104,61	18	+ 1,21	+ 1,39	- 1,15	0,431	0,0063	0,275
I3LL15	UOX : Uricase	305,35	7	+ 1,19	+ 1,39	- 1,17	0,316	0,0070	0,228
F1S0V2	ANXA6 : Annexin A6	256,37	3	+ 1,20	+ 1,38	- 1,15	0,623	0,0258	0,295
F1S604	GSTM2 : Glutathione S-Transferase Mu 4	282,4	5	+ 1,17	+ 1,38	- 1,18	0,458	0,0507	0,291
I3LGP0	Ddx1 : Atp-Dependent Rna Helicase	94,09	2	+ 1,09	+ 1,38	- 1,26	0,592	0,0644	0,188
F1RMH5	UROC1 : Uncharacterized protein	777,41	14	+ 1,20	+ 1,37	- 1,14	0,523	0,0004	0,239
F1SUB1	PCBD1 : Pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase	227,35	4	+ 1,28	+ 1,37	- 1,07	0,644	0,0064	0,407
I3L688	GBE1 : 1,4-alpha-glucan-branching enzyme	234,03	4	+ 1,25	+ 1,37	- 1,09	0,358	0,0410	0,481
F1RVZ1	ACOX1 : Acyl-coenzyme A oxidase	519,76	8	+ 1,21	+ 1,37	- 1,14	0,609	0,0429	0,316
I3LKI5	DHCR7 : 7-dehydrocholesterol reductase	102,26	2	+ 1,08	+ 1,36	- 1,26	0,999	0,0047	0,105
I3LVF1	HAO1 : Hydroxyacid Oxidase 1	1051,08	13	+ 1,18	+ 1,36	- 1,15	0,527	0,0143	0,247
F1RVN1	NDUFV1 : NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1	130,66	2	+ 1,16	+ 1,35	- 1,17	0,526	0,0012	0,178
P16549	FMO1 : Dimethylaniline monooxygenase	1313,01	18	+ 1,18	+ 1,35	- 1,13	0,499	0,0058	0,255
F1SGH9	ACOX2 : Acyl-coenzyme A oxidase 2	310,3	5	+ 1,19	+ 1,35	- 1,14	0,626	0,0122	0,265
I3LQ57	PTER : Phosphotriesterase related	181,81	3	+ 1,22	+ 1,35	- 1,11	0,583	0,0211	0,342
O46658	CYP2D25 : Vitamin D(3) 25-hydroxylase	1588,09	22	+ 1,29	+ 1,35	- 1,05	0,385	0,0394	0,588
I3LB27	UDP-glucuronosyltransferase	961,08	14	+ 1,25	+ 1,34	- 1,08	0,520	0,0132	0,401
I3LUV4	UGT2A1 : UDP-glucuronosyltransferase 2A1	609,82	8	+ 1,17	+ 1,33	- 1,13	0,467	0,0031	0,257
I3LEB7	PODN : Podocan	173,82	4	+ 1,14	+ 1,33	- 1,17	0,862	0,0040	0,212
I3L6X2	AADACL : arylacetamide deacetylase-like	543,92	6	+ 1,18	+ 1,33	- 1,13	0,520	0,0042	0,283
F1RUH7	TPMT : Thiopurine S-methyltransferase	120,8	2	+ 1,16	+ 1,33	- 1,14	0,279	0,0094	0,183
I3LLT5	SUOX : Sulfite oxidase	76,88	2	+ 1,23	+ 1,33	- 1,09	0,020	0,0098	0,446
F1RQL3	BCKDHB : branched chain keto acid dehydrogenase	156,89	2	+ 1,17	+ 1,33	- 1,14	0,335	0,0103	0,194
F1SM17	UGT1A6 : Udp-Glucuronosyltransferase	813,87	13	+ 1,30	+ 1,33	- 1,03	0,217	0,0571	0,721
P12026	ACBD1 : Acyl-Coa-Binding Protein	225,21	3	+ 1,33	+ 1,33	- 1,00	0,477	0,0882	0,655
F1SIJ9	PSAT1 : Phosphoserine aminotransferase	401,26	5	+ 1,21	+ 1,32	- 1,09	0,426	0,0153	0,420
I3LAK4	PKLR : Pyruvate kinase	752,14	12	+ 1,19	+ 1,32	- 1,10	0,386	0,0210	0,348
I3LJ68	UDP-glucuronosyltransferase	870,93	13	+ 1,11	+ 1,32	- 1,19	0,709	0,0375	0,235
F1SGS9	CAT : Catalase	1930,32	23	+ 1,15	+ 1,32	- 1,15	0,671	0,0410	0,320
F1SM81	TTC38 : Tetratricopeptide repeat protein 38	335,58	7	+ 1,16	+ 1,31	- 1,13	0,535	0,0014	0,271
P00503	GOT1 : Aspartate aminotransferase	1210,72	15	+ 1,10	+ 1,31	- 1,19	0,701	0,0048	0,143

F1SEC3	KHK :Ketoheksokinase	379,64	5	+ 1,14	+ 1,31	- 1,15	0,531	0,0133	0,221
I3LDY2	IDII : isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase 1	236,45	4	+ 1,05	+ 1,31	- 1,24	0,947	0,0232	0,108
I3LK75	QPRT : Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase	344,27	6	+ 1,16	+ 1,30	- 1,12	0,560	0,0020	0,290
F1S4R1	RMDN2 : Regulator of microtubule dynamics protein 2	158,91	2	+ 1,15	+ 1,30	- 1,13	0,277	0,0025	0,143
F1RZQ6	SLC25A4 : ADP/ATP translocase 1	610,17	11	+ 1,10	+ 1,30	- 1,18	0,825	0,0049	0,166
I3LBU0	UDP-glucuronosyltransferase	594,4	11	+ 1,21	+ 1,30	- 1,08	0,417	0,0072	0,424
I3LTZ3	HGD : Homogentisate 1,2-dioxygenase	408,3	7	+ 1,15	+ 1,30	- 1,13	0,533	0,0132	0,294
F1SSB5	ALDOB5 : Fructose-bisphosphate aldolase B	818,02	9	+ 1,13	+ 1,30	- 1,15	0,778	0,0146	0,240
F1S5N0	XPNPEP1 : X-prolyl aminopeptidase 1	66,98	2	+ 1,24	+ 1,30	- 1,05	0,315	0,0163	0,500
Q6IM70	RTN4 : Reticulon-4	245,7	5	+ 1,20	+ 1,30	- 1,08	0,431	0,0635	0,517
F1S2D0	NSDHL : NAD(P) dependent steroid dehydrogenase-like	170,62	3	+ 1,11	+ 1,29	- 1,16	0,572	0,0058	0,162
F1RL48	ACAD10 : Acyl-CoA dehydrogenase family member 10	124,79	2	+ 1,10	+ 1,29	- 1,19	0,809	0,0081	0,155
F1SKM0	UQCRC1 : Ubiquinol-cytochrome c reductase core protein I	291,05	4	+ 1,13	+ 1,29	- 1,14	0,584	0,0111	0,201
F1RW28	HSD17B13 : 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 13	732,72	10	+ 1,12	+ 1,29	- 1,15	0,760	0,0445	0,320
F1SDC7	ALDH3A2 : Aldehyde Dehydrogenase 3 Family Member A2	334,26	6	+ 1,12	+ 1,28	- 1,15	0,613	0,0000	0,170
F1SGQ0	DHRS1 : Dehydrogenase/reductase SDR family member 1	448,57	4	+ 1,10	+ 1,28	- 1,16	0,651	0,0026	0,160
F1SJR7	TLL12 : Tubulin--tyrosine ligase-like protein 12	148,99	3	+ 1,22	+ 1,28	- 1,04	0,125	0,0045	0,524
F1RWY0	RGN : Regucalcin	679,67	7	+ 1,14	+ 1,28	- 1,12	0,580	0,0088	0,286
F1SSB4	ALDOB4 : Fructose-bisphosphate aldolase B	300,08	5	+ 1,10	+ 1,28	- 1,16	0,827	0,0134	0,199
F1RUQ6	UGT2A3 : UDP-glucuronosyltransferase 2A3	510,12	9	+ 1,28	+ 1,28	- 1,05	0,346	0,0188	0,527
Q19QT7	CTH : Cystathionine gamma-lyase	756,97	13	+ 1,12	+ 1,28	- 1,14	0,767	0,0392	0,287
I3LFI3	NDRG2 : Protein Ndr2	298,72	4	+ 1,17	+ 1,28	- 1,08	0,683	0,0637	0,420
F1RYV6	AKR1C3 : Aldo-keto reductase family 1 member C3	799,93	11	+ 1,13	+ 1,27	- 1,13	0,734	0,0000	0,253
F1RQU7	TM7SF2 : Transmembrane 7 superfamily member 2	122,08	2	+ 1,21	+ 1,27	- 1,06	0,504	0,0095	0,472
I3L5I9	PAH : Phenylalanine-4-hydroxylase	214,08	3	+ 1,10	+ 1,27	- 1,2	0,926	0,0117	0,139
F1RVK3	ACBD5 : Acyl-CoA-binding domain-containing protein	174,85	3	+ 1,15	+ 1,27	- 1,10	0,431	0,0302	0,337
Q4FAT7	GUSB : Beta-Glucuronidase	394,98	7	+ 1,31	+ 1,27	- 1,03	0,310	0,0788	0,864
F1RIS8	MVK : Mevalonate kinase	341,66	3	+ 1,03	+ 1,26	- 1,22	0,963	0,0143	0,0941
I3LDC7	IDH1 : Isocitrate Dehydrogenase [Nadp]	840,16	13	+ 1,18	+ 1,26	- 1,07	0,511	0,0552	0,533
F1S285	COL14A1 : Collagen type XIV alpha 1 chain	130,24	2	+ 1,20	+ 1,26	- 1,04	0,090	0,1711	0,914
P37111	ACY1 : Aminoacylase-1	748,05	13	+ 1,03	+ 1,25	- 1,13	0,664	0,0087	0,228
F1RNR6	HPD : 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	842,4	13	+ 1,10	+ 1,25	- 1,15	0,754	0,0232	0,233
I3L8S3	CMBL : Carboxymethylenebutenolidase homolog	161,88	4	+ 1,10	+ 1,25	- 1,17	0,767	0,0352	0,201
I3LRS5	ALDH1A1 : Retinal Dehydrogenase 1	406,46	5	+ 1,12	+ 1,25	- 1,11	0,828	0,0566	0,377
F1SFA1	PON1 : Paraoxonase 1	67,57	2	- 1,05	+ 1,25	- 1,31	0,683	0,0962	0,0689
I3LLB6	ASGR1 : Asialoglycoprotein receptor 1	195,21	4	+ 1,22	+ 1,24	- 1,02	0,338	0,0427	0,677
I3LC92	ENOSF1 : Enolase superfamily member 1	307,78	5	+ 1,04	+ 1,24	- 1,19	0,839	0,0483	0,153
F1SSF5	BLVRA : Biliverdin Reductase A	185,84	3	+ 1,13	+ 1,24	- 1,1	0,628	0,0678	0,388
F1S3I9	ACOT4 : Acyl-coenzyme A thioesterase 4	104,68	2	+ 1,06	+ 1,23	- 1,17	0,947	0,0009	0,151
I3LJ48	EHHADH : Enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase	542,41	6	+ 1,03	+ 1,23	- 1,20	0,868	0,0098	0,146
F1SL74	SHMT2 : Serine hydroxymethyltransferase	212,04	3	+ 1,02	+ 1,23	- 1,25	0,695	0,0130	0,080
P00636	FBP1 : Fructose-1,6-bisphosphatase	1095,88	12	+ 1,07	+ 1,23	- 1,15	0,871	0,0210	0,225
F1RT00	DDO : D-aspartate oxidase	94,28	2	+ 1,03	+ 1,23	- 1,2	0,963	0,0471	0,134
F1RRB3	XYLB : Xylulose Kinase	182,25	2	+ 1,18	+ 1,23	- 1,04	0,308	0,0554	0,610
I3LK59	ENO1 : Alpha-Enolase	937,9	12	+ 1,11	+ 1,23	- 1,11	0,715	0,0830	0,349
Q9N1F5	GSTO1 : Glutathione S-transferase omega-1	404,18	8	+ 1,09	+ 1,22	- 1,12	0,947	0,0015	0,268
F1RUQ8	UDP-glucuronosyltransferase	999,86	17	+ 1,09	+ 1,22	- 1,13	0,810	0,0030	0,236
E7D6R2	Bhmt : Betaine homocysteine methyltransferase	1031,3	16	+ 1,03	+ 1,22	- 1,18	0,916	0,0217	0,1736
F1SE16	NAT2 : Arylamine N-acetyltransferase 2	173,08	4	+ 1,22	+ 1,22	- 1,00	0,099	0,0414	0,903
I3LEF8	HSD17B4 : Dehydrogenases, Short Chain	1046,32	14	+ 1,15	+ 1,22	- 1,06	0,671	0,0585	0,498
A5GFX7	CTSZ : Cathepsin Z	87,67	2	+ 1,03	+ 1,22	- 1,19	0,969	0,0624	0,1428
Q5S1U1	HSPB1 : Heat Shock Protein Beta-1	467,91	7	+ 1,08	+ 1,22	- 1,13	0,862	0,0680	0,299
F1S814	PGM1 : Phosphoglucomutase-1	1180,44	19	+ 1,15	+ 1,22	- 1,06	0,582	0,0753	0,528
F1SS25	ATIC : Bifunctional Purine Biosynthesis Protein Purh	307,63	5	+ 1,06	+ 1,22	- 1,15	0,799	0,0852	0,268
I3LDH7	FTCD : Formimidoyltransferase-Cyclodeaminase	974,53	13	+ 1,10	+ 1,22	- 1,10	0,808	0,0870	0,367
P04175	POR : NADPH-Cytochrome P450 Reductase	730,67	11	+ 1,29	+ 1,22	- 1,00	0,343	0,0897	0,782
I3LNB4	ALDH4A1 : Aldehyde Dehydrogenase 4 Family Member A1	579,71	11	+ 1,09	+ 1,21	- 1,12	0,786	0,0120	0,274
F1S9C9	PSMB5 : Proteasome subunit beta type 5	166,59	2	+ 1,06	+ 1,21	- 1,14	0,940	0,0257	0,243
F1RJM2	ERP29 : Endoplasmic reticulum resident protein 29	238,02	4	+ 1,06	+ 1,21	- 1,15	0,890	0,0395	0,2273
F1RPD2	UQCRC2 : Ubiquinol-cytochrome c reductase core protein II	399,46	7	+ 1,01	+ 1,21	- 1,2	0,884	0,0618	0,126
I3LIJ3	AKR1D1 : Aldo-keto reductase family 1 member D1	163,73	2	+ 1,02	+ 1,20	- 1,18	0,779	0,0072	0,166

F1RU52	DPP3 : Dipeptidyl peptidase 3	486,71	7	+ 1,11	+ 1,20	- 1,08	0,399	0,0162	0,340
F1SNJ5	AKR1D1 : Aldo-keto reductase family 1 member D1	277,58	4	+ 1,00	+ 1,20	- 1,2	0,736	0,0240	0,136
F1SUP1	AKR7A2 : Aflatoxin B1 aldehyde reductase member 2	283,91	4	+ 1,08	+ 1,20	- 1,11	0,723	0,0252	0,307
Q8MIR4	COASY : Bifunctional coenzyme A synthase	244,49	4	+ 1,08	+ 1,20	- 1,11	0,599	0,0431	0,294
F1RJS3	EPHX2 : Bifunctional epoxide hydrolase 2	534,22	9	+ 1,07	+ 1,20	- 1,12	0,865	0,0439	0,2927
F1SU52	FAHD2A : Fumarylacetoacetate Hydrolase Domain-Containing Protein 2a	507,66	7	+ 1,13	+ 1,20	- 1,06	0,473	0,0751	0,497
F1S3H1	ALDH6A1 : Aldehyde dehydrogenase 6 family member A1	863,37	15	+ 1,05	+ 1,19	- 1,13	0,954	0,0338	0,253
F1RZV7	GCLC : Glutamate--cysteine ligase catalytic subunit	244,88	5	+ 1,11	+ 1,19	- 1,08	0,241	0,0363	0,298
I3L6Z6	INMT : Indoethylamine N-Methyltransferase	202,24	2	+ 1,03	+ 1,19	- 1,16	0,987	0,0597	0,183
I3L7R0	EHD3 : EH domain-containing protein 3	205,31	3	+ 1,00	+ 1,18	- 1,18	0,825	0,0054	0,058
Q2EN81	ATP5O : Atp Synthase Subunit O	299,32	5	+ 1,00	+ 1,18	- 1,18	0,752	0,0500	0,184
F1RRB7	ACAA1 : Acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1	680,47	8	+ 1,05	+ 1,18	- 1,13	1,000	0,0763	0,283
F1RM45	APOE : Apolipoprotein E	620,68	9	+ 1,03	+ 1,18	- 1,14	0,996	0,0858	0,227
F1RLB6	NAPA : Alpha-Soluble Nsf Attachment Protein	191,7	3	+ 1,13	+ 1,18	- 1,03	0,621	0,0887	0,574
Q7SIB7	PGK1 : Phosphoglycerate kinase	566,76	7	+ 1,02	+ 1,17	- 1,15	0,872	0,0248	0,204
A8U4R4	TKT : Transketolase	234,48	4	+ 1,01	+ 1,17	- 1,16	0,981	0,0710	0,0983
F1RPY1	ATL3 : Atlantin-3	294,8	6	+ 1,11	+ 1,17	- 1,06	0,374	0,0817	0,507
F1SKL8	GCAT : Glycine C-acetyltransferase	240,14	3	+ 1,12	+ 1,16	- 1,04	0,529	0,0477	0,584
F1RKM1	ALDH7A1 : Aldehyde dehydrogenase 7 family member A1	376,82	6	+ 1,02	+ 1,14	- 1,12	0,941	0,0144	0,203
A1XQS3	NDUFA4 :NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 subunit C2	106,6	3	+ 1,05	+ 1,14	- 1,09	0,766	0,0613	0,2979
Q5G6V9	CFL2 : Cofilin-2	222,02	4	- 1,16	+ 1,05	- 1,22	0,044	0,8639	0,159
A1YIZ1	SEPHS2 : Selenide, water dikinase	55,2	2	- 1,15	+ 1,04	- 1,2	0,247	0,5789	0,045
A7Y521	COPS4 : COP9 signalosome complex subunit	103,62	2	- 1,15	+ 1,03	- 1,19	0,059	0,8742	0,122
I3LSY0	ACSM4 : Acyl-CoA synthetase medium chain family member 4	692,56	11	- 1,18	- 1,05	- 1,12	0,080	0,4702	0,331
F2Z5H9	HNRNPH1 : Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	375,46	4	- 1,14	- 1,09	- 1,05	0,074	0,1436	0,485
F1RFF5	NIPSNAP1 : Protein NipSnap homolog 1	264,77	5	- 1,27	- 1,15	- 1,10	0,077	0,3064	0,651
F1RJN4	TBL2 : Transducin beta-like protein 2	94,89	2	- 1,12	- 1,20	+ 1,0 7	0,128	0,0221	0,0945
I3LP02	ACAT1 : acetyltransferase	534,25	8	- 1,32	- 1,20	- 1,10	0,068	0,1928	0,331
F1RYT3	SCARB2 : Lysosome Membrane Protein 2	199,24	4	- 1,23	- 1,22	- 1,01	0,104	0,0813	0,838
F1RF50	DMGDH : Dimethylglycine Dehydrogenase	1448,63	22	- 1,16	- 1,23	+ 1,06	0,282	0,0885	0,9265
I3L6Y6	AP2B1 : AP complex subunit beta	464,77	6	- 1,23	- 1,24	+ 1,01	0,068	0,0860	0,896
F1SK65	GBE1 : 1,4-Alpha-Glucan Branching Enzyme 1	318,94	6	- 1,11	- 1,25	- 1,13	0,688	0,0606	0,323
F1RHN3	COMT : Catechol O-methyltransferase	550,75	7	- 1,10	- 1,26	- 1,15	0,697	0,0255	0,2399
F2Z5S7	COPZ1 : Coatomer Subunit Zeta-1	109,29	2	- 1,11	- 1,26	+ 1,13	0,391	0,0535	0,400
F1RFC6	SEC14L3 : SEC14-like protein 3	574,23	7	- 1,15	- 1,27	- 1,11	0,449	0,0102	0,2906
F1SPV0	GK : glycerol kinase	292,53	4	- 1,15	- 1,27	+ 1,10	0,159	0,0171	0,262
F1SAD9	PDIA4 : Protein Disulfide-Isomerase A4	1167,98	18	- 1,17	- 1,27	+ 1,09	0,282	0,0627	0,557
F1RVY7	GALK1 : Galactokinase	182,09	2	- 1,26	- 1,27	+ 1,01	0,069	0,0881	0,853
P20305	GSN : Gelsolin	402,02	6	- 1,06	- 1,29	+ 1,17	0,452	0,0646	0,076
F1RLH1	PRODH2 : Proline dehydrogenase	194,47	3	- 1,25	- 1,29	+ 1,03	0,046	0,1249	0,649
I3LD43	LAP3 : Cytosol aminopeptidase	434,84	7	- 1,26	- 1,30	+ 1,03	0,024	0,0626	0,680
F1RVJ6	THNSL1 : Threonine synthase-like 1	157,7	3	- 1,34	- 1,31	- 1,03	0,037	0,0629	0,788
F1RH60	AP2A1 : Ap-2 Complex Subunit Alpha-1	269,19	4	- 1,10	- 1,31	+ 1,19	0,314	0,0752	0,1462
I3LEW5	PSMD2 : 26s Proteasome Non-Atpase Regulatory Subunit 2	364,87	6	- 1,13	- 1,31	+ 1,15	0,170	0,0782	0,264
F1SFA2	PON2 : Paraoxonase 2	138,05	2	- 1,16	- 1,34	- 1,16	0,365	0,0094	0,206
F1SNA8	HSDL2 : Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2	498,83	9	- 1,37	- 1,35	- 1,01	0,017	0,0562	0,938
F1RKQ4	TKFC : Triokinase/FMN cyclase	1524,45	16	- 1,27	- 1,37	- 1,08	0,506	0,0426	0,453
Q8WNV7	DHRS4 : Dehydrogenase/reductase SDR family member 4	231,39	4	- 1,28	- 1,38	+ 1,08	0,095	0,0351	0,520
F1S5A9	GBA3 : Cytosolic beta-glucosidase 3	106,01	2	- 1,28	- 1,41	- 1,1	0,406	0,0438	0,399
D0G0B3	ACAA2 : Acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2	865,66	12	- 1,50	- 1,42	- 1,06	0,011	0,0117	0,6495
F1S431	AARS : Alanine--Trna Ligase	108,44	3	- 1,11	- 1,42	+ 1,27	0,423	0,0738	0,181
F1S5Z3	SARS : Serine--Trna Ligase	188,86	2	- 1,17	- 1,44	+ 1,23	0,322	0,0872	0,342
Q2VTP6	FKBP1A : Peptidylprolyl Isomerase	160,91	3	- 1,24	- 1,46	+ 1,18	0,260	0,0554	0,393
F1RQW6	CFB : Complement factor B	399,57	7	- 1,19	- 1,49	+ 1,25	0,269	0,0128	0,083
Q2EN77	MGST3 : Microsomal glutathione S-transferase 3	248	3	- 1,00	- 1,50	+ 1,51	0,927	0,1031	0,059
P06867	PLG : Plasminogen	196,62	4	- 1,28	- 1,55	+ 1,21	0,183	0,0171	0,154
F1RUV5	PC : Pyruvate carboxylase	829,4	13	- 1,31	- 1,55	+ 1,18	0,113	0,0234	0,386
F1S1W8	SERPING1 : Plasma protease C1 inhibitor	170,57	3	- 1,53	- 1,55	+ 1,01	0,064	0,0444	0,942
K7GKE7/Q8SPS7	HP : Haptoglobin	486,46	8	- 1,35	- 1,57	+ 1,17	0,264	0,0735	0,356
F1S848	NT5C2 : 5'-nucleotidase, cytosolic II	103,36	2	- 1,33	- 1,60	+ 1,20	0,085	0,0273	0,383
F1RUV6	PC : Pyruvate carboxylase	408,25	7	- 1,33	- 1,61	+ 1,21	0,064	0,0119	0,287
F1SR04	GYS2 : Glycogen [starch] synthase	174,93	4	- 1,10	- 1,65	+ 1,82	0,949	0,0864	0,087
F1RK02	LCP1 : Plastin-2	666,61	13	- 1,53	- 1,67	+ 1,10	0,139	0,0605	0,548

F1S0J2	C4BPA : C4b-binding protein alpha chain	108,04	3	- 1,32	- 1,68	+ 1,27	0,250	0,0322	0,152
I3L818	SERPINF2 : Alpha-2-antiplasmin	122,86	3	- 1,86	- 1,68	- 1,11	0,016	0,0784	0,960
I3LLP5	GIMAP4 : GTPase, IMAP family member 4	90,89	2	- 1,56	- 1,71	+ 1,09	0,103	0,0414	0,638
P01025	C3 : Complement C3	449,92	8	- 1,38	- 1,72	+ 1,25	0,097	0,0060	0,163
Q6S4N2	HSPA1B : Heat shock 70 kDa protein 1B	841,68	10	- 1,47	- 1,74	+ 1,18	0,117	0,0168	0,175
I3LQ17	PZP : Pregnancy Zone Protein	1055,65	17	- 1,47	- 1,80	+ 1,22	0,137	0,0611	0,240
F1RX36	FGA : Fibrinogen Alpha Chain	622,29	9	- 1,56	- 1,81	+ 1,16	0,190	0,0724	0,456
F1STC5	IGKC : Glyoxylate and hydroxypyruvate reductase	254,87	3	- 1,46	- 1,82	+ 1,25	0,102	0,0126	0,183
K7GQB8	CP : Ceruloplasmin	559,35	9	- 1,35	- 1,85	+ 1,36	0,258	0,0453	0,157
F1RX35	FGG : Fibrinogen gamma chain	899,09	14	- 1,60	- 1,86	+ 1,17	0,100	0,0273	0,393
F1RX37	FGB : Fibrinogen beta chain	863,26	11	- 1,61	- 1,87	+ 1,16	0,160	0,0588	0,524
F1SPN1	FKBP11 : Peptidylprolyl isomerase	164,15	3	- 1,15	- 1,89	+ 1,64	0,681	0,0460	0,054
A0A0A0M Y58	IGLC2 : Immunoglobulin Lambda Constant 2	345,72	3	- 1,57	- 1,89	+ 1,20	0,210	0,0602	0,2042
F1SUW3	EFHD2 : EF-hand domain family member D2	72,62	2	- 1,50	- 1,98	+ 1,33	0,050	0,0047	0,269
K7GQ48	A2M : Alpha-2-macroglobulin	2497,84	36	- 1,56	- 2,14	+ 1,38	0,154	0,0183	0,096
F1SPP8	CKAP4 : Cytoskeleton-associated protein 4	209,75	4	- 1,67	- 2,15	+ 1,28	0,044	0,0019	0,304
I3LTB8	C3 : Complement C3	339,89	5	- 1,51	- 2,16	+ 1,43	0,121	0,0166	0,207
F1SCF0	SERPINA1 : Alpha-1-antitrypsin	166,47	3	- 1,50	- 2,23	+ 1,49	0,218	0,0453	0,257
F1RJ76	CRP : Pentaxin	180,88	3	- 1,77	- 2,44	+ 1,38	0,115	0,0185	0,2664
F1SME1	C5 : Complement C5a Anaphylatoxin	124,2	2	- 1,50	- 2,47	+ 1,64	0,443	0,0797	0,160
F1SB60	SOD2 : Superoxide dismutase	621,71	7	- 1,82	- 2,54	+ 1,40	0,076	0,0037	0,172
F1SCC7	SERPINA3	368,76	6	- 2,01	- 2,54	+ 1,26	0,092	0,0253	0,377
F1SCC6	serpin A3-8	846,31	10	- 1,83	- 2,63	+ 1,43	0,081	0,0054	0,392
F1SH92	ITIH4 : Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	889,94	13	- 2,16	- 3,87	+ 1,79	0,066	0,0019	0,223
P79263	ITIH4 : Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	1065,49	17	- 2,16	- 5,75	+ 2,66	0,076	0,0005	0,095

Confidence score: P-values were obtained one-factor ANOVA calculation, generated from Progenesis QI nonlinear

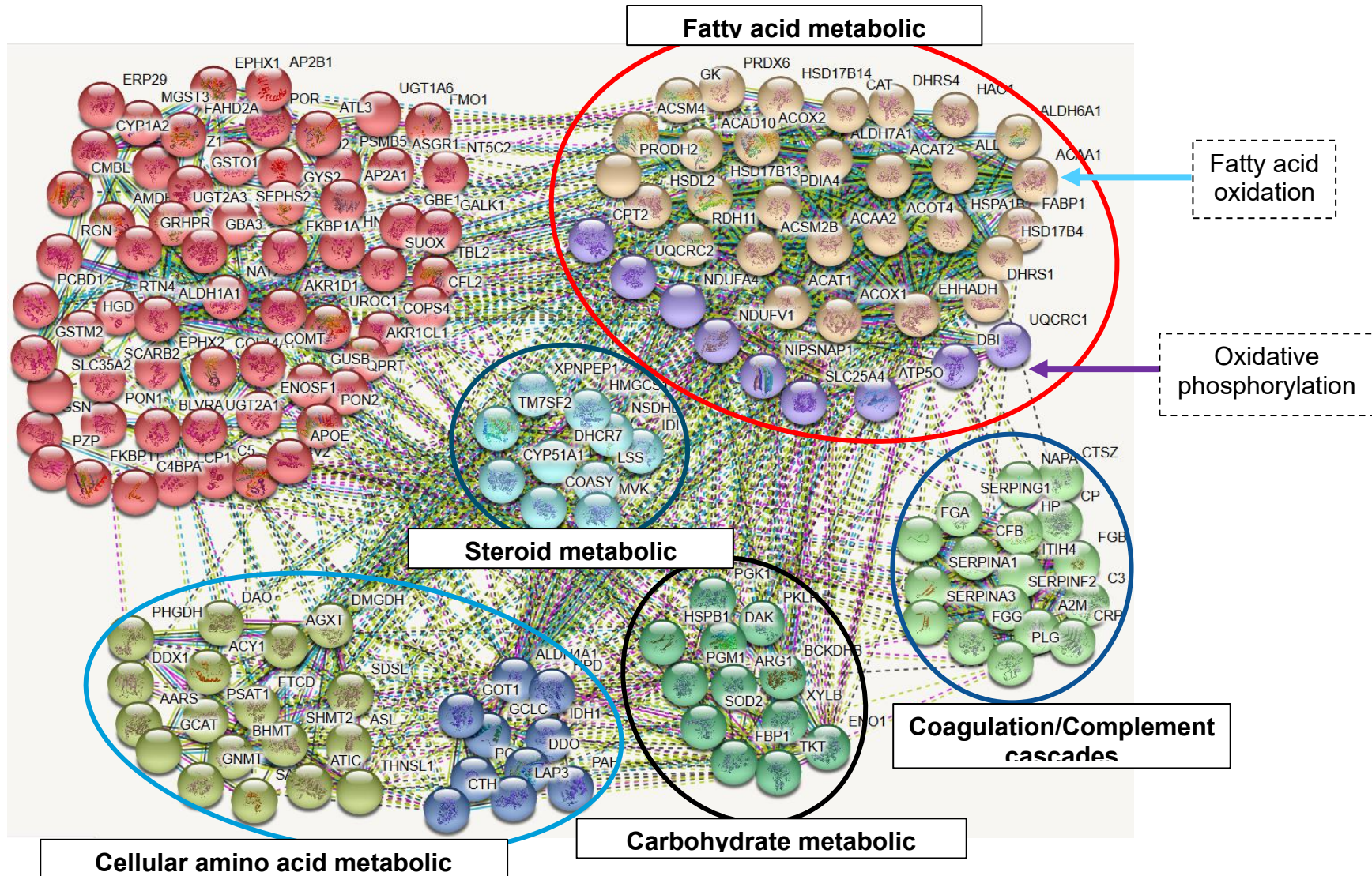


Figure 1: Protein-protein interaction (144 proteins) scheme generated from differentially regulated proteins by overfeeding (O) in comparison to Control diet (C) using STRING software. Proteins without interaction are not presented. Results of proteins clustering into ten groups. Within these eight clusters, five important metabolic processes or protein groups emerged using Panther and KEGG Mapper-Search Pathway: fatty acid, steroid, carbohydrate, amino acids metabolic process and coagulation/complement cascades

Publication N°2

A mix of dietary fibers increases mitochondrial activity and lipid oxidation in muscle leading to an activated alanine glucose cycle in overfed mini pigs

Ahmed Ben MOHAMED¹, Didier RÉMOND¹, Annick BERNALIER-DONNADILLE², Frédéric CAPEL¹, Dominique DARDEVET¹, Marie-Caroline MICHALSKI³, Fabienne LAUGERETTE³, Benoit COHADE¹, Nouredine HAFNAOUI¹, Daniel BÉCHET¹, Cécile COUDY-GANDILHON¹, Carole MIGNÉ⁴, Jérémie DAVID¹, Sergio POLAKOF¹, Isabelle SAVARY-AUZELOUX¹

(En préparation)

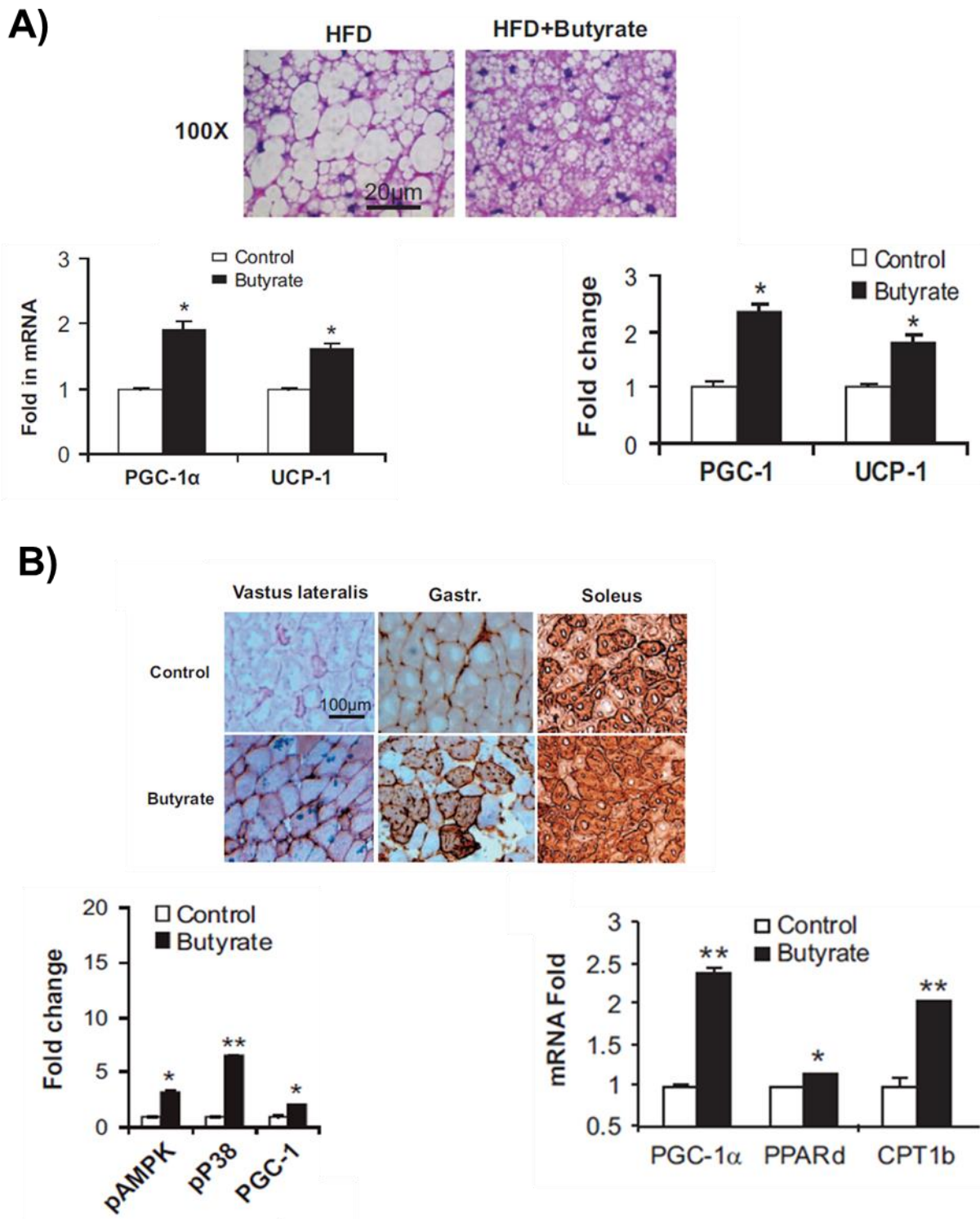


Figure 42 : Impact du butyrate sur la thermogénèse du tissu adipeux brun (A) et la β -oxydation musculaire (B). CPT1, Carnitine palmitoyltransferase I ; pAMPK, Phospho AMP kinase ; PGC-1 α , PPAR γ Coactivateur 1 α ; PPAR, Récepteur activé par les proliférateurs de peroxyssomes ; UCP1, Protéine découplante (421)

Introduction :

Le travail présenté ici est très complémentaire des données présentées dans la publication n°1 et s'intéresse à l'effet des fibres alimentaires fermentescibles sur le métabolisme des tissus périphériques, en tenant compte de l'utilisation des nutriments par les tissus splanchniques. Le contexte bibliographique est donc le même que celui présenté précédemment.

Tout comme dans le cas du foie, plusieurs études se sont intéressées à l'impact de suppléments en AGCC *per os* sur le métabolisme énergétique musculaire et adipeux. Il a notamment été montré par Gao et coll. (2009), chez la souris, qu'une supplémentation de 5% (w/w) en butyrate dans le cadre d'un régime obésogène (58% des calories apportées par les lipides) se traduisait, au niveau musculaire et du tissu adipeux brun, par une stimulation de la biogenèse et de la fonction mitochondriale, avec une accumulation des fibres de type I (oxydatives) dans le muscle (**Figure 42**).

En complément des résultats observés sur le foie, et pour tenter d'expliquer où les nutriments énergétiques excédentaires sont utilisés chez nos mini-porcs femelles adultes en surnutrition et supplémentées en fibres fermentescibles (O+F), nous nous sommes donc focalisés sur les activités métaboliques du muscle et du tissu adipeux.

Matériel et méthodes :

Une vingtaine de mini-porc femelles ont été nourries avec un régime témoin (C, n=6) ou un régime obésogène supplémenté (O + F, n=7) ou non (O, n=7) par un mélange de fibres fermentescibles présent dans un pain (20% inuline, 20% pectine et 60% amidon résistant). Les animaux ont été cathétérisés au niveau de l'aorte, la veine porte et la veine sus-hépatique, permettant ainsi de mesurer les flux sanguins. Toutes les mesures et analyses plasmatiques et tissulaires ont été effectuées à l'état à jeun avant (D1), 14 (D14) et 56 (D56) jours après l'adaptation aux régimes O et O+F. Après 8 semaines (D56) de régime, les animaux O et O + F ont été euthanasiés et des échantillons de muscle, tissu adipeux, jéjunum et caecum ont été prélevés, pour des analyses en RT-qPCR et des analyses histologiques. Enfin, des fèces ont été collectés pour déterminer la teneur en AGCC dans les eaux fécales, aux trois périodes clés d'adaptation aux régimes (D1, D14, D56).

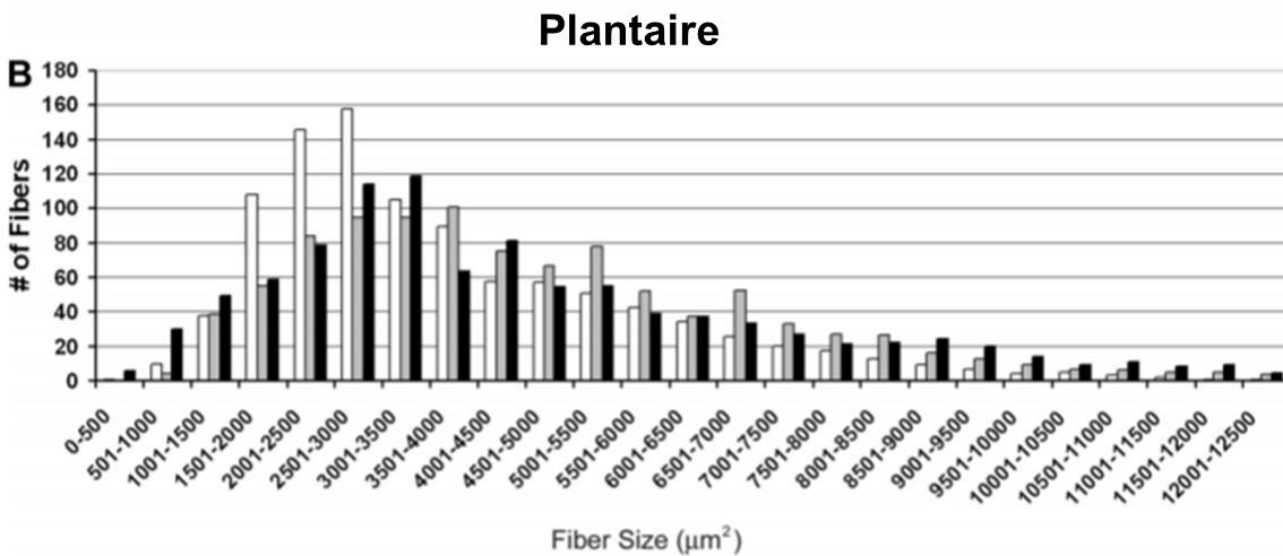
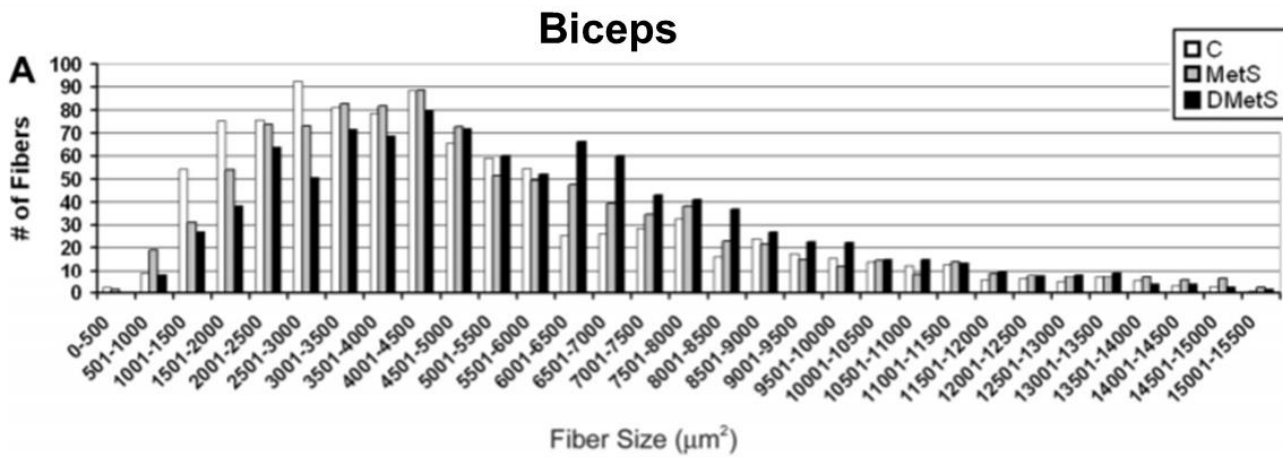


Figure 43 : Histogramme des aires transversales des fibres musculaires dans le biceps fémoral (A) et le muscle plantaire (B) de porcs Ossabaw. C, control ; MetS, normolipidémique ; DMetS, dyslipidémique (442)

Résultats majeurs /discussion :

La supplémentation en fibres fermentescibles se traduit par une augmentation de l'activité mitochondriale musculaire (oxydation des acides gras) comme en témoigne l'augmentation de l'expression des gènes suivants (Acox (+41%, $p=0,08$), Ucp2 (+51%, $p=0,03$), sdha (+72%, $p=0,04$), Cpt1-m (102%, $p=0,04$), O+F vs O). Cette activité métabolique musculaire semble régulée par les facteurs de transcriptions (mRNA de Pgc1 α (+58%, $p=0,02$), Ppara (+46%, $p=0,08$) et nrf2 (+182%, $P<0.001$) O+F vs O). L'ensemble de ces régulations sont associées à une altération du phénotype musculaire avec une taille des fibres en moyenne plus faible dans le groupe C et O+ F comparé au groupe O, suggérant une augmentation relative des fibres de type oxydatives, connues pour être de surface plus petite que les fibres glycolytiques ou mixtes (444). En effet, les régimes de type « western diet » sont connus chez l'homme (mais aussi chez le mini-porc) pour induire une augmentation de la taille des fibres comme montré par Clark et coll. (2011) (**Figure 43**). La comparaison entre les animaux C et O montre bien une augmentation de la taille moyenne des fibres (**Figure 3A dans la publication n°2**), le régime O+F présentant un phénotype similaire à celui des animaux C. Cette augmentation de l'activité oxydative mitochondriale des muscles et des mécanismes de régulation associés (PGC-1 α en particulier) lors de la supplémentation en fibres fermentescibles est cohérente avec des résultats similaires obtenus chez des souris supplémentées en butyrate (423) (**Figure 43**).

Au niveau du tissu adipeux sous-cutané, une activation significative de l'expression de Ppara (+41%, $P<0.05$) et Cpt1 (+64%, $p=0.05$) (O+F vs O) est observée. Ceci suggère, comme dans le muscle, une stimulation de l'activité oxydative mitochondriale, mais cet effet non retrouvé sur l'ensemble des gènes testés, reste à confirmer (Cpt2, Acox, Sdha, Ucp2 non modifiés par la supplémentation en fibres). Il est à rappeler que l'augmentation de l'activité oxydative observée dans les tissus adipeux des souris de Gao et coll. (2009) (423) ne sont pas comparables à ceux observés chez nos mini-porc car nous avons mesuré les activités sur le tissu adipeux sous cutané (blanc) alors que Gao et coll. ont réalisé leurs mesures sur le tissu adipeux brun.

Le rôle des AGCC en tant que médiateurs des effets métaboliques observés à D56 est probablement mineur. En effet, les mesures des concentrations plasmatiques en AGCC en veine porte ainsi que les bilans nets splanchniques en AGCC à D56 sont similaires pour O et O+F malgré des niveaux d'AGCC fécaux augmentés à D14 relativement chez O+F (+345%, $p=0,05$ pour les AGCC totaux) qui restent supérieurs chez O+F relativement à O à D56 ($p=0,06$). Il est donc probable que l'action des fibres (via ou non les AGCC) se fasse de manière indirecte en stimulant la synthèse de peptides digestifs (ARNm Gcg: + 262% dans le jéjunum, O + F vs O qui est un précurseur de la synthèse de GLP-1 en particulier) ou en activant des récepteurs, notamment des récepteurs aux AGCC (ARNm Gpr41: + 214% dans le caecum $P = 0,01$, O + F vs O). Le rôle d'autres types de molécules/métabolites signaux n'est pas à exclure mais nécessiterait une étude approfondie par métabolomique.

Conclusion :

Notre étude montre donc qu'une supplémentation en fibres alimentaires fermentescibles de 25g par jour chez des mini-porcs femelles adultes, dans une situation de surnutrition, permet de stimuler l'activité oxydative des tissus périphériques, et en particulier le muscle et dans une moindre mesure le tissu adipeux. Cette activation de la β -oxydation pourrait être liée à un effet signal des AGCC sur leur récepteur, en particulier GPR43 (activé préférentiellement par l'acétate). Or, les niveaux d'AGCC dans le sang périphérique est similaire entre les animaux en surnutrition avec ou sans supplémentation en fibres. L'ensemble de ces observations laisse penser que l'action des fibres sur les tissus périphériques (muscle et tissus adipeux), dans le cadre de notre étude, serait médié par d'autres molécules relai comme GLP1. En effet, l'expression de GCG (précurseur de GLP1 et 2) ainsi que l'expression de Gpr41 présent dans les cellules L de l'intestin (cellules productrices de GLP et PYY) laissent penser à une stimulation de la synthèse de GLP1 qui, via une augmentation de la sensibilité à l'insuline, pourrait expliquer l'activation de la β -oxydation périphérique. Cette hypothèse pourrait être confortée par une analyse des concentrations portales et périphériques en GLP1 et PYY qui n'ont pas été dosés dans notre étude et ne peuvent plus l'être du fait de la forte labilité de ces peptides dans le plasma (conditionnement des échantillons spécifiques pour GLP-1 notamment avec l'utilisation d'antiprotéases évitant la dégradation du peptide lors de son stockage).

A mix of dietary fibers alters muscle phenotype by increasing mitochondrial activity and lipid oxidation in overfed mini pigs

Ahmed Ben MOHAMED¹, Didier RÉMOND¹, Annick BERNALIER-DONNADILLE², Frédéric CAPEL¹, Dominique DARDEVET¹, Marie-Caroline MICHALSKI³, Fabienne LAUGERETTE³, Benoit COHADE¹, Noureddine HAFNAOUI¹, Daniel BÉCHET¹, Cécile COUDY-GANDILHON¹, Carole MIGNÉ⁴, Jérémie DAVID¹, Sergio POLAKOF¹, Isabelle SAVARY-AUZELOUX¹

¹Université Clermont Auvergne, INRA, UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

² Université Clermont Auvergne, INRA UMR0454, Unité de Microbiologie Environnement Digestif et Santé, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

³Université Lyon1, INRA/INSERM/INSA UMR 1397, Unité Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition, F-69100 Villeurbanne, France

⁴Université Clermont Auvergne, INRA, UNH, Plateforme d'Exploration du Métabolisme, MetaboHUB Clermont, F-63000 Clermont-Ferrand, France

Corresponding author: Isabelle Savary-Auzeloux: [Isabelle.savary-auzeloux@inra.f](mailto:Isabelle.savary-auzeloux@inra.fr)

r

Purpose. We aimed to determine if a supplementation of dietary fibers was capable to alter specifically the metabolism of peripheral tissues (muscle and adipose) in overfed mini pigs. And what may be the consequence on nutrients handling between peripheral and splanchnic tissues (i.e. gut and liver)

Method. Twenty female mini-pigs were fed with a control diet (C) or an obesogenic diet supplemented (O+F) or not (O) with fibers (mix of inulin, pectin and resistant starch) included in a bread specifically designed for this study. Animals were surgically fitted with catheters in aorta, portal and hepatic veins and blood flows measured by para-amino-hippuric acid infusion. For O and O+F animals, net fluxes of glucose, lactate, urea, short chain fatty acids (SCFA), amino acids were recorded in the fasted states at the beginning (D1), 2 (D14) and 8 (D56) weeks following the adaptation to the experimental diet. Animals C, O and O+F were euthanized at D56 and muscle, adipose tissue, caecum and jejunum samples were collected. Lastly, feces were collected for determination of SCFA content in fecal water.

Result/discussion. O+F animals presented an increased capacity for fatty acids oxidation and mitochondrial activity vs O animals as shown at mRNA level in the muscle level (acox, ucp2, sdha, cpt1-m) and to a lesser extent adipose tissues (acox). This was associated with a muscle fibres cross sectional area (CSA) in O+F group close to C whereas CSA was higher in overfed animals. An increased lipolysis activity was observed in muscle (+63% hsl mRNA, $p=0.07$ O+F vs O; +116% $p=0.02$ O+F vs C) and could fuel mitochondrial activity whereas no stimulation of lipids entry was observed at mRNA level (slc27a4 $p=0.34$, O+F vs O). This increased metabolic activity was regulated, in the muscle, by transcription factor pgc1a and related genes ppara and nrf2 (+58%, +46%, +182% for the 3 genes respectively, $P<0.05$, O+F vs O). A ppara gene upregulation is also present in adipose tissue. The increased catabolic activity in O+F animals, notably in the muscle, could be responsible for an increased alanine /glucose cycle, as shown by the higher levels of arterial plasma alanine (+24%, $P<0.05$) and increased glucose net release by the liver. The role of SCFA as mediators of these cross-talk modulations may be minor as no significant differences for propionate and butyrate are measured in hepatic vein and artery at D56. The role of digestive peptides (gcg mRNA: +262% in jejunum, $P=0.03$ O+F vs O) and increased sensitivity to SCFAs via their receptors (gpr41 mRNA: +214% in caecum $P=0.01$, O+F vs O) are questioned.

Introduction

In order to face the rapid increase of obesity and related diseases both in Europe and the US (1, 2), the development of safe and efficient nutritional strategies capable to limit weight gain and improve health status are in high demand. Among these strategies, the increase in dietary fibers intake have been proven efficient to limit weight gain, improve insulin sensitivity and metabolic homeostasis in various studies in humans and animal models (3, 4). Although it has been found, in cohort studies, that dietary fibers intake is correlated to a decreased risk of diabète, cardiovascular diseases and even certain cancers (5, 6), the impact of dietary fibers on health status is less known in a situation of overfeeding, when the requirements for energy are substantially exceeded. Yet, such situations occur frequently when obese or overfed populations are offered various foods naturally rich or supplemented with dietary fibers (such as bread for instance) or when public health policies promote an increased intake of fiber-rich foods (7, 8).

The supplementation of dietary fibers in high fat / high sucrose or in overfed rats has been proven to limit the deleterious effect of high fat diet on weight gain, insulin resistance state, microbiota composition as well as gut and hepatic metabolism (9-11). Such a similar effect has been shown in pig, an animal model closer to humans in terms of nutritional habits, microbiota composition and digestive physiology/metabolism (12). A recent experiment from our group showed that a mix of dietary fibers (resistant starch, pectin and inulin) included in a bread, was capable to limit weight gain and lipids droplets accumulation in the liver of overfed mini pigs, via a probable PPAR-regulated alteration of lipids entry within the liver (Mohamed et al, submitted).

Among the mechanisms potentially involved in the positive impact of dietary fibers on health, products of fibers fermentation by host microbiota (i.e. short chain fatty acids, SCFAs (13)) have been investigated, and particularly propionate and butyrate (14, 15). SCFAs supplementation presents a pleiotropic effect. At the splanchnic level, they impact on gut inflammation and peptides release (16, 17), hepatic energy storage (as glycogen and lipid droplets) and utilization (Mohamed et al, submitted) (18, 19). At the peripheral level (muscle and adipose) less numerous studies tend to shown that SCFAs affect energy expenditure and storage (20, 21).

Taken together, these data suggest that in a situation of over-nutrition, the beneficial effect of dietary fibers (and/or molecules obtained after fermentation in the colon) at the whole body level are the result of tissues-specific metabolic adaptations and shifts in energy use vs storage, with notably a direct impact on the splanchnic tissues, namely gut/microbiota and liver

(Mohamed et al, 2018, submitted) (22). Meanwhile, peripheral tissues such as muscle and adipose tissues also adapt their metabolism after fibers supplementation and respond to signals which remain poorly explored and may involve directly or indirectly SCFAs (20, 23).

In this context, the aim of the present study is dual. First, explore how dietary fibers supplementation impact on energy distribution between the splanchnic area and peripheral tissues in a situation of over-nutrition. Second, explore which metabolic pathways are specifically regulated by fibers supplementation in the peripheral tissues (muscle and adipose). Adult overfed female mini pigs were supplemented with a bread where 23% of the flour was substituted or not with a mix of dietary fibers (inulin, resistant starch and pectin) (24). Blood vessels of the animals were catheterized for measurement of nutrients net fluxes and utilization across the gut, the liver (and overall splanchnic tissues). These quantitative nutrient fluxes measurement are combined with the measurement of genes expression of major metabolic pathways involved in nutrients use and storage in gut, muscle and adipose tissues.

Material and methods

Animals and experimental procedure

The study involved 20 female adult Yucatan minipigs with an average bodyweight of 34.8 ± 1.5 kg at the beginning of the experiment. The animals were housed individually in pens (1x1.5 m) in a ventilated room with controlled temperature (21°C) and regular light cycle (L12:D12). At the beginning of the experiment, the 20 animals were fed with 500 g/day of a standard diet (control diet (C)) containing 69,2% Starch, 17% protein, 3,3% fat, 5,5% cellulose, 5% ashes (Porcyprima; Sanders Centre Auvergne, Aigueperse, France) and had free access to tap water.

After this adaptation period, animals were divided into three groups. Six pigs were used as control animals (group C). The remaining 14 mini-pigs were then surgically fitted with a catheter in the abdominal aorta, portal and hepatic veins. After 3 weeks of post-surgical recovery, 7 mini-pigs received an obesogenic diet (group O) for 56 days consisting in the regular pig diet (800g) as described above enriched with fat (10% palm oil w/w) and sugar (10% sucrose w/w) (2570 kcal/kg) and 250g of regular bread (2044 kcal/kg). The last 7 mini-pigs received the same 800 g of obesogenic diet, but regular bread was replaced by experimental bread (1678 kcal/kg), in which 23% of the flour was substituted with a mix of dietary fibers (group O+F) as previously described (24). The fiber mix consisted in 20% inulin, 20% pectin and 60% resistant starch (Cargill, Minnetonka, Minnesota USA). Food intake was recorded daily, and animals' body weight was measured weekly.

After an overnight fast, blood was sampled through the catheters on heparinized or EDTA treated tubes, before the 1st day of overfeeding (D1) (i.e. the animals in the fasted state at D1 correspond to animals adapted to the standard diet), 14 days (D14) and 8 weeks (i.e. 56 days, D56) after adaptation to each experimental (O and O+F) diets. Blood was centrifuged at 4.500 x g for 10 min, plasma rapidly collected and stored at -80°C until further analyses. At D56 minipigs of the groups C, O and O+F were euthanized after an overnight fast by intravenous administration of Dolethal® (pentobarbitone sodium 200 mg/L, Vetoquinol®, France). Samples of tissues (sub cutaneous adipose tissue, muscle (Longissimus Dorsi)) were rapidly excised and freeze clamped. A sample of muscle tissue was fixed in ice isopentan and stored at -80°C. lastly, jejunum and proximal caecum tissues were also removed and stored at -80°C.

All procedures were in accordance with the guidelines formulated by the European Community for the use of experimental animals (L358-86/609/EEC, Council Directive, 1986) and the accreditation number for the present study is C63 34514.

For measurement of plasma flow at D14 and D60, one hour before the blood samplings, a solution of 0.185M of sodium p-aminohippurate (PAH) (pH 7.4) was injected firstly as a flooding dose (5 mL of the PAH solution), then infused in the mesenteric vein at a rate of 12 mL/h. The plasma flows in each vessel was calculated according to the Fick principle (25). It has to be noted that plasma flows and net nutrient fluxes were calculated only at D14 and D56 and not at D1 because D1 represents, for both O and O+F group, the control diet and not a steady state of animals fed the O or O+F diets. For a comparison between O and O+F, the D1 time point was irrelevant and reflects mainly net fluxes of nutrients at a maintenance dietary intake, basically very different from net fluxes measured in overfed animals at D14 and D56.

Analytical procedures

Glucose, lactate, urea and triacylglycerol (TG) concentrations were enzymatically measured using commercial kits on a clinical chemistry analyser (ABX Pentra 400, Horiba Medical, Montpellier, France). Plasma lipopolysaccharide binding protein (Cliniscience, Nanterre, France) and interleukin 6 (IL-6) (Sigma Aldrich, St Louis, USA) levels were assayed using a commercial ELISA kits. Beta-hydroxybutyrate (b-OH) and ammonia were enzymatically measured using commercial kit (Sigma Aldrich, St Louis, USA).

For amino acids measurement, detailed procedures are described elsewhere (26). Shortly, plasma samples were deproteinised with sulphosalicylic acid after adding norleucine (50 µL, 1.25 mmol/L) as an internal standard. The supernatant was diluted (2/3) with a lithium injection

buffer (Bioritech, Guyancourt, France) containing glucosaminic acid as an injection standard and amino acids concentrations were determined with an amino acid analyzer (Hitachi L8900, Sciencetec, Villebon/Yvette, France) by ion exchange chromatography (with post-column derivatisation with ninhydrine. Indispensable amino acids (IAA) included histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophane and valine; non-indispensable amino acids (NEAA) included alanine, glutamate, glutamine, glycine, serine, tyrosine, cysteine, citrulline, ornithine, arginine, proline, 3-methylhistidine; and branched-chain amino acids (BCAA) included isoleucine, leucine and valine. Total amino acids (TAA) were the sum of IAA and NIAA.

PAH concentration in plasma was measured according to (27), 250 μ L of plasma samples were deproteinized with sulphosalicylic acid, thoroughly mixed and centrifuged at 10000 g, 4°C, for 15 min. 80 μ L of the supernatant was deacetylated by adding 20 μ L of 5M HCL followed by an incubation at 90°C for 1 hour (28). Sodium nitrite (625 mg/L) was then added manually. The samples were then inserted into the automotive ABX Pentra 400 (Horiba Medical, France) which added successively ammonium sulfamate (0.64 g/L) and N-(1-Naphtyl) ethylenediamine dihydrochloride (1 mg/mL). Concentrations were then determined by comparison with PAH standard and read out at 600 nm.

Short chain fatty acids (SCFA) in plasma were measured using 1-(tert-butyldimethylsilyl) imidazole (MTBSTFA) derivatization and analysis by gas chromatography (GC) according to (29). Shortly, to 500 μ L of plasma was added 50 μ L of a mixture of ^{13}C labelled 1- ^{13}C -acetate (4 mM), 1- ^{13}C -propionate (1.5 mM), 1- ^{13}C -butyrate (0.6 mM) (Cortecneq, Voisins Le Bretonneux, Fr) and 10 μ L of 37% (v/v) HCL solution. 2 mL of diethyl ether was added to plasma and the mixture was centrifuged (10 min, 2000 rpm). 50 μ L of MTBSTFA (Tokyo Chemical Industry, Tokyo, Japan) was added to supernatant for SCFA derivatization. The mixture was injected in GC-MS system 7890A (Agilent Technologies California, USA) using the splitless mode equipped with a quadrupole detector (5975C) and autoinjector (7683). The ionisation mode was operated in electron impact (electron energy 70 eV). The GC system was fitted with a nonpolar capillary column DB-5 MS (J&W Scientific, Folsom, CA, 30 m x 0.25 mm i.d x 0.25 μ m film thickness) for chromatographic separation. Quantification of the SCFA was performed using the Selected Ion Monitoring acquisition Mode by measurement of the m/z ratios of the specific ^{13}C and ^{12}C ions of each quantified SCFA and comparison to a standard curve: 117/118 (^{12}C acetate/1- ^{13}C -acétate), 131/132 (^{12}C propionate/1- ^{13}C -propionate), 145/146 (^{12}C butyrate/1- ^{13}C -butyrate). SCFA content in the feces was determined by NMR

following a water extraction of feces samples.

RNA extraction and quantification

Total RNA Extraction from tissues and reverse transcription (RT)

Total RNA from sub cutaneous adipose tissue (300mg), longissimus dorsi muscle (150mg), proximal caecum (100mg) tissues and jejunum (50mg) were isolated by using a PureLink RNA Mini Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, CA USA) according to manufacturer's protocol. Before sample processing with column RNase-free, tissues were homogenized in 1ml (muscle, caecum, jejunum) or 2ml (sub cutaneous adipose) of TRIzol Reagent (Ambion, Life Technologies, CA), then were centrifuged (10000g for 5 or 10 min at 4°C). The upper phase was collected and added with 200µl (muscle, caecum, jejunum) or 250µl (sub cutaneous adipose) of chloroform. After shaking vigorously for 15s, the tubes were centrifuged (12000 g for 5 at 4°C). The upper phase (muscle, caecum, jejunum) was carefully transferred to RNase-free column. The aqueous phase of sub cutaneous adipose tissue was washed again with 400 µl of chloroform before being centrifuged and transferred to RNase-free column (invitrogene). RNA samples purity was verified using NanoDrop spectrophotometer (ND-1000, NanoDrop Technologies Inc., USA) and RNA (1µg) integrity was verified on 1 % agarose ethidium-bromide-stained gel. cDNA was obtained from 1µg of RNA using the high-capacity cDNA reverse transcription kit ((AB Applied Biosystems, Foster City, CA USA), containing a mix of random primers and oligo(dT), according to the manufacturer's instructions.

Quantitative real-time PCR (RT-qPCR) methods and data analysis

cDNA was diluted 1:20 in RNase free water. Pre-amplification was performed using PowerUp SYBR Green Master Mix (AB Applied Biosystems, life technologie, woolston warrington UK). Real-time quantitative PCR was carried out on a Bio-Rad CFX-96 detection system with quantitative qPCR SYBR Green reagents. Primer sequences are available upon request (Sigma Aldrich) (see Table 2). PowerUp SYBR Green Master Mix (7.5 µL) was mixed with 0.3 µL of forward (10µM) and reverse (10µM) primer mix and 2 µL of diluted cDNA, and incubated at 95°C for 10 min. PCR conditions were standardized to 40 cycles of: 95°C for 15s, 59°C for 30s and 65°C for 5s. Relative quantification of the target genes were done using *Eef1a* housekeeping gene (caecum, jejunum). Relative quantification was made using the comparative Δ Ct method for muscle (*Rps9*, *Tbp*, *Gapdh* and *Hrp1* housekeeping genes) and sub cutaneous adipose (*Actin*, *Eef1a*, *Rps9*, *Tbp*, *Gapdh* and *Hrp1* Housekeeping genes).

Primer design

Primers were designed using Primer3 software (Whitehead Institute for Biomedical Research/MIT Center, Cambridge, MA, USA), while gene sequences were obtained from public databases (PubMed, Ensembl). If possible, primers were designed to span intron/exon boundaries to prevent amplification of contaminating genomic DNA, if present. BLAST searches were performed to ensure the absence of intraspecies polymorphisms at the primer site. Primers were designed so that they are overlapping an intron.

Calculations

Net nutrient fluxes through the gut (viscera drained by the portal vein), the liver and total splanchnic tissues (gut + liver) were calculated as described by (25). The net nutrient fluxes were calculated as differences between the afferent flux and the efferent flux. Consequently, a positive net flux indicates a net release whereas a negative net flux indicates a net uptake.

Metabolites (MET) net gut release (or net portal appearance) was calculated as follows: $([MET]_{PV} - [MET]_A) \times PF_{PV}$ where PF_{PV} is the portal plasma flow, $[MET]_{PV}$ and $[MET]_A$ the metabolite concentrations in the portal vein and the artery respectively. The net hepatic flux of metabolites was calculated as follows: $([MET]_{HV} \times PF_{HV} - ([MET]_{PV} \times PF_{PV} + [MET]_A \times PF_{AH}))$ where $[MET]_{HV}$, $[MET]_{PV}$ and $[MET]_A$ is the metabolite concentrations in the hepatic vein, portal vein and artery respectively and PF_{HV} , PF_{PV} and PF_{AH} are the plasma flows in the hepatic vein, portal vein and artery respectively. Lastly, the net flux of metabolites across overall splanchnic tissues was calculated as follows: $([MET]_{HV} - [MET]_A) \times PF_{HV}$ where PF_{HV} is the plasma flow in the hepatic vein and $[MET]_{HV}$ and $[MET]_A$ the metabolite concentrations in the hepatic vein and artery.

Statistics

All data are expressed as means \pm SEM. Comparisons of data between D1, D14 and D56 in the fasted state for plasma metabolites concentrations and D14 and D56 for net nutrient fluxes were performed using a two way (time and diet effects) repeated measures ANOVA (SigmaPlot 12, Systat software, San Jose, USA) followed by a post hoc analysis using the Tukey test.

Comparisons between diets at D56 (data obtained in tissues) in the fasted state were obtained using a one way (diet effect) ANOVA (SigmaPlot 12, Systat software, San Jose, USA) followed by a post hoc analysis using the Tukey test.

Comparisons between diets for muscle fiber cross-sectional area was determined by students' t test calculated for each fiber-size range.

Differences were considered significant if $P < 0.05$ and as a tendency (t) for $0.05 < P < 0.1$.

Results

The impact of the dietary fibers supplementations to the overfed mini-pigs was firstly described at the tissues level (muscle, adipose and gut) and the alteration of the metabolic activities observed analyzed in light of 1/ the concentrations of the major nutrients available to the peripheral tissues (arterial and hepatic vein concentrations) and 2/ the net nutrients fluxes measured at the splanchnic level because it impacts on nutrients availability.

Dietary fibers supplementation and impact on muscle (longissimus dorsi) phenotype and genes expression.

Over-nutrition induced a shift in longissimus dorsi fiber size, with an increased number of larger muscle fibers in the O group relatively to O+F but also C for fibers CSA from 6300-7000 to 9100-9800 μm^2 ($P < 0.05$) (see Figure 1A for details). On the contrary, muscle fiber size distribution was similar between C and O+F animals. Glycogen content in the muscle of O animals was significantly lower (-48 %, $P < 0.05$) relatively to C and intermediate in O+F group (not different from O and C) (Figure 3C). Triglycerides content in muscle the three groups was similar (Figure 3B).

Many genes expression concurred to show that fibers supplementation limited lipids storage/entry in the muscle and facilitated lipids catabolism. Indeed, several genes involved in fatty acids oxidation and mitochondrial activity were higher in O+F group relatively to both C and O groups (+41%, +72%, +51%, +102% in O+F vs O for *Acox* ($P=0.08$), *Sdha* ($p=0.04$), *Ucp2* ($p=0.03$) and *Cpt1-m* ($p=0.04$) respectively), suggesting an increased activity of oxidative and mitochondrial activity in the fiber supplemented group of pigs relatively to overfed animals (Figure 1B). For these four genes, C and O groups were not different. A gene regulating degradation of triglycerides into free fatty acids (*Hsl* gene) was also more expressed into the fasted state by fibers supplementation relatively to control and overfed animals (+ 116 % O+F vs C, $P=0.02$; +63% O+F vs O, $P=0.07$). Lipids entry within the cell may have been limited as *Slc27a4* expression was significantly decreased (-57 %, O+F vs C, $P=0.05$) whereas values for O animals was intermediary (not significantly different) between C and O+F. O animals presented, as for *Slc27a4*, an intermediary expression level. As could be expected with overfeeding, de novo lipogenesis (*Fasn* expression) was increased significantly (+195%, $p=0.03$) in O+F animals relatively to Controls. On the contrary, Hexokinase (*Hkl*), involved in glucose (or other hexoses) phosphorylation (i.e. first step of glycolysis) in muscle, is decreased by fiber supplementation (-69%, $P=0.05$ O+F vs C) and to a rather similar extend in O group, even if not significant (-54%, $P=0.14$, O vs C).

These metabolic activities are known to be regulated by several proteins and among them *Srebp1c* whose level of expression was similar between C, O and O+F groups. However, the level of expression of genes coding for other proteins involved in the regulation of energy metabolism and homeostasis were specifically increased by O+F diet: *Ppara* and *Pgc1a* (+50% and +107% O+F vs C, P=0.07 and 0.002 respectively; +46% and +58%, O+F vs O, P=0.08 and 0.02 respectively) whereas the level of expression of both genes remained similar between C and O groups. Lastly, a transcription factor *Nrf2* involved in the regulation of antioxidant proteins was strongly increased by fibers supplementation (+197%, O+F vs C, P<0.001, +182%, O+F vs O, P<0.001) whereas C and O remained similar. Lastly, the expression of *Tnfa* and *Il-6* were not different between diets.

Dietary fibers supplementation and impact on sub-cutaneous adipose tissue, caecum and jejunum genes expression.

Contrarily to muscle, some but not all genes measured involved in fatty acids beta oxidation and mitochondrial/lysosomal activities were significantly increased by fibers supplementation in adipose tissues (Figure 2). This was the case for *Acox* that tended to be increased in O+F group vs C (P=0.07), with O intermediary (Figure 2). This was also the case for *Cpt1-l* gene expression that remained upregulated at the level of C in O+F group relatively to O (+64%, P=0.05). For mitochondrial *Cpt2* and *Sdha* gene expression, O and O+F were not different but upregulated relatively to C (Diet effect p=0.004 and 0.02 for *Cpt2* and *Sdha* respectively). Aside from oxidative activity, an upregulation of Fatty acids synthesis by *Fasn* was stimulated by overfeeding (with or without dietary fibers supplementation) (Diet effect, p=0.001) observed whereas triglycerides hydrolysis (by *Hsl*) was not affected by dietary intervention. These metabolic processes were under the regulatory control of several transcription factors, and among them *Ppara*. *Ppara* gene expression was increased by fibers supplementation relatively to control and overfed animals (+94% and + 41%, P<0.05 for O+F vs C and O groups respectively). This was not supported by alteration of *srebp1c* expression level, unaltered in this tissue. *Glut4* glucose transporter was not modified by dietary intervention (Diet effect: 0.76) whereas lactate *Mct1* transporter expression was significantly increased (+134 %, P<0.001) in overfed animals supplemented with dietary fibers relatively to C (O group is intermediate). Lastly, *Gpr43* (G protein receptor) expression level was down regulated by overfeeding (-50%, p=0.02) whereas expression level in O+F group was intermediate and not significantly different between C and O. Concerning inflammation, *Tnfa* expression was decreased after 2 months of overfeeding (C vs O, P=0.05) whereas O+F group

was similar to control normally fed animals. *Il-6* expression was not significantly modified.

At the gut level, expression level of short chain fatty acid receptor *Gpr41* in caecum and pro glucagon, *Glp1* and 2 genes (*Gcg*) in jejunum were upregulated by fibers supplementation (+214%, $P=0.01$ and +262% $P=0.03$, O+F vs O for *Gpr41* and *Gcg* respectively).

Metabolites concentration in the fasted state and net splanchnic fluxes.

Metabolites concentrations

The alterations of the metabolic activities described in muscle and adipose tissues depend on (but also are influenced by) the concentrations of many plasma metabolites and regulatory molecules present in artery and hepatic vein.

Arterial concentrations insulin, HOMA-OR, lactate urea, betahydroxybutyrate, propionate, total SCFAs, and several amino acids (leucine, valine, isoleucine, phenylalanine, methionine, histidine, alanine, glutamate, glycine, serine, arginine, citrulline, cysteine, ornithine, asparagine, aspartate, taurine) tended or were significantly altered by overfeeding but very few were significantly different between O and O+F diets (except for alanine, $P=0.07$, diet effect) (Table 1). Some of these results have already been presented in detail elsewhere (Mohamed et al, submitted).

At the hepatic vein level, overfeeding effect was also preponderant on the following metabolites (lactate, beta-hydroxybutyrate and many amino acids: isoleucine, valine, phenylalanine, methionine, histidine, glutamate, glycine, arginine, citrulline, ornithine, asparagine, taurine; Diet effect $p<0.05$) (Table 1) and dietary fibers supplementation led to an increased hepatic vein concentrations for glucose ($p=0.07$, Diet x Time) or acetate ($p=0.06$, Diet) (Table 1) whereas other metabolites concentrations such as alanine ($p=0.06$, Diet, $p=0.10$ Diet x Time), serine (diet, $p=0.1$), glutamine (diet x time : 0.08), ornithine (diet x time : 0.07) tended to be altered specifically by dietary fibers supplementation.

Net splanchnic fluxes concentrations

Although SCFAs concentration in the artery was not altered by fiber supplementation, it was not the case within the lumen of the gut where an increased concentration of acetate was observed in the fecal water at D14 and D56 vs D1 in fiber supplemented animals (Diet effect $p=0.06$) (Figure 3A). This was not followed by an increased net portal drained viscera release of acetate (diet effect 0.11), nor an increased splanchnic release (diet effect: 0.13). For both propionate and butyrate, and similarly to acetate, an increased concentration in the fecal water both at D14 and D56 vs D1 was observed (Diet effect: $p=0.05$ and 0.08 for propionate and butyrate respectively). However, and contrarily to acetate, an increased net release of

propionate and butyrate in the portal vein tended to occur at D14 (Diet x Time effect = 0.06 and 0.09 for propionate and butyrate respectively; O vs O+F : $p=0.04$ and 0.03 at D14 for propionate and butyrate respectively) but was no more significant at D56 (Figure 3B). This occurred simultaneously with an increased net hepatic uptake of propionate (Diet x Time effect =0.08). At overall splanchnic level, an absence of Diet effect and Diet x time effect on propionate and butyrate net release by total splanchnic tissues over the entire experimental period.

For glucose and lactate, the fibers supplementation did not impact on their net gut release in the portal vein. On the contrary, a significant Diet and Time x Diet effect for glucose ($P<0.05$) and Diet effect ($P=0.06$) for lactate were observed in the liver (Figure 4). Net hepatic release was increased by fiber supplementation at D56 for glucose (+320 %, $P=0.01$) and D14 for lactate ($\times 17.9$ $P=0.04$). At hepatic level, a Time effect ($P=0.001$) within the fiber supplemented group was also observed for glucose (Figure 4). The consequence was an increased net release of glucose and lactate by the overall splanchnic tissues in the fiber supplemented animals at D56 for glucose (Diet x Time: 0.04, $p=0.03$ at D56 for O Vs O+F) and D14 and D56 for lactate (Diet: 0.005, $p=0.03$ and 0.02 at D14 and D56 respectively for O Vs O+F).

The fibers supplementation had no effect on net urea uptake (recycling) by the gut (net PDV release similar between O and O+F), net hepatic release and net overall splanchnic release. For other metabolites (ammonia, beta-hydroxybutyrate and individual amino acids), net PDV, hepatic and TSP fluxes were calculated and not strongly modified (no significant Diet or Diet x Time effects observed) by fibers supplementation (Supplementary Table 1).

Discussion

The aim of the present study was to explore, in a situation of overnutrition, the impact of a mix of dietary fibers supplementation on nutrients utilization and handling by both splanchnic area (gut and liver) and peripheral tissues in adult mini pigs. We observed, looking at the net splanchnic release of nutrients, that the splanchnic area released more glucose and lactate when fibers were supplemented. Lipids entry and storage within the liver was also limited, as already published elsewhere (Mohamed et al, submitted). This suggests that energy storage and utilization by the splanchnic area (and notably the liver) was decreased by fibers supplementation. Accordingly, we observed specific metabolic adaptations at peripheral level (i.e. muscle and adipose tissues) due to this overall increased energy supply to these tissues in the overfed animals supplemented with fibers.

Overfeeding and fibers supplementation: impact on muscle structure and metabolic activities

Structural and phenotypic changes were observed at muscle level (longissimus dorsi) both after overnutrition and fibers supplementation. We observed that overnutrition led to an increased average of muscle fibers cross sectional area (CSA). This is consistent with data already reported in obese humans (30-32) and overfed pigs from various breeds including Yucatan (33, 34). This increased fibers CSA that has been demonstrated to correlate with obesity in various studies (33), could limit oxygen and nutrients supply within the muscle fibers, and consequently impact on muscle function and metabolic activity. More interestingly, and somewhat more original, dietary fibers supplementation in overfed animals inhibited the CSA shift observed in overfed alone pigs, with CSA muscle fibers from O+F pigs similar to control animals. Hence, the muscle fibers CSA of the O+F pigs correspond more to a “lean” phenotype.

The fiber sizes alterations observed in overfed animals were not accompanied by an increased muscle triglycerides content, suggesting that our animals were still at the onset of development of metabolic perturbations induced by overfeeding, as already observed in normolipidemic pigs fed an hypercaloric diet (33) where fibers CSA were altered without any impact on the number of intramyocellular lipid droplets. Taken together, these data suggest that obesity induced alteration of muscle fibers CSA probably occurred before any alterations of lipid profile in the muscle could be observed.

This difference in muscle phenotype observed in overfed fiber supplemented pigs relatively to overfed non supplemented animals was also true metabolically as an increased capacity for fatty acids oxidation and an activation of mitochondrial activity was also demonstrated (increased expression level for *Acox*, *Sdha*, *Ucp2* and *Cpt1-m* for O+F animals vs O and C). This increased capacity for fatty acids catabolism and mitochondrial activity in the muscle, leading to an increased utilization of lipids in muscle, can be one of the explanations why the liver remained relatively protected from lipids storage in dietary fiber supplemented animals (see Mohamed et al, 2018, submitted). Such an upregulation of muscle genes expression and enzymes involved in fatty acids oxidation and mitochondrial activity has been shown in rodents both after soluble fibers (i.e. Psyllum or epilactose) (21, 35) or butyrate (20) supplementation when the animals were in a situation of overfeeding or during obesity development. A mitochondrial dysfunction and reduction of oxidative capacities in the muscle of obese and insulin resistant volunteers/models has been repeatedly demonstrated (36, 37) and targeting mitochondrial dysfunction (as could be the case with dietary fibers supplementation) might improve muscle insulin signaling (38). The pathway of lipids catabolism could also be

fueled by a mobilization of fats within the muscle via an increased expression of the hydrolase HSL in fibers mix supplemented animals, as already observed in muscle during exercise (i.e. when energy demand within the muscle is also stimulated (39)). The existence of such a mechanism within the muscle of dietary fiber supplemented animals, where muscle mitochondrial activity is also stimulated, should require to be further investigated. The triglyceride content within the muscle, similar within the 3 groups of animals cannot help to validate or invalidate this hypothesis.

A controller of energy metabolism/mitochondrial function in our study, *Pgc-1 α* , significantly increased in dietary fiber supplemented group vs O and C, is a good candidate to modulate and stimulate energy catabolism. First, *Pgc-1 α* is known to be down-regulated during the development of insulin resistance, obesity and mitochondrial dysfunction (40, 41) in parallel with *Pgc-1 α* target/associated genes : *Nrf1*, *Nrf2* or *Ppara* (20, 40, 41). On the contrary, *Pgc-1 α* is generally up-regulated by butyrate or fiber supplementation (20, 35) even if not always (42). In the present study, following the increased *Pgc-1 α* mRNA expression, associated genes *Nrf2* and *Ppara* (41) were, as expected, significantly increased following fibers supplementation. *Nrf2*, known to regulate antioxidant defense responds to the increased production of reactive oxygen species produced by the activated mitochondria and oxidation processes (43). Lastly, a potential link can arise between *Pgc-1 α* and fibers sizes : *Pgc-1 α* is known to be more expressed in muscles rich in type I fibers, which means that an enrichment in oxidative fibers in O+F animals can be hypothesized in our pigs' muscles and explain the relatively smaller fiber area (lower average CSA) observed in O+F animals vs O, since a higher oxidative capacity is generally associated with a lower fiber size in muscle (44).

In the present study and contrarily to what generally found in the literature (45), the increased lipids oxidation does not seem to be associated with an increased stimulation of systems involved in lipids entry within the cell, as shown with the absence of difference in *Slc27a4* (also named *Fatp4*) gene expression between O and O+F. However, lipids transporters, and among them *Slc27a4*, are known to be regulated by complex translocation mechanisms (46), and not solely by transcriptional regulations. This means that an increased lipids entry within the cells following fibers supplementation in our situation of overfeeding cannot be entirely excluded, even if not measured.

Overfeeding and fibers supplementation: impact on adipose tissue metabolic activities

Such as for muscle, an increased lipids oxidation can be hypothesized in adipose tissues (*Cpt1* gene expression significantly above O group in fibers mix supplemented animals, *Acox* gene expression increased in O+F group vs C and O intermediary between O+F and C). The fact that *Ppara* is also more stimulated in animals supplemented with the mix of fibers (similarly to what observed in the muscle) tend to sustain the hypothesis of an increased lipids catabolism in the adipose tissue. However, the impact on the diet on this pathway is not as straightforward as for muscle because other genes expression (*Cpt1*, *Sdha*, and *Ucp2*) involved in mitochondrial/lysosomal activities or lipids catabolism are not differentially modulated in fibers supplemented animals relatively to O. Nevertheless, a stimulated fatty acids oxidation in adipose tissues has been shown to be increased in animal models following short chain fatty acids or fibers supplementation (23, 47), with a switch from lipogenesis to fat oxidation (23).

Similarly to what observed at muscle level, lipids synthesis is stimulated by energy overload in overfed animals (supplemented or not with fibers), as shown by *Fasn* gene expression upregulation after overfeeding, suggesting that regulatory mechanisms of lipids handling following dietary fibers supplementation is more focused on stimulation of catabolism than inhibition of synthesis. However, and contrarily to muscles where *Hsl* increased gene expression in O+F animals tended to limit lipids storage as triglycerides and increase lipolysis within the muscle, no such specific regulatory mechanisms exist in adipose tissues with *Hsl* mRNA levels unaltered whatever the diet considered. Concerning the increased storage capacity via extracellular lipolysis mediated by lipoprotein lipase (LPL), the story is different because *Angptl4*, an inhibitor of lipoprotein lipase is significantly decreased in O+F animals vs C whereas O is intermediary between C and O+F. An increased LPL activity (due to a lack of inhibition of *angptl4*) in O+F group might increase the buffering capacity of the adipose tissues by increasing LPL-mediated triglycerides extraction, increase clearance of triacylglycerol, and increase whole body insulin sensitivity (15), as also shown in ANGPTL4 KO mice (48). An increased insulin sensitivity at the adipose level in animals supplemented with fibers can be hypothesized from these data as insulin is known to decrease mRNA levels of *Angptl4* in mice adipocytes (49). This metabolic adaptation could prevent lipids deposition in other tissues, and notably liver, as already shown in a previous work (Mohamed et al, 2018, submitted). As no alteration of plasma triglycerides or free fatty acids concentrations was observed throughout the experimental period of overfeeding, this hypothesis should require further investigation (Mohamed et al, 2018, submitted).

Consequence of the activation of lipids catabolism in the peripheral area on overall energy metabolism.

Levels of betahydroxybutyrate (b-OH) were not altered by fiber supplementation (Table1). B-OH can be synthesized both in the gut from butyrate (50) or in the liver. The increased butyrate level present in the fecal water from fiber supplemented animals may have led to an increased release of b-OH in periphery, as also shown after butyrate infusion by (50). At the hepatic level, we have already demonstrated an absence of impact of dietary fibers supplementation in overfed animals on fatty acids oxidation and consequently probably no impact on production of b-OH (Mohamed et al, 2018, submitted). The relative importance of b-OH production at the gut level relatively to b-OH production from the beta-oxidation process should require further investigation.

Nevertheless, the increased catabolism of lipids at peripheral level must have generated an accumulation of acetylCoA flux and pool size and activation of the Krebs cycle. As acetylCoA is known to inhibit pyruvate dehydrogenase kinase (51), this must have led to an accumulation of pyruvate (from glycolysis) with pyruvate utilization redirected towards reduction into lactate and transamination into alanine in the muscle (52). In our study, muscle acetylCoA in O+F animals is clearly directed towards Krebs cycle whereas pyruvate utilization is shifted from synthesis into acetyl CoA (from PDH activity) to alanine synthesis (53) and stimulation of the alanine glucose cycle (54) at the whole body level. The increased plasma concentrations of alanine in artery and hepatic vein of overfed fiber supplemented animals relatively to overfed alone animals confirm the preferred utilization of pyruvate towards synthesis of alanine whereas alanine is used for gluconeogenesis at the hepatic level (as observed with the increased net hepatic glucose production (Figure 2)). Unfortunately, due to a high variability of the data, no significant increased alanine uptake was observed at hepatic level to definitely validate this hypothesis of increased hepatic alanine utilization for (presumably) glucose synthesis (supplementary table 1).

The increased lactate production by the muscle from pyruvate and activation of the Cori cycle could also occur even if arterial concentrations of lactate were not significantly increased by fibers supplementation. This mechanism could also participate to the increased net glucose hepatic production in fiber supplemented animals. The overflow of alanine to the liver, leading to a stimulation of glucose net production could be responsible for an increased pyruvate pool size in the liver and an incomplete utilization of alanine for gluconeogenesis and lactate production (figure 2). All these metabolic adaptations at muscle and hepatic levels must have

concluded to an overall stimulation of Cori and alanine-glucose-cycles, leading to an energy expenditure and utilization of ATP generated by lipids catabolism at peripheral level.

Mediators of these metabolic adaptation to fibers supplementation.

Several authors have proven the role of fermentation products of fibers in the gut as potential mediators of the metabolic responses (15, 20), with direct infusion/ingestion of SCFA in vivo (20) or with direct action on cell culture (55). However, a majority of studies have hypothesized the role of SCFAs because in nearly all cases of fiber supplementation, the SCFA concentration in the feces was increased (15, 56). Some of the studies reported indeed an increased SCFA content in plasma from the portal vein (57, 58) in animals supplemented with dietary fibers with sometimes but not always also an impact at peripheral level (59). In the present study, we question the direct role of SCFA on the regulation of metabolic adaptations at the peripheral level as we have no significant alteration of net splanchnic emission of acetate, propionate and butyrate at D56, even if their concentration is increased in fecal water. The interaction between the dietary fiber included in the bread and the other component of the diet (in our nutritional situation of overfeeding and lipid enrichment of the diet) could explain the relatively modest increased SCFA content in the fecal water and portal vein after fibers supplementation. However, a role of SCFA at local level (i.e. gut level for all SCFAs and hepatic level for acetate and propionate and to a lesser extend for butyrate) is still highly probable, with impacts on SCFAs receptors in the caecum (increased *gpr41* expression in O+F group vs O) and gut peptides synthesis with proglucagon gene (*Gcg*) upregulated in the jejunum of O+F group vs O. *Gcg* codes for a preprotein cleaved in 4 different peptides and among them GLP-2 involved in gut growth and insulin sensitivity (60, 61). These peptides could take over the role of SCFAs at peripheral level and should require further investigation as potential mechanisms of regulation of muscle/adipose tissue mitochondrial metabolic activity by dietary fibers.

An increased sensitivity of tissues to similar amounts of SCFAs at peripheral levels cannot be entirely excluded in the adipose tissue as *gpr43* expression level is intermediary between O and C diets. This is not the case in muscle where the same gene is significantly downregulated by overfeeding (vs C) but not differentially expressed between O and O+F groups (data not shown). Lastly, other molecules issued from catabolism of fibers within the caecum and colon and recently discussed in the literature could also be involved as regulatory molecules of energy metabolism and could improve insulin sensitivity of the host: succinate

(62), odd-chain fatty acids (63). They should also be examined in detail, particularly via targeted (for succinate and odd chain fatty acids) or a metabolomic (for still unknown molecules) approaches in the following compartments: caecal water, portal plasma and tissues.

Acknowledgements

To Cargill © for providing the dietary fibers (pectin, inulin and resistance starch). The authors acknowledge G Della-Valle and H Chiron for bread making and design as well as M Jarzaguet, C Buffière, JP Rigaudière, C Buisson, E Delmas and the personnel of Animal facility (C Delhomme, J Hermet) for technical assistance.

Financial support

The project was supported by INRA (AlimH, CEPIA and MICA research departments). No conflict of interest.

Bibliography

1. Hales CM, Fryar CD, Carroll MD, Freedman DS, Ogden CL. Trends in Obesity and Severe Obesity Prevalence in US Youth and Adults by Sex and Age, 2007-2008 to 2015-2016. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2018.
2. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *The New England journal of medicine*. 2017.
3. Weickert MO, Pfeiffer AFH. Impact of Dietary Fiber Consumption on Insulin Resistance and the Prevention of Type 2 Diabetes. *J Nutr*. 2018;148(1):7-12.
4. Brockman DA, Chen X, Gallaher DD. Hydroxypropyl methylcellulose, a viscous soluble fiber, reduces insulin resistance and decreases fatty liver in Zucker Diabetic Fatty rats. *Nutrition & metabolism*. 2012;9(1):100.
5. Threapleton DE, Greenwood DC, Evans CE, Cleghorn CL, Nykjaer C, Woodhead C, et al. Dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2013;347:f6879.
6. Veronese N, Solmi M, Caruso MG, Giannelli G, Osella AR, Evangelou E, et al. Dietary fiber and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Am J Clin Nutr*. 2018;107(3):436-44.
7. Dahl WJ, Stewart ML. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2015;115(11):1861-70.
8. Stephen AM, Champ MM, Cloran SJ, Fleith M, van Lieshout L, Mejbourn H, et al. Dietary fibre in Europe: current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health. *Nutr Res Rev*. 2017;30(2):149-90.
9. Saha DC, Reimer RA. Long-term intake of a high prebiotic fiber diet but not high protein reduces metabolic risk after a high fat challenge and uniquely alters gut microbiota and hepatic gene expression. *Nutr Res*. 2014;34(9):789-96.
10. Jakobsdottir G, Xu J, Molin G, Ahrne S, Nyman M. High-fat diet reduces the formation of butyrate, but increases succinate, inflammation, liver fat and cholesterol in rats, while dietary fibre counteracts these effects. *PloS one*. 2013;8(11):e80476.

11. Isken F, Klaus S, Osterhoff M, Pfeiffer AF, Weickert MO. Effects of long-term soluble vs. insoluble dietary fiber intake on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. *J Nutr Biochem.* 2010;21(4):278-84.
12. Yan H, Potu R, Lu H, Vezzoni de Almeida V, Stewart T, Ragland D, et al. Dietary fat content and fiber type modulate hind gut microbial community and metabolic markers in the pig. *PloS one.* 2013;8(4):e59581.
13. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut.* 1987;28(10):1221-7.
14. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research.* 2013;54(9):2325-40.
15. Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature reviews Endocrinology.* 2015;11(10):577-91.
16. Lu Y, Fan C, Li P, Lu Y, Chang X, Qi K. Short Chain Fatty Acids Prevent High-fat-diet-induced Obesity in Mice by Regulating G Protein-coupled Receptors and Gut Microbiota. *Scientific reports.* 2016;6:37589.
17. Chambers ES, Viardot A, Psichas A, Morrison DJ, Murphy KG, Zac-Varghese SE, et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut.* 2015;64(11):1744-54.
18. den Besten G, Lange K, Havinga R, van Dijk TH, Gerding A, van Eunen K, et al. Gut-derived short-chain fatty acids are vividly assimilated into host carbohydrates and lipids. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology.* 2013;305(12):G900-10.
19. Beauvieux MC, Roumes H, Robert N, Gin H, Rigalleau V, Gallis JL. Butyrate ingestion improves hepatic glycogen storage in the re-fed rat. *BMC physiology.* 2008;8:19.
20. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes.* 2009;58(7):1509-17.
21. Murakami Y, Ojima-Kato T, Saburi W, Mori H, Matsui H, Tanabe S, et al. Supplemental epilactose prevents metabolic disorders through uncoupling protein-1 induction in the skeletal muscle of mice fed high-fat diets. *The British journal of nutrition.* 2015;114(11):1774-83.
22. Canfora EE, Blaak EE. The role of polydextrose in body weight control and glucose regulation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2015;18(4):395-400.
23. den Besten G, Bleeker A, Gerding A, van Eunen K, Havinga R, van Dijk TH, et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet-Induced Obesity via a PPARgamma-Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. *Diabetes.* 2015;64(7):2398-408.
24. Arufe S, Chiron H, Dore J, Savary-Auzeloux I, Saulnier L, Della Valle G. Processing & rheological properties of wheat flour dough and bread containing high levels of soluble dietary fibres blends. *Food research international (Ottawa, Ont).* 2017;97:123-32.
25. Katz ML, Bergman EN. Simultaneous measurements of hepatic and portal venous blood flow in the sheep and dog. *Am J Physiol.* 1969;216(4):946-52.
26. Barbe F, Menard O, Le Gouar Y, Buffiere C, Famelart MH, Laroche B, et al. The heat treatment and the gelation are strong determinants of the kinetics of milk proteins digestion and of the peripheral availability of amino acids. *Food chemistry.* 2013;136(3-4):1203-12.
27. Huntington GB. Portal blood flow and net absorption of ammonia-nitrogen, urea-nitrogen, and glucose in nonlactating Holstein cows. *Journal of dairy science.* 1982;65(7):1155-62.
28. Rodriguez-Lopez JM, Cantalapiedra-Hijar G, Durand D, Isserty-Thomas A, Ortigues-Marty I. Influence of the para-aminohippuric acid analysis method on the net hepatic flux of nutrients in lactating cows. *J Anim Sci.* 2014;92(3):1074-82.
29. Pouteau E, Meirim I, Metairon S, Fay LB. Acetate, propionate and butyrate in plasma: determination of the concentration and isotopic enrichment by gas chromatography/mass

- spectrometry with positive chemical ionization. *Journal of mass spectrometry : JMS*. 2001;36(7):798-805.
30. Gueugneau M, Coudy-Gandilhon C, Theron L, Meunier B, Barboiron C, Combaret L, et al. Skeletal muscle lipid content and oxidative activity in relation to muscle fiber type in aging and metabolic syndrome. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2015;70(5):566-76.
31. Malenfant P, Joanisse DR, Theriault R, Goodpaster BH, Kelley DE, Simoneau JA. Fat content in individual muscle fibers of lean and obese subjects. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001;25(9):1316-21.
32. Gavin TP, Stallings HW, 3rd, Zwetsloot KA, Westerkamp LM, Ryan NA, Moore RA, et al. Lower capillary density but no difference in VEGF expression in obese vs. lean young skeletal muscle in humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2005;98(1):315-21.
33. Clark BA, Alloosh M, Wenzel JW, Sturek M, Kostrominova TY. Effect of diet-induced obesity and metabolic syndrome on skeletal muscles of Ossabaw miniature swine. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2011;300(5):E848-57.
34. Guillerm-Regost C, Louveau I, Sebert SP, Damon M, Champ MM, Gondret F. Cellular and biochemical features of skeletal muscle in obese Yucatan minipigs. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(10):1700-7.
35. Togawa N, Takahashi R, Hirai S, Fukushima T, Egashira Y. Gene expression analysis of the liver and skeletal muscle of psyllium-treated mice. *The British journal of nutrition*. 2013;109(3):383-93.
36. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(10):2944-50.
37. Szendroedi J, Phielix E, Roden M. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews Endocrinology*. 2011;8(2):92-103.
38. Rieusset J. Contribution of mitochondria and endoplasmic reticulum dysfunction in insulin resistance: Distinct or interrelated roles? *Diabetes & metabolism*. 2015;41(5):358-68.
39. Whytock KL, Shepherd SO. Hormone-sensitive lipase preferentially redistributes to lipid droplets associated with perilipin-5 in human skeletal muscle during moderate-intensity exercise. 2018;596(11):2077-90.
40. Devarshi PP, McNabney SM, Henagan TM. Skeletal Muscle Nucleo-Mitochondrial Crosstalk in Obesity and Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4).
41. Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, et al. PGC-1alpha-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nature genetics*. 2003;34(3):267-73.
42. Brockman DA, Chen X, Gallaher DD. High-viscosity dietary fibers reduce adiposity and decrease hepatic steatosis in rats fed a high-fat diet. *J Nutr*. 2014;144(9):1415-22.
43. Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2013;53:401-26.
44. van Wessel T, de Haan A, van der Laarse WJ, Jaspers RT. The muscle fiber type-fiber size paradox: hypertrophy or oxidative metabolism? *European journal of applied physiology*. 2010;110(4):665-94.
45. Nickerson JG, Alkhateeb H, Benton CR, Lally J, Nickerson J, Han XX, et al. Greater transport efficiencies of the membrane fatty acid transporters FAT/CD36 and FATP4 compared with FABPpm and FATP1 and differential effects on fatty acid esterification and oxidation in rat skeletal muscle. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(24):16522-30.
46. Jain SS, Luiken JJ, Snook LA, Han XX, Holloway GP, Glatz JF, et al. Fatty acid transport and transporters in muscle are critically regulated by Akt2. *Febs Lett*. 2015;589(19 Pt B):2769-75.

47. Weng H, Endo K, Li J, Kito N, Iwai N. Induction of peroxisomes by butyrate-producing probiotics. *PloS one*. 2015;10(2):e0117851.
48. Aryal B, Singh AK, Zhang X, Varela L, Rotllan N, Goedeke L, et al. Absence of ANGPTL4 in adipose tissue improves glucose tolerance and attenuates atherogenesis. *JCI insight*. 2018;3(6).
49. Yamada T, Ozaki N, Kato Y, Miura Y, Oiso Y. Insulin downregulates angiopoietin-like protein 4 mRNA in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;347(4):1138-44.
50. Fitch MD, Fleming SE. Metabolism of short-chain fatty acids by rat colonic mucosa in vivo. *Am J Physiol*. 1999;277(1 Pt 1):G31-40.
51. Adeva-Andany M, Lopez-Ojen M, Funcasta-Calderon R, Ameneiros-Rodriguez E, Donapetry-Garcia C, Vila-Altesor M, et al. Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion*. 2014;17:76-100.
52. Pozefsky T, Tancredi RG. Effects of intrabrachial arterial infusion of pyruvate on forearm tissue metabolism. Interrelationships between pyruvate, lactate, and alanine. *J Clin Invest*. 1972;51(9):2359-69.
53. Small L, Brandon AE, Quek LE, Krycer JR, James DE, Turner N, et al. Acute activation of pyruvate dehydrogenase increases glucose oxidation in muscle without changing glucose uptake. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2018.
54. Sugden MC, Lall HS, Harris RA, Holness MJ. Selective modification of the pyruvate dehydrogenase kinase isoform profile in skeletal muscle in hyperthyroidism: implications for the regulatory impact of glucose on fatty acid oxidation. *J Endocrinol*. 2000;167(2):339-45.
55. Mischke M, Plosch T. The Gut Microbiota and their Metabolites: Potential Implications for the Host Epigenome. *Advances in experimental medicine and biology*. 2016;902:33-44.
56. den Besten G, Gerding A, van Dijk TH, Ciapaite J, Bleeker A, van Eunen K, et al. Protection against the Metabolic Syndrome by Guar Gum-Derived Short-Chain Fatty Acids Depends on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma and Glucagon-Like Peptide-1. *PloS one*. 2015;10(8):e0136364.
57. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoun C, Duchamp A, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*. 2014;156(1-2):84-96.
58. Bach Knudsen KE, Jorgensen H, Canibe N. Quantification of the absorption of nutrients derived from carbohydrate assimilation: model experiment with catheterised pigs fed on wheat- or oat-based rolls. *The British journal of nutrition*. 2000;84(4):449-58.
59. Theil PK, Jorgensen H, Serena A, Hendrickson J, Bach Knudsen KE. Products deriving from microbial fermentation are linked to insulinaemic response in pigs fed breads prepared from whole-wheat grain and wheat and rye ingredients. *The British journal of nutrition*. 2011;105(3):373-83.
60. Amato A, Baldassano S, Mule F. GLP2: an underestimated signal for improving glycaemic control and insulin sensitivity. *J Endocrinol*. 2016;229(2):R57-66.
61. Thulesen J, Hartmann B, Nielsen C, Holst JJ, Poulsen SS. Diabetic intestinal growth adaptation and glucagon-like peptide 2 in the rat: effects of dietary fibre. *Gut*. 1999;45(5):672-8.
62. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Zitoun C, Duchamp A, Backhed F, Mithieux G. Microbiota-Produced Succinate Improves Glucose Homeostasis via Intestinal Gluconeogenesis. *Cell metabolism*. 2016;24(1):151-7.
63. Weitkunat K, Schumann S, Nickel D, Hornemann S, Petzke KJ, Schulze MB, et al. Odd-chain fatty acids as a biomarker for dietary fiber intake: a novel pathway for endogenous production from propionate. *Am J Clin Nutr*. 2017;105(6):1544-51.

Figures et Tableaux de la publication N°2

Table 1: Plasma biochemical parameters in mini-pigs in the fasted state before (D1) and after 14 (D14) and 56 days (D56) of adaptation to overfeeding and control bread supplementation (O) or overfeeding and bread supplemented with fibers mixture (O+F) in the artery (A) or hepatic vein (HV).

		O				O+F				P value		
		D1	D14	D56	SEM	D1	D14	D56	SEM	Diet	Time	Diet x Time
Insulin (µg/L)	A	0.05	0.15	0.14	0.02	0.09	0.13	0.14	0.02	0.68	0.03	0.54
HOMA-IR (AU)	A	0.26	0.90	0.82	0.12	0.55	0.75	0.85	0.12	0.75	0.04	0.44
Metabolites												
Glucose	A	4.93	5.57	5.26	0.14	5.22	5.15	5.34	0.14	0.93	0.28	0.16
(mmol/L)	HV	5.81	5.93	5.74	0.38	5.74	5.71	6.57	0.33	0.72	0.22	0.07
Lactate	A	0.42	0.62	0.68	0.02	0.44	0.58	0.72	0.02	0.76	<0.001	0.70
(mmol/L)	HV	0.50	0.64	0.74	0.05	0.44	0.80	0.94	0.04	0.14	<0.001	0.17
Urea	A	4.30	3.78	3.94	0.17	4.15	3.60	3.56	0.18	0.36	0.10	0.90
(mmol/L)	HV	4.40	3.74	4.14	0.24	4.23	3.66	3.53	0.21	0.39	0.16	0.67
Ammonia	A	42.1	44.0	42.2	5.6	36.3	37.7	45.0	5.6	0.70	0.65	0.58
(mmol/L)	HV	61.7	52.9	58.6	7.9	46.3	39.4	52.6	6.9	0.28	0.21	0.70
β-hydroxybutyrate	A	11.5	8.1	8.8	0.8	14.8	7.2	7.3	0.8	0.80	0.01	0.32
(mmol/L)	HV	15.0	10.8	11.4	2.3	24.5	10.6	13.3	1.9	0.24	0.03	0.33
Acetate	A	613	755	679	15	664	658	664	15	0.37	0.11	0.08
(µmol/L)	HV	692	886	786	32	819	931	880	28	0.06	0.04	0.76
Propionate	A	20.7	27.4	22.1	0.6	22.6	23.3	20.3	0.6	0.13	0.01	0.11
(µmol/L)	HV	27.3	31.1	27.7	3.3	25.5	36.7	33.1	2.9	0.50	0.39	0.75
Butyrate	A	2.97	5.45	5.40	0.75	3.15	5.01	2.53	0.75	0.34	0.13	0.37
(µmol/L)	HV	8.53	9.04	7.69	1.72	8.15	12.8	9.19	1.50	0.48	0.14	0.36
Σ SCFA	A	636	788	707	16	689	687	687	16	0.34	0.09	0.08
(µmol/L)	HV	728	926	822	34	853	981	922	29	0.06	0.04	0.82
Amino acids (µmol/L)												
Leucine	A	177	193	211	8	171	183	211	9	0.65	0.01	0.90
	HV	172	200	224	9	176	196	214	8	0.76	0.03	0.91
Isoleucine	A	126	157	144	7	119	157	147	7	0.90	0.004	0.88
	HV	126	162	148	8	121	165	149	7	0.95	0.01	0.94
Valine	A	324	314	362	11	314	313	365	12	0.85	0.04	0.94
	HV	308	314	386	9	317	317	378	8	0.97	0.04	0.91
Lysine	A	166	165	156	8	163	163	177	8	0.62	0.96	0.39
	HV	166	168	157	9	155	163	172	8	0.95	0.91	0.57
Phenylalanine	A	64.1	71.3	77.2	3.4	63.4	65.3	76.7	3.5	0.63	0.005	0.66
	HV	59.1	69.1	76.3	3.6	61.7	65.2	72.1	3.2	0.70	0.002	0.50
Methionine	A	22.4	26.8	25.2	1.9	22.9	29.4	25.1	2.0	0.72	0.03	0.77
	HV	21.3	26.4	21.9	1.8	22.1	30.2	25.0	1.6	0.31	0.004	0.70
Threonine	A	156	161	166	8	164	164	172	9	0.65	0.57	0.94
	HV	142	156	167	7	158	156	167	6	0.59	0.23	0.65
Tryptophane	A	51.6	53.9	45.8	3.1	49.2	58.3	49.5	3.2	0.68	0.17	0.71
	HV	52.5	59.3	49.0	4.6	51.4	56.8	48.4	4.1	0.83	0.17	0.98
Histidine	A	90.0	101.6	104.3	4.6	91.8	100.6	108.0	4.7	0.82	<0.001	0.76
	HV	90.7	100.9	100.0	4.8	90.6	102.1	108.1	4.3	0.64	<0.001	0.33

Alanine	A	210	280 <i>a</i>	238 <i>a</i>	12	206	325	296 <i>b</i>	12	0.07	<0.001	0.22
	HV	190	240 <i>a</i>	192 <i>a</i>	16	172	309 <i>b</i>	270 <i>b</i>	14	0.06	0.003	0.10
Glutamate	A	127	182	154	12	114	167	189	13	0.90	<0.001	0.17
	HV	218	321	358	52	221	357	402	46	0.69	<0.001	0.79
Glutamine	A	357	375	373	22	378	400	390	23	0.52	0.44	0.97
	HV	329	363	277	24	324	329	328	22	0.90	0.07	0.08
Glycine	A	801	982	849	38	865	1036	880	39	0.38	0.002	0.94
	HV	819	1008	823	53	852	994	885	47	0.71	0.03	0.82
Proline	A	308	338	297	8	295	347	325	8	0.49	0.13	0.63
	HV	308	316	299	16	292	333	361	14	0.36	0.52	0.37
Tyrosine	A	82.9	89.0	86.4	8.0	78.4	90.3	87.6	8.2	0.96	0.18	0.79
	HV	79.0	87.5	88.3	9.8	72.3	86.7	79.5	8.7	0.68	0.12	0.71
Serine	A	128	176	164	7	144	186	177	7	0.20	<0.001	0.94
	HV	113a	168	156	7	145b	175	167	6	0.10	<0.001	0.16
Arginine	A	107	126	126	4	111	126	140	4	0.29	0.003	0.51
	HV	106	128	122	5	109	124	151	4	0.17	0.01	0.12
Citrulline	A	82.8	85.0	86.2	4.1	77.9	103.1	97.5	4.6	0.20	0.03	0.09
	HV	94.3	109.4	104.8	6.8	89.5	127.6	116.3	6.4	0.36	<0.001	0.11
Cystine	A	75.0	54.8	56.2	2.0	72.8	59.5	64.0	2.1	0.26	0.002	0.54
	HV	80.5	51.9	57.5	2.2	75.7	61.4	63.5	2.0	0.27	0.008	0.51
Ornithine	A	72.4	95.6	69.4	2.4	68.8	90.7	80.2	2.5	0.84	<0.001	0.10
	HV	83.9	98.2	74.5	3.4	72.7	94.2	85.0	3.0	0.74	<0.001	0.07
Asparagine	A	18.7	35.6	21.1	2.9	19.4	30.2	23.5	2.9	0.86	0.003	0.56
	HV	18.1	34.3	17.2	4.8	7.9	16.8	12.1	4.3	0.11	0.03	0.39
Aspartate	A	8.6	12.4	8.4	0.97	7.3	12.1	9.5	1.0	0.91	0.002	0.62
	HV	10.0	13.2	10.4	1.3	9.8	15.9	12.8	1.2	0.38	0.01	0.55
Taurine	PV	104	155 <i>a</i>	117	9	95	116	108 <i>b</i>	10	0.15	0.001	0.10
	HV	109	136	108	8	106	118	106	7	0.44	0.002	0.25
LBP (ng/L)	A	3.16	2.94	3.68	0.43	2.51	1.71	2.99	0.43	0.18	0.25	0.85
	PV	3.07	3.02	4.24	0.48	1.46	0.93	3.00	0.51	0.03	0.11	0.86
	VSH	3.18	3.03	3.35	0.48	2.51	1.78	3.17	0.40	0.28	0.32	0.63
IL6 (pg/mL)	A	5.09	4.90	5.45	0.45	4.23	4.29	5.95	0.46	0.62	0.20	0.57

Values are means P-values were obtained by Two Way Repeated Measures ANOVA.

a,b letters different : for a metabolite, within the same time point, O and O+F are significantly different or tend (t) to be different

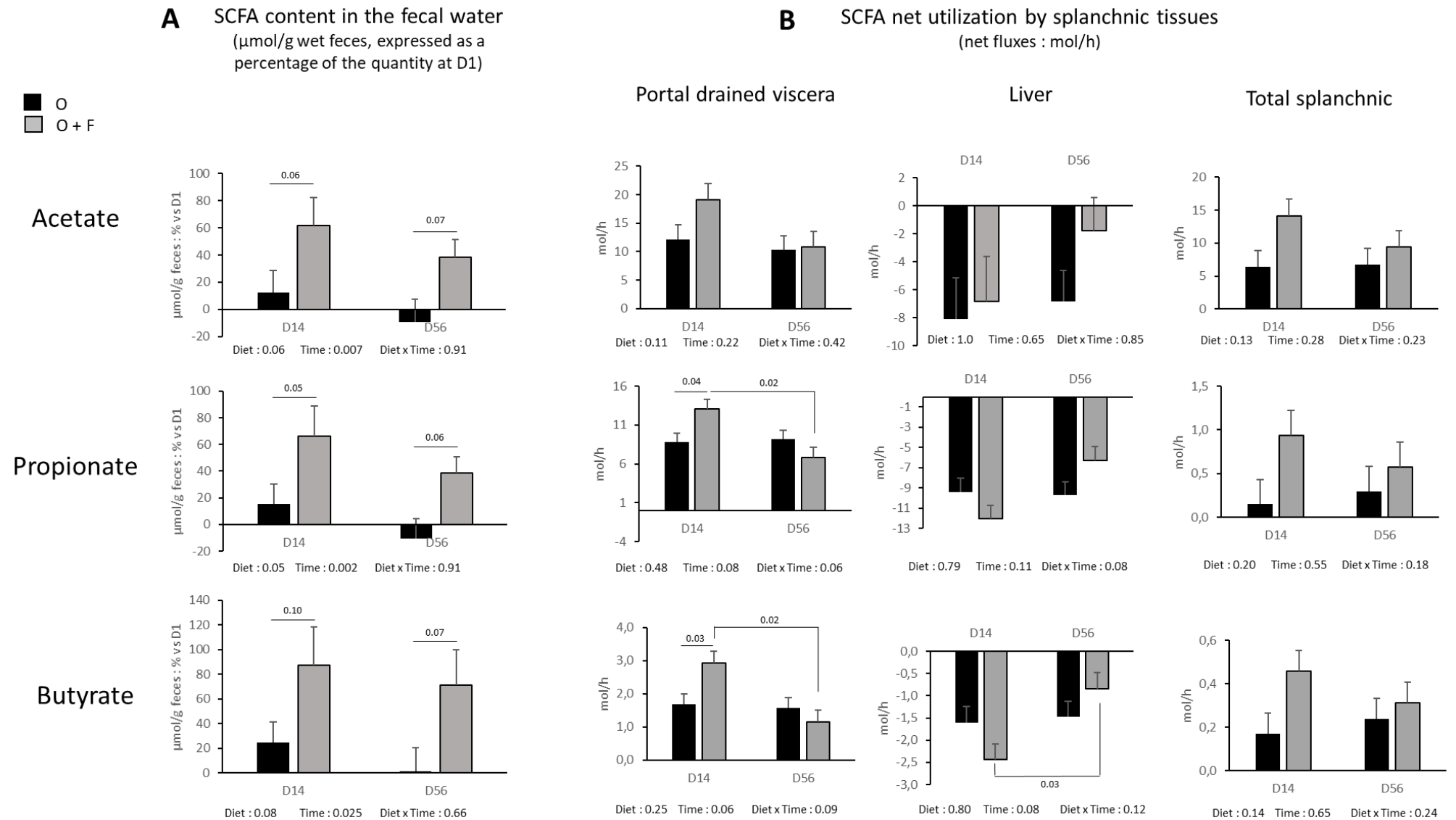
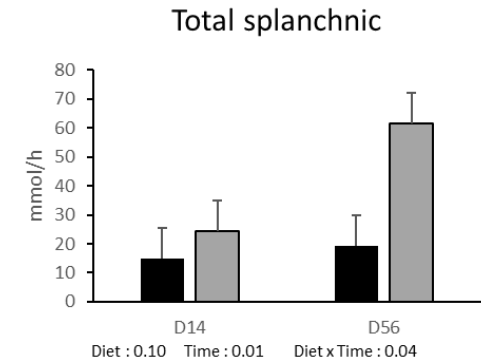
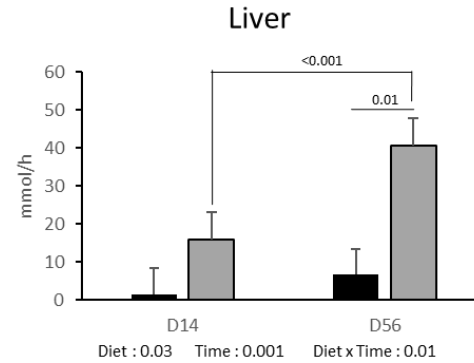
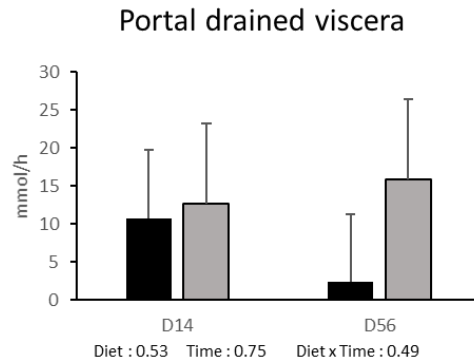


Figure 1: Short chain fatty acids (SCFA) (acetate, propionate and butyrate). **A** Concentration in the fecal water ($\mu\text{mol/g}$ wet feces) expressed as a percentage of the quantity at D1. **B** Net flux across the splanchnic tissues (mol/h) (portal drained viscera (PDV), liver, and total splanchnic tissues (TSP) (PDV + liver) after 14 (D14) and 56 (D56) days of nutritional treatment with O and O+F diets

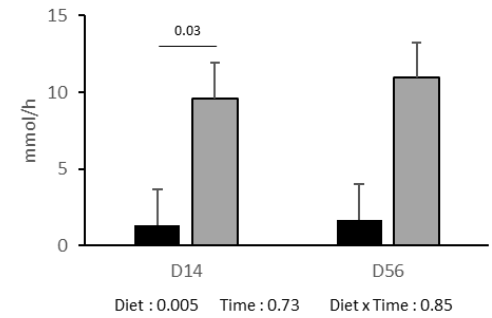
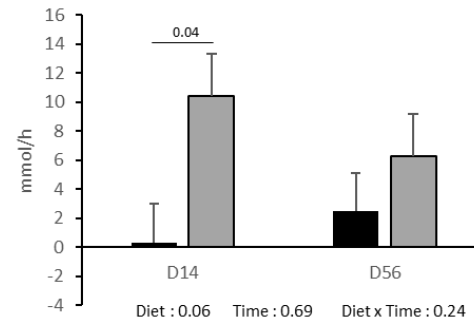
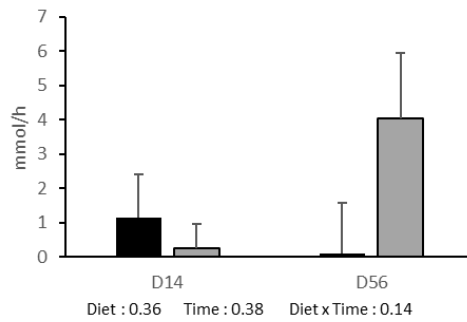
Net utilization of glucose, lactate and urea by splanchnic tissues (net fluxes : mmol/h)

■ O
 ■ O+F

Glucose



Lactate



Urea

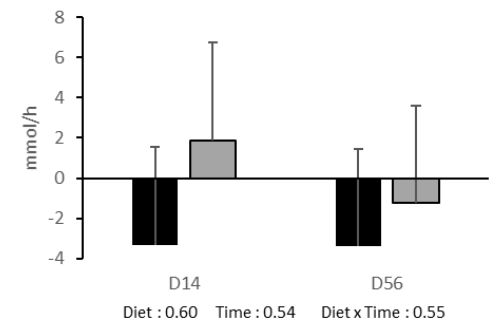
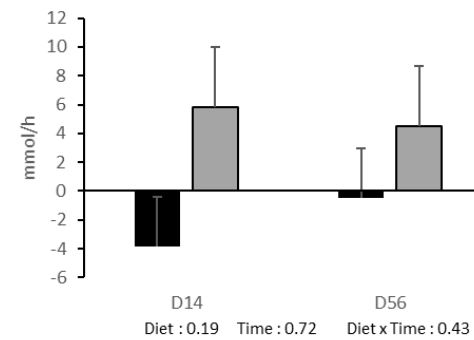
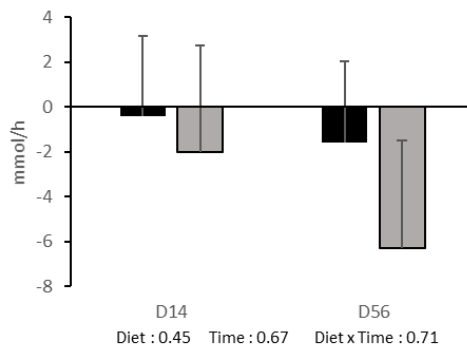


Figure 2: Glucose, lactate and urea net fluxes (mmol/h) (across the splanchnic tissues (portal drained viscera (PDV), liver, and total splanchnic tissues (PDV + liver) TSP)) after 14 (D14) and 56 (D56) days of nutritional treatment with O and O+F diets

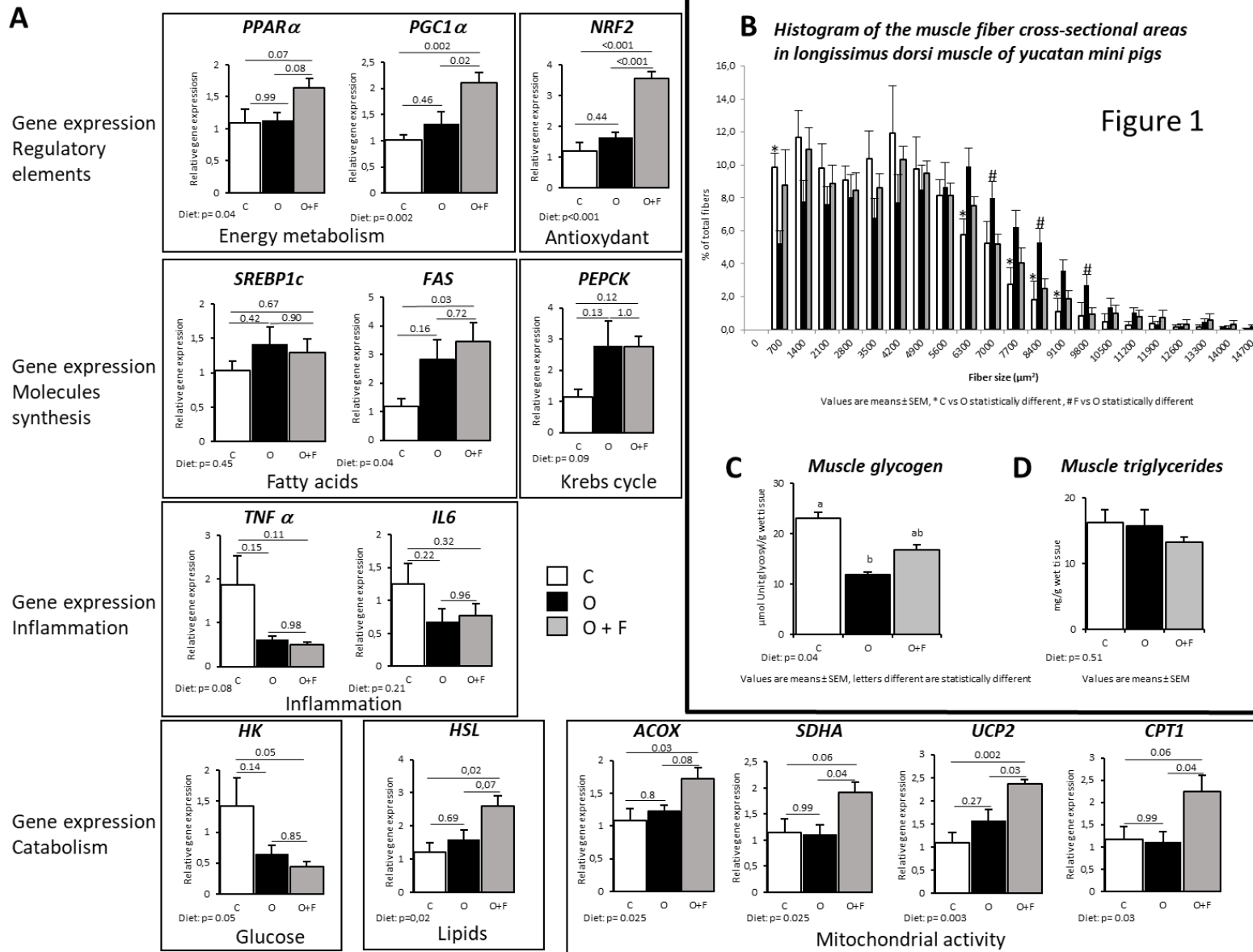


Figure 3 : Muscle (Longissimus Dorsi) metabolic activity in mini pigs fed a control (C) diet, following 56 days of overnutrition (O) or 56 days of overnutrition and supplementation with a mix of dietary fibers (O+F). A Histogram if the muscle fibers cross-sectional area; **B** genes expression **C** glycogen content; **D** Triglycerides content; **C** glycogen content; **D** Triglycerides content

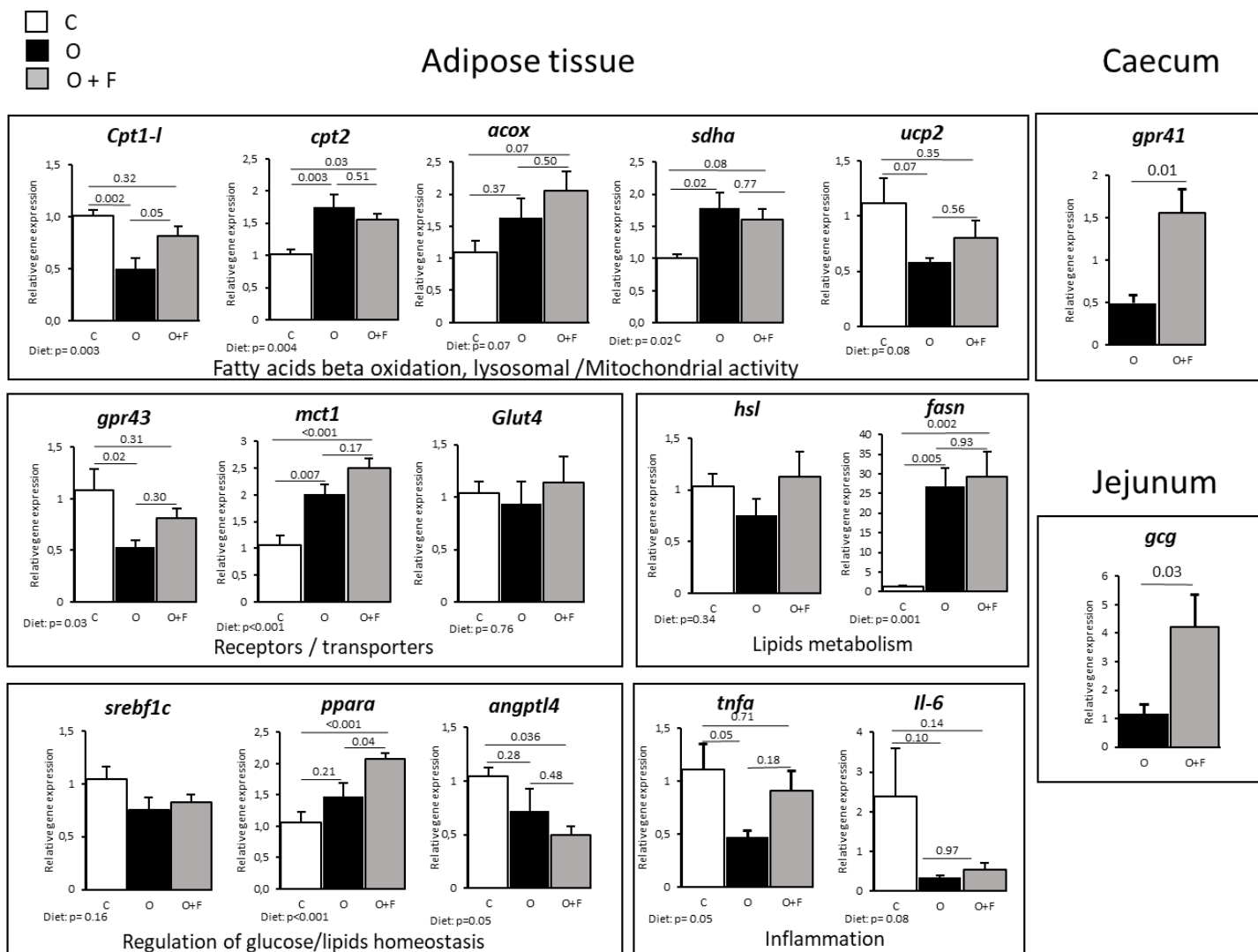


Figure 4: Adipose (sub-cutaneous) tissue, caecum and jejunum genes expression in mini pigs fed a control (C) diet, following 56 days of overnutrition (O) or 56 days of overnutrition and supplementation

Table 2: Primer sequences used for qRT-PCR

Gene symbol	Primer sequence (Forward)	Primer sequence (Reverse)
<i>Acox</i>	GACCTGAGCGGCCTACCTGA	CATCAGGAACCTGGCCGTCT
β -Act	GCGGCATCCACGAACTACC	CTCTGGAGGCGCGATGATCT
<i>Angptl4</i>	CTCTGGTGGTTGGTGGTTTG	GCTACTGTGGGCTGGATCA
<i>Cpt1</i>	GACGAGGACCCCTGATGGTG	CGTGGATCCCAGGAGAATCG
<i>Cpt-m</i>	CTGCAGGGGGAAGAGTGGAG	TTGAACGCGATGAGGGTGAA
<i>Cpt2</i>	TACGAGTCTGTAGCACTGC	TGGTTGTGGTACTCGGAACA
<i>Eef1a</i>	ACCTGTGCTGGATTGCCACA	AACAGCAAATCGGCCAGAG
<i>Fasn</i>	CGGTTCCAAGGAGCAAGGTG	GCATTACGATGCCGTTACG
<i>Gapdh</i>	ACGGTCCATGCCATCACTG	CCAGTGAGCTTCCCGTTGA
<i>Gcg</i>	CCCAGGATTTTGTGCAGTGG	GCAATGAATTCCTTGGCAGC
<i>Gpr41</i>	CTCCGTGTACCTCTTGACGT	AGACGGTGGTGAAGAAGAGG
<i>Gpr43</i>	GAGTGATTGCTGCTCTGGTG	TGGGGATGAAGAAGAGGACG
<i>Glut4</i>	GCCCGCGAGAAAGAGTCTGA	GCCGTCTCGAAGATGCTGGT
<i>Hk1</i>	AGCTAAGAGTCTGGCCCCC	CGCCATTAGGTGGCTTCTGC
<i>Hprt1</i>	TATGGACAGGACTGAACGGC	TGGTCATTACAGTAGCTCTTACG
<i>Hsl</i>	CGTCTCTAGCAAACATGGCA	TCACTGTCTGTCTTACG
<i>Il-6</i>	TGGGTTCAATCAGGAGACCT	GTGGTGGCTTTGTCTGGATT
<i>Mct1</i>	TGGCTGTCATGTATGGTGGAA	AAGCCCAAGACCTCCAATGA
<i>Nrf2</i>	ATCCAGGTTTCTTCGGCT	TGGAACCGTGCTAGTCTCAG
<i>Pepck-m</i>	CTGGAAACCCGGTGACAAGG	GGGGGACTCCTTTGGGTCTG
<i>PGC-1α</i>	AGGCAGAAGGCAATTGAAGA	TTCAAGAGCAGCAAAAGCA
<i>Ppara</i>	CAGCAATAACCCGCCTTTCG	ACTTGGCGAACTCCGTGAGC
<i>Pparg</i>	TGTGAAGGATGCAAGGGTTTC	CAACAGCTTCTCTTCTCAGC
<i>Rps9</i>	TTGAAGGGAATGCTCTGCTG	GGACAATGAAAGGACGGGATG
<i>Srebp-1c</i>	AGGCAGCACCTTTCAGACC	GCGGTAGCGTTTCTCGATGG
<i>Sdha</i>	CCTCCGTGGTAGAGCTAGAG	TACCGCAGAGACCTTCCGTA
<i>Slc27a4</i>	TGCAGTACATTGGCGAGCT	ACACTGGCCGTCAAAGTTG
<i>Tbp</i>	TTTTGGAGGAGCAGCAAAGG	GTGGAAGAGCTGTGGAGTCT
<i>Tnfa</i>	TGTAGCCAATGTCAAAGCCG	ATGGCAGAGAGGAGGTTGAC
<i>Ucp2</i>	TCGACGCCTACAAGACCATC	GCAGGGAAGGTCATCTGTCA

Acox, Acyl-CoA oxidase 1 and 2; β -Act, β -actin; *Angptl4*, angiopoietin like 4, *Cpt1*, Carnitine O-Palmitoyl transferase 1; *Cpt1-m*, Carnitine O-Palmitoyl transferase 1 muscular; *Cpt2*, Carnitine O-Palmitoyl transferase 2; *Eef1a*, Elongation factor 1-alpha; *Fasn*, Fatty Acid Synthase; *Gapdh*, Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase; *Gcg*, Glucagon precursor; *Gpr41*, G Protein-Coupled Receptor 41; *Gpr43*, G Protein-Coupled Receptor 43; *Glut4*, Glucose Transporter Type 4; *Hk1*, Hexokinase-1; *Hprt1*, Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase 1; *Hsl*, Hormone-Sensitive Lipase; *Il-6*, Interleukin-6; *Mct1*, Monocarboxylate Transporter 1; *Nrf2*, nuclear factor erythroid 2-related factor 2; *Pgc-1 α* , Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 α ; *Pepck-m*, Phosphoenolpyruvate Carboxykinase muscular; *Ppara*, Peroxisome proliferator-activated receptor alpha; *Pparg*, Peroxisome proliferator-activated receptor gamma; *Rps9*, Ribosomal Protein S9; *Srebp-1c*, Sterol regulatory element-binding protein; *Sdha*, Succinate Dehydrogenase Complex Flavoprotein Subunit A; *Slc27a4*, Solute Carrier Family 27 Member 4; *Tbp*, TATA-Box Binding Protein; *Tnfa*, Tumor Necrosis Factor; *Ucp2*, Uncoupling Protein 2

Données supplémentaires

Table 1: Net flux (mmol/h) of ammonia, beta hydroxybutyrate (b-OH), the sum of the three short chain fatty acids (Σ SCFA), and amino acids across the portal drained viscera (PDV), liver and total splanchnic tissues (TSP) in the fasted state after 14 (D14) and 56 (D56) days of nutritional treatment.

		O			O+F			P value		
		D14	D56	SEM	D14	D56	SEM	Diet	Time	Diet x Time
Ammonia	PDV	6818	7716	733	8470	6638	867	0.81	0.54	0.10
	liver	-6749	-7462	768	-9116	-6441	940	0.59	0.27	0.08
	TSP	419	868	454	-1999	-1272	497	0.13	0.18	0.74
b-OH	PDV	161	235	26	216	132	30	0.61	0.92	0.13
	liver	-24	-10	57	28	69	62	0.52	0.85	0.93
	TSP	146	236	56	157	222	52	0.99	0.54	0.92
Σ SCFA	PDV	22674	20960	2291	34682	18318	2510	0.24	0.13	0.21
	liver	-19115	-17255	2303	-20408	-10505	2303	0.46	0.23	0.40
	TSP	6737	7217	2253	13855	8554	2253	0.24	0.27	0.19
Leucine	PDV	92	403	184	-18	6	202	0.40	0.58	0.63
	liver	-167	208	187	316	26	187	0.61	0.91	0.41
	TSP	-143	320	163	380	188	163	0.45	0.61	0.24
Isoleucine	PDV	0	218	112	-93	-36	122	0.35	0.52	0.70
	liver	-39	137	134	159	24	134	0.84	0.94	0.59
	TSP	-107	138	89	142	122	89	0.41	0.50	0.44
Valine	PDV	497	41	395	-281	305	433	0.68	0.91	0.40
	liver	-1043	883	497	667	-84	497	0.63	0.50	0.16
	TSP	-727	376	296	101	510	296	0.31	0.17	0.51
Lysine	PDV	321	360	135	-6	190	147	0.26	0.59	0.71
	liver	-464	-505	196	-159	-592	196	0.72	0.35	0.43
	TSP	-57	-167	143	-13	-259	143	0.91	0.29	0.68
Phenylalanine	PDV	79	253	107	117	102	117	0.74	0.64	0.58
	liver	-488	-296	134	-213	-361	134	0.61	0.89	0.31
	TSP	-232	-33	134	-53	-196	134	0.97	0.84	0.23
Methionine	PDV	37	72	38	18	-30	42	0.34	0.94	0.57
	liver	-92	-262	88	-91	39	88	0.28	0.87	0.22
	TSP	-95	-229	61	-54	42	61	0.12	0.88	0.36
Threonine	PDV	-233	44	185	-356	23	203	0.81	0.41	0.90
	liver	-207	-320	255	-64	-415	255	0.95	0.29	0.57
	TSP	-433	-342	188	-296	-271	188	0.72	0.79	0.88
Tryptophane	PDV	-27	-25	69	-60	-69	76	0.73	0.98	0.96
	liver	-1	-56	90	5	-59	90	0.99	0.63	0.97
	TSP	214	147	181	-116	-41	181	0.36	0.98	0.69
Histidine	PDV	114	254	114	7	155	125	0.57	0.29	0.98
	liver	-158	-333	116	-60	-176	116	0.48	0.36	0.85
	TSP	-193	-302	88	-40	72	88	0.07	0.99	0.43
Σ BCAA	PDV	590	662	662	-393	275	725	0.52	0.71	0.77
	liver	-1249	1228	793	1142	-34	793	0.65	0.63	0.20
	TSP	-977	834	506	622	820	506	0.32	0.28	0.37

Σ indispensable AA	PDV	-3798	-2940	1201	-4941	-4674	1315	0.46	0.78	0.88
	liver	-4219	-2099	1518	-639	-3604	1518	0.66	0.82	0.20
	TSP	-8103	-6221	1110	-5585	-7016	1110	0.61	0.86	0.22
Alanine	PDV	1489	1504	395	606	1538	433	0.50	0.21	0.22
	liver	-3386	-3571	676	-1692	-2817	676	0.25	0.43	0.56
	TSP	-1878	-2149	429	-895	-1076	429	0.14	0.72	0.94
Glutamate	PDV	-1067	-267	249	89	-747	273	0.41	0.97	0.10
	liver	5364	11405	1972	7749	10764	1972	0.77	0.09	0.53
	TSP	5625	10698	1852	8266	10107	1852	0.72	0.09	0.39
Glutamine	PDV	-2252	-2778	471	-3859	-1954	516	0.60	0.32	0.10
	liver	2373	-2023	812	-20	-1162	812	0.55	0.07	0.25
	TSP	-1004	-4967	847	-3607	-2767	847	0.88	0.26	0.10
Glycine	PDV	872	4905	1630	-1323	4082	1786	0.56	0.01	0.63
	liver	166	-4478	2149	25	-4712	2149	0.96	0.27	0.99
	TSP	-1500	-2002	1835	-958	169	1835	0.64	0.93	0.81
Proline	PDV	-526	604	434	-814	781	475	0.94	0.08	0.73
	liver	-358	-351	350	770	-770	350	0.52	0.07	0.06
	TSP	-1376	-366	275	229 <i>b</i>	-125	275	0.06	0.60	0.29
<i>a</i>										
Tyrosine	PDV	163	22	83	-50	29	91	0.44	0.80	0.38
	liver	-451	-326	136	-207	-453	136	0.78	0.59	0.13
	TSP	-191	-227	105	-210	-350	105	0.65	0.34	0.57
Serine	PDV	-93	281	292	-411	-130	320	0.44	0.45	0.91
	liver	-196	-501	192	-341	-406	192	0.93	0.63	0.76
	TSP	-459	-480	220	-448	-432	220	0.93	1.00	0.97
Arginine	PDV	207	59	89	-43	-66	97	0.21	0.64	0.73
	liver	15	-354	309	-653	695	309	0.69	0.24	0.06
	TSP	136	-355	235	-409	696	235	0.49	0.43	0.06
Citrulline	PDV	1424	862	179	1036	1236	200	0.99	0.64	0.35
	liver	-180	-462	296	202	-194	296	0.60	0.26	0.31
	TSP	1234	691	266	912	725	298	0.87	0.31	0.61
Cystine	PDV	66	68	73	-79	74	80	0.55	0.40	0.41
	liver	-320	-29	113	-93	-75	113	0.82	0.86	0.71
	TSP	-283	-68	110	73	24	110	0.21	0.67	0.50
Ornithine	PDV	313	249	96	19	394	105	0.63	0.29	0.15
	liver	-97	-66	119	-82	-164	119	0.82	0.86	0.71
	TSP	155	165	60	66	289	60	0.85	0.27	0.31
Asparagine	PDV	12	527	130	198	67	142	0.52	0.48	0.25
	liver	-485	-979	126	-806	-604	126	0.90	0.66	0.31
	TSP	-73	-110	245	-571	-507	245	0.24	0.96	0.84
Aspartate	PDV	112	81	58	170	181	63	0.39	0.87	0.73
	liver	-169	48	80	-95	-20	80	0.98	0.21	0.51
	TSP	-2	142	38	83	176	38	0.32	0.04	0.60
Taurine	PDV	654	-231	219	-176	106	239	0.50	0.53	0.25

	liver	-616	-299	405	1	-208	405	0.57	0.90	0.56
	TSP	-41	-328	188	133	-19	188	0.41	0.38	0.78
Σ non indispensable AA	PDV	343	6267	2873	-4741	5204	3147	0.50	0.03	0.50
	liver	2365	-1707	4338	4018	1821	4338	0.70	0.61	0.88
	TSP	153	1016	3780	1918	9020	3780	0.41	0.49	0.58
Σ AA	PDV	1222	7887	3972	-5413	5851	4351	0.49	0.07	0.60
	liver	-295	-2252	5389	4578	224	5389	0.66	0.67	0.87
	TSP	-1619	925	4099	1969	9188	4099	0.36	0.44	0.71

Values are means P-values were obtained by Two Way Repeated Measures ANOVA ; For a metabolite : a,b At a same timepoint, O+F ≠ O; (t) : tendency

Discussion générale et perspectives

Les régimes hypercaloriques sont largement décrits comme favorables à l'installation des maladies chroniques nutri-induites comme l'obésité, le diabète et les MCV (398). A l'inverse, les régimes riches en fibres alimentaires, confèrent des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte (347) (partie II).

Les politiques de santé préconisent une consommation de fibres alimentaires minimale de 25 à 30 g/j alors que la consommation effective des français ne dépasse pas 20 g/j. Une des stratégies permettant d'augmenter la consommation des fibres par les populations consiste à proposer des produits enrichis en fibres alimentaires, en ciblant de préférence celles connues pour avoir un impact sur la santé métabolique. C'est notamment le cas des fibres fermentescibles qui, via leur dégradation dans le côlon par le microbiote et la synthèse de métabolites bioactifs, agissent sur la santé intestinale ainsi que sur le devenir et l'utilisation des nutriments énergétiques et azotés de l'hôte (**voir partie bibliographique**). La question est de savoir si cette supplémentation en fibres fermentescibles, via des aliments enrichis, est capable de réverser les dérives métaboliques induites par une alimentation riche en graisses et sucres, et si c'est le cas, de mieux connaître les mécanismes sous-jacents. C'était l'objet de mon travail de thèse, au cours duquel j'ai étudié l'effet d'une supplémentation alimentaire avec un mélange de pectine, inuline et amidons résistants, sur le phénotype et le métabolisme de mini-porcs adultes recevant un régime enrichi en acides gras saturés et en saccharose.

I. Résultats majeurs : du phénotype aux effets métaboliques et aux mécanismes de signalisation mis en jeu.

I. 1. Quels effets sur le phénotype ?

La supplémentation en fibres alimentaires, même en situation de surnutrition, a été capable de limiter l'apparition de certains phénotypes associés au développement de l'obésité et de l'insulino-résistance. La prise de poids des animaux a été 8% moindre chez les animaux supplémentés en fibres. Nous avons également montré une plus faible accumulation des gouttelettes lipidiques dans le foie. Enfin, la supplémentation en fibres a prévenu l'altération du phénotype des fibres musculaires observé avec la surnutrition.

Ces effets pourraient en partie s'expliquer par un moindre apport énergétique (-48 kJ /j) chez les animaux O relativement aux animaux O+F (O, apport énergétique : 11032 kJ /j ; O+F, apport énergétique : 10984 kJ /j), mais aussi par une baisse de la digestibilité de l'ensemble de la ration avec l'apport en fibres.

Par contre, et contrairement à ce qui a été montré dans la littérature, la supplémentation en fibres n'a eu que peu d'effets sur les paramètres plasmatiques périphériques. Comme cela a été expliqué dans la publication décrivant notre modèle de mini-porc en surnutrition (445), nos animaux en surnutrition (régime O) ont subi d'importantes perturbations métaboliques au niveau tissulaires sans pour autant induire un diabète ou une insulino-résistance marquée. Dans l'étude présente, on a toutefois observé un effet du régime O sur l'insulinémie, l'HOMA, la cholestérolémie (**publication N°1**) mais pas d'effet majeur sur la glycémie, la triglycéridémie ou sur les acides gras libres. La supplémentation en fibres alimentaires n'a eu aucun effet sur les concentrations plasmatiques des métabolites étudiés, que ceux-ci aient été modulés (insuline Homa, cholestérol) ou non (glucose, triglycérides) par la suralimentation. Il est probable qu'une durée plus longue d'adaptation aux régimes O et O+F (envisagé initialement mais malheureusement incompatible avec le maintien de cathéters fonctionnels dans le cadre de ma thèse) aurait permis une dérive plus forte de ces paramètres plasmatiques, comme usuellement constaté dans la littérature sur les modèles murins ou porcins d'obésité (446,447). L'effet potentiellement bénéfique des fibres aurait pu alors, éventuellement, être mis en évidence sur ces paramètres.

I. 2. Quels effets sur le métabolisme ?

Pour expliquer les altérations de phénotype observées avec la supplémentation en fibres, j'ai analysé plus précisément les échanges de nutriments entre tissus ou organes et voies métaboliques potentiellement modulées au niveau tissulaire.

➤ **Au niveau hépatique** : La réduction de l'accumulation de gouttelettes lipidiques au niveau hépatique peut s'expliquer par une moindre entrée de lipides dans le foie et une diminution de la lipogenèse (FABP, SREBP-1c). L'impact de ces effets métaboliques n'a pu être conforté par la mesure des bilans en nutriments lipidiques car nous n'avons pas analysé les lipides absorbés et transportés par les chylomicrons dans la lymphe puis le plasma, ni les lipides véhiculés dans le sang par les lipoprotéines (VLDL, IDL, HDL et LDL). Ces analyses, complémentaires, nécessiteraient une étude animale incluant des prélèvements de sang à l'état à jeun et nourri ainsi qu'un traitement adapté des échantillons de sang le jour du prélèvement (séparation des chylomicrons à l'état nourri par ultracentrifugation par exemple).

En parallèle de ces effets sur l'entrée et l'utilisation des lipides dans le foie, on assiste à une augmentation de l'émission des nutriment énergétiques (glucose, lactate) du foie vers les tissus périphériques (mesurés par bilans nets de nutriments) qui pourrait s'expliquer par une augmentation de glyco-génolyse et/ou de la néoglucogénèse (à étudier en détail, ce point restant à prouver) suite à une demande accrue en nutriments énergétiques de la part des tissus périphériques pour la β -oxydation (447,448).

➤ **Au niveau musculaire et tissu adipeux** : Le régime riche en fibres alimentaires a stimulé l'activité mitochondriale (augmentation de l'expression des gènes *Acox*, *Sdha*, *Ucp2* et *Cpt1-m*), ce qui est très cohérent avec le nombre plus élevé de fibres de petites tailles (plutôt oxydatives en général) observé chez les animaux supplémentés en fibres relativement aux animaux en surnutrition seule. La régulation de ces adaptations métaboliques mitochondriales sont très probablement régulées par *Pgc-1 α* et des gènes cibles ou associés comme (*Nrf2* et *Ppar-a*) car leur expression est augmentée avec la supplémentation en fibres. En parallèle, et pour également alimenter la β -oxydation mitochondriale, la lipolyse musculaire endogène semble également être stimulée lors de la supplémentation en fibres (augmentation de l'expression de *Hsl*). Par contre, une stimulation de l'entrée des lipides dans le muscle (via l'expression de *Slc27a4*) n'a pu être montrée dans notre modèle.

Le tissu adipeux semble également présenter une stimulation de sa β -oxydation mitochondriale suite à la supplémentation en fibres alimentaires. Mais cet effet est moins net que pour le muscle car seulement 2 gènes présentent une expression augmentée (*Cpt1*, *Ppara*) alors que d'autres ne sont pas modulés (*Acox*, *Cpt2*, *Sdha*, *Ucp2*).

➤ **Métabolisme intégré** : La conséquence de cette activation du catabolisme lipidique, au niveau musculaire et adipeux, est probablement une accumulation d'acétyl CoA au niveau tissulaire (et en particulier musculaire) chez les animaux supplémentés en fibres ainsi qu'une activation du cycle de Krebs. Or l'acétyl-CoA est connu pour inhiber la pyruvate déshydrogénase (449), ce qui va donc avoir pour effet une redirection du pyruvate (issu de la glycolyse) vers la synthèse de lactate et sa transamination en alanine. Ceci expliquerait les quantités accrues d'alanine artérielle observées chez les mini-porcs supplémentés en fibres. Un point reste néanmoins à élucider et mériterait d'être approfondi lors d'une étude ultérieure : L'alanine présente au niveau artériel devrait alimenter la néoglucogénèse hépatique. Or, même si l'émission nette de glucose hépatique est stimulée avec la supplémentation en fibres, nous n'avons pas vu de modification de l'expression du gène de la *Pepck* ou *G6P* ni de différence dans le captage net d'alanine par le foie entre les animaux en surnutrition supplémentés ou non en fibres. Le devenir de l'alanine dans l'organisme ainsi que l'activité de néoglucogénèse

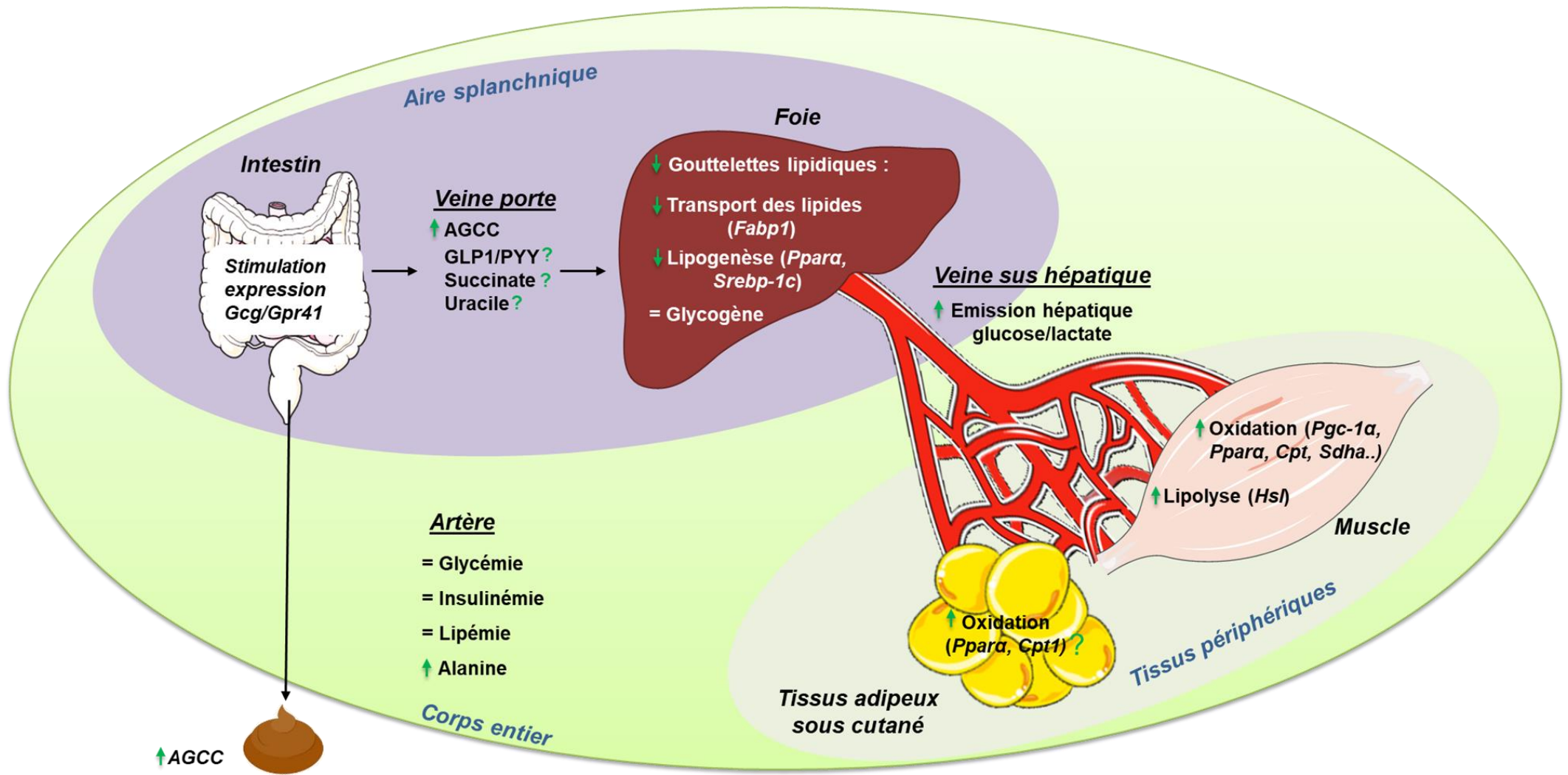


Figure 44 : Schéma récapitulatif des résultats marquants sur l'effet de la supplémentation du mélange de fibres fermentescibles (pectine, inuline et amidons résistants) dans le cadre d'une surnutrition chez les mini-porcs

hépatique (et les molécules impliquées dans la néoglucogenèse : propionate, lactate, glycérol, alanine) (447,448) dans notre modèle animal reste donc un point à approfondir. L'intégration de l'ensemble de ces résultats est réalisée dans la **Figure 44**.

I. 3. Par quels signaux métaboliques ou hormonaux les fibres ont-elles agi sur les différentes voies métaboliques modulées dans le foie, le muscle et le tissu adipeux ?

Comme nous l'avons précisé ci-dessus, l'ajout de fibres alimentaires fermentescibles a peu impacté sur les concentrations plasmatiques artérielles en nutriments (sauf alanine) après 56 jours de surnutrition. C'est le cas notamment de l'insuline, de l'HOMA et de la glycémie. Pour mieux appréhender l'état d'insulino-sensibilité de nos animaux, nous avons également réalisé un test de tolérance au glucose (IVGTT, non décrit dans les publications 1 et 2) par injection intraveineuse d'un bolus de glucose (0,3 g /kg). Nous en avons ainsi déduit un index de sensibilité à l'insuline (S2) comme décrit par (450). Les IVGTT ont été réalisés juste avant l'euthanasie des animaux à D57 ou D58. Comme pour l'HOMA, aucune différence n'a été constatée entre les animaux O et O+F sur cet indice pourtant beaucoup plus précis et discriminant. Les niveaux de cytokine pro-inflammatoires (IL-6) n'ont pas non plus été modulés différemment entre les deux groupes d'animaux en surnutrition malgré une augmentation de l'inflammation à bas bruit généralement constatée chez les individus développant de l'insulino-résistance (451,452). Pour compléter le tableau descriptif des paramètres plasmatiques qui pourraient être impliqués dans la régulation du métabolisme énergétique et l'insulino-résistance au niveau périphérique, la leptine et l'adiponectine, ainsi que d'autres cytokines pro (MCP-1, TNF- α , IL-6, IL-18) et anti inflammatoires (IL4, IL10, TGF β) (398) mériteraient d'être analysées ultérieurement sur notre modèle.

Si au niveau périphérique des métabolites ou hormones/signaux associés à l'insulino-résistance ou l'obésité ont été peu altérés, nous avons néanmoins émis des hypothèses sur des phénomènes régulateurs potentiels intervenant directement au niveau intestinal ou son environnement. Concernant, les fibres agissant dans le côlon via leur dégradation par le microbiote intestinal, nous avons montré une augmentation de la concentration des AGCC dans les eaux fécales sur la totalité de la durée expérimentale (et notamment le propionate et le butyrate (**voir publication n°2**)). Le butyrate est fortement utilisé dans les colonocytes alors que le propionate est utilisé dans le foie. Leur rôle au niveau des tissus périphériques reste hypothétique car leurs concentrations en artère ne sont pas différentes chez les animaux O et O+F.

Les AGCC peuvent cependant interagir avec l'intestin via une action sur leurs récepteurs et/ou en induisant la synthèse de peptides émis par les cellules intestinales. C'est le cas dans notre étude pour l'expression du gène *gpr41* qui est augmenté (+214 %) dans le caecum ainsi que le gène du proglucagon (*Gcg*) (+262 %) dans le jéjunum, précurseur notamment des peptides GLP-1 et GLP-2 impliqués dans la sécrétion d'insuline et la croissance intestinale. Ainsi, un approfondissement, au niveau intestinal, des interactions hôte-microbiote par une étude de la composition du microbiote, de l'activité de celui-ci et de l'impact du microbiote sur le métabolisme des colonocytes et des cellules L (et notamment leurs activités sécrétoires, GLP1 et PYY) permettraient de mieux mettre en évidence les métabolites et signaux potentiellement impliqués dans la réponse métabolique observée dans notre étude.

I. 4. Quelles questions les résultats de ma thèse ont-ils soulevées ?

Les données obtenues dans ma thèse ont soulevé trois types de questionnements à des niveaux différents.

- Un premier niveau, proche des données, concerne le microbiote (et son activité) et dans quelle mesure une modification de celui-ci peut avoir un impact sur les régulations métaboliques de l'hôte. Cela suppose d'identifier les espèces bactériennes présentes chez nos animaux avant et après les différentes stratégies nutritionnelles testées. Pour avoir une idée précise de l'activité bactérienne et de son impact sur l'hôte, une analyse des métabolites présents dans les fèces peut apporter des éléments de réponse.
- Un deuxième niveau, plus mécanistique et moléculaire, serait d'étudier l'impact qu'a pu avoir la supplémentation en fibres, notamment par l'intermédiaire des AGCC, sur les régulations épigénétiques au niveau tissulaire. Et en particulier de voir si directement, ou grâce à des relais, les fibres alimentaires sont capables de réguler le métabolisme au niveau des tissus périphériques par des régulations de type épigénétique.
- Le troisième type de questionnement est de savoir, à partir des résultats obtenus, comment il est possible d'imaginer aller plus loin, en envisageant notamment une étude chez l'homme, afin de prouver l'efficacité de la supplémentation nutritionnelle en fibres fermentescibles via une matrice pain sur la prise de poids et le développement des dérives métaboliques associées à l'ingestion de régimes obésogènes.

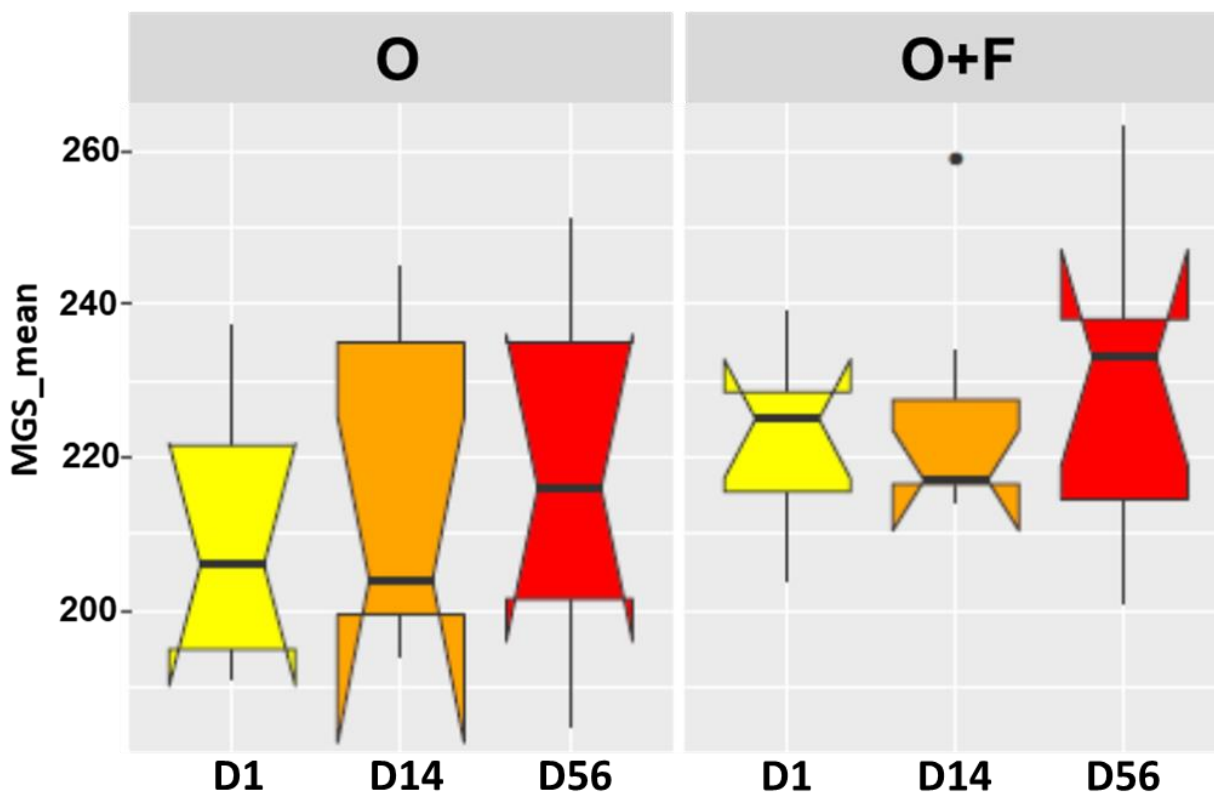


Figure 45 : Richesse en MGS chez les animaux supplémentés ou non avec des fibres alimentaires à D1, D14 et D56. D, jours ; O, régime en surnutrition ; O+F, régime en surnutrition supplémenté avec un mélange de fibres fermentescibles (pectine, inuline et amidons résistants) ; MGS, espèces métagénomiques.

II. Perspectives

II. 1. Rôle que pourrait jouer le microbiote et les métabolites qu'il produit sur les effets métaboliques tissulaires

II. 1. 1. La richesse du microbiote intestinal

Il a été déterminé par le Chatelier et coll. en 2013 que la richesse du microbiote intestinal était diminuée chez les obèses comparativement aux individus normo-pondérés (453). De plus cette réduction de la richesse bactérienne est associée à une diminution du phyla des bacteroidetes et une augmentation de celui des firmicutes (454). Même si très régulièrement montrées dans la littérature, les données ne sont pas complètement unanimes sur les proportions de ses deux populations puisqu'une étude de Schwiertz et coll. montre l'inverse chez les obèses (455). Cette différence dans les résultats peut s'expliquer par une production d'AGCC relativement plus élevée chez les obèses relativement aux sujets maigres utilisés comme contrôle, liée à une différence des taux de polysaccharides dans leur régimes (455). Des résultats similaires ont été montrés sur rongeurs (456,457).

Dans notre projet, nous avons cherché à déterminer dans quelle mesure nos régimes expérimentaux pouvaient moduler la diversité du microbiote au sens large ainsi que sa composition. Pour cela, une collaboration avec Métagénopolis (MGP) (Jouy en Josas) a été mise en place, et une analyse du métagénome bactérien issu des échantillons de fèces récupérés à D1, D14 et D56 sur les mini-porcs a été effectuée. L'ADN extrait (1) a été soumis à un séquençage en shotgun (Life Technologies 5500W ou Ion Proton). Au minimum 40 million de lectures « haute qualité » sont générées par échantillon, permettant la détection d'espèces bactériennes présentes à des proportions relatives de 10^{-7} (2). Les analyses bioinformatiques sont en cours, mais les données préliminaires semblent montrer que le régime en surnutrition, supplémenté ou non en fibres, n'a pas eu d'impact sur la richesse en espèces métagénomiques (MGS) présentes dans notre étude (**Figure 45**). Ceci pourrait paraître surprenant au regard de l'effet généralement constaté des régimes obésogènes sur la diversité bactérienne du microbiote des rongeurs lors des études interventionnelles ou chez des individus obèses (3). La relative courte durée de l'intervention nutritionnelle (2 mois) et la proportion relativement faible de lipides dans le régime de nos mini-porcs par rapport à ce qui est utilisé dans les études sur rongeurs pourraient expliquer ce manque d'effet de la surnutrition au sens large sur la richesse des bactéries fécales.

Actuellement des analyses plus approfondies sont en cours pour vérifier si la supplémentation en fibres n'a effectivement eu aucun effet sur la proportion relative des différentes espèces bactériennes (phyla) et sur les activités de dégradation des fibres spécifiques.

II. 1. 2. Les métabolites synthétisés par le microbiote intestinal

Suite à l'analyse de la composition du microbiote fécal, nous nous sommes intéressés aux activités bactériennes et aux molécules qui résultent de leur activité métabolique. Afin d'être plus exhaustif sur l'impact de la fermentation des fibres sur la production de métabolites potentiellement actifs sur l'hôte dans le côlon, nous avons utilisé l'outil « métabolomique » en complément des données sur les acides gras à chaîne courte mesurés par ailleurs par RMN dans les fèces (Voir publication n°2). Des mesures ont ainsi été réalisées sur des eaux fécales extraites depuis des fèces de nos mini-porcs collectées avant (D1), 14 jours (D14) et 56 jours (D56) après ingestion du régime en surnutrition seul ou enrichi en fibres alimentaires. J'ai réalisé une mise au point des conditions d'extraction des échantillons d'eaux fécales en collaboration avec le personnel de la plateforme PFEM de l'UNH. Les analyses des métabolites fécaux extraits ont été réalisées par la PFEM par chromatographie en phase gazeuse après dérivation des molécules extraites des eaux fécales avec le TBDMS (tert-butyle-diméthyl-silyle-imidazole). Les analyses sont actuellement en cours et ont consisté en deux types d'approche :

- **Approche non ciblée** : L'ensemble des ions (définis chacun par leurs masses et temps de rétention) obtenus par l'analyse chromatographique de nos échantillons et significativement modulés par nos interventions nutritionnelles ont été analysés et regroupés en « PC groups ». Chacun de ces groupes d'ions correspond potentiellement à une molécule ou famille de molécules. Ces groupes d'ions sont analysés et confrontés par la suite à des bases de données internes à la plateforme et/ou internationales pour identification de la molécule correspondant au groupe d'ions.
- **Approche ciblée** : Des molécules préalablement étudiées, connues et identifiées précisément par la plateforme PFEM dans le cadre d'une étude antérieure sur des eaux fécales (458) ont été recherchées spécifiquement dans nos échantillons.

R2 (cum) : 0,67

Q2 (cum) : 0,36

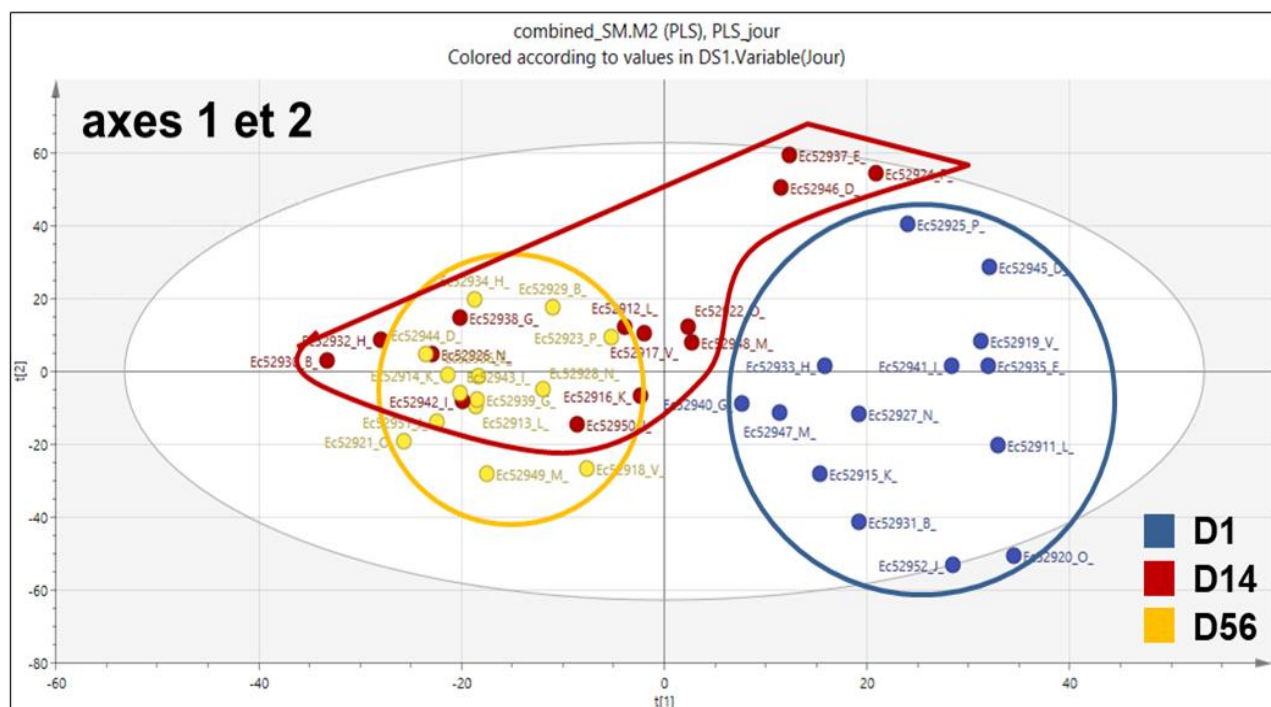


Figure 46 : Analyse discriminante par les moindres carrés partiels (PLS-DA) l'évolution du métabolome fécal des mini-porcs (O et O+F) entre D1 et D56

ANOVA (cofacteur Vague)	Nombre d'ions modulés par la supplémentation en fibres
À D1	0
À D14	18
À D56	63

Tableau 15 : Ions significativement modulés entre le groupe O et O+F à D14 et D56. Les données analysées par ANOVA au sein d'un même régime (effet temps d'adaptation aux régimes), puis analyse comparative a été réalisée entre régimes au sein d'un même temps (D1, D14 et D56) incluant une correction de la P-valeur par la procédure de Benjamini-Hochberg (BH) du fait du nombre important de données

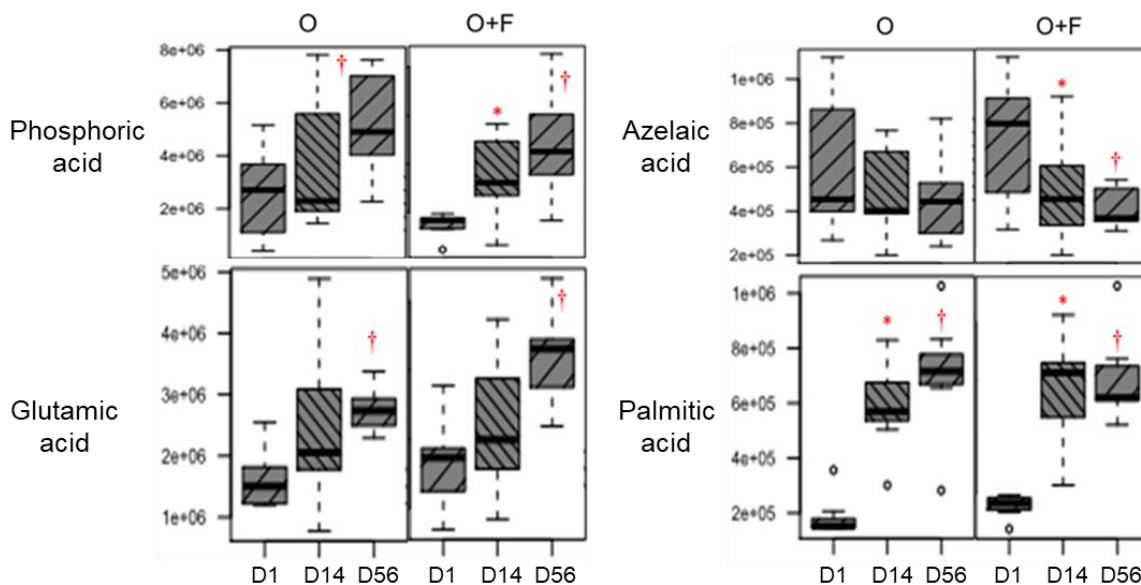
Les données préliminaires obtenues semblent montrer que contrairement aux données métagénomiques, le régime obésogène au sens large a très fortement impacté sur la composition totale en ions présents dans les eaux fécales, comme le montre l'analyse discriminante par les moindres carrés partiels (PLS-DA) réalisée sur l'ensemble des ions obtenus dans nos échantillons aux temps D1, D14 et D56 (régimes O et O+F confondus). Une ANOVA a également été réalisée pour déterminer un effet temps d'adaptation au régime obésogène et a montré que sur les 2830 ions détectés, 35% ont été significativement modulés par la surnutrition (**Figure 46**). Ceci est conforme aux fortes modulations du métabolisme tissulaire et du profil métabolomique urinaire, déjà observées dans une étude sur le même modèle animal en surnutrition par notre équipe de recherche (445).

Concernant l'impact spécifique des fibres alimentaires sur le profil métabolomique, 80 ions ont été identifiés par ANOVA (puis analyse comparative entre régimes au sein de chaque temps : D1, D14, D56) comme spécifiquement modulés par la nature du régime en surnutrition (O vs O+F) (**Tableau 15**). Ceci est inférieur au nombre ions modulés par le régime obésogène au sens large. Ces modifications sont visibles dès D14 et persistent à D56, ou sont présentes uniquement à D14 (effet régime transitoire), ou uniquement à D56 (effet régime plus tardif). Parmi ces ions significativement modulés, par la supplémentation en fibres, nous avons mis en évidence les molécules suivantes (**Figure 47**) :

- Acides gras et métabolites associés : Acide Hexanoïque (acide caproïque), méthylsuccinate
- Uracile
- Molécules inconnues à identifier : PC group 48 ou PC group 54

Chacune de ces molécules pourrait être considérée comme un relai potentiel (au même titre que les acides gras à chaînes courtes, augmentés avec le régime O+F dans les eaux fécales à D56) de l'action des fibres alimentaires sur la santé, via leur dégradation par le microbiote. Le succinate et/ou ses dérivés (méthylsuccinate ester par exemple), dont la concentration tend à être augmentée à D56 dans notre étude, a été montré comme favorisant la sécrétion d'insuline (459–461) en agissant directement ou en association avec le glucose sur les îlots de Langerhans. Récemment, l'augmentation de la concentration en succinate dans le caecum de souris liée à une supplémentation en fructooligosaccharides (FOS) semble pouvoir améliorer l'homéostasie glucidique et l'insulino-sensibilité (379). (379,380) (**partie IV.3. 2.**).

Exemple de molécules significativement altérées par la surnutrition



Exemples de molécules altérées significativement dans le groupe d'animaux supplémentés en fibre(O+F) relativement au groupe en surnutrition seule (O)

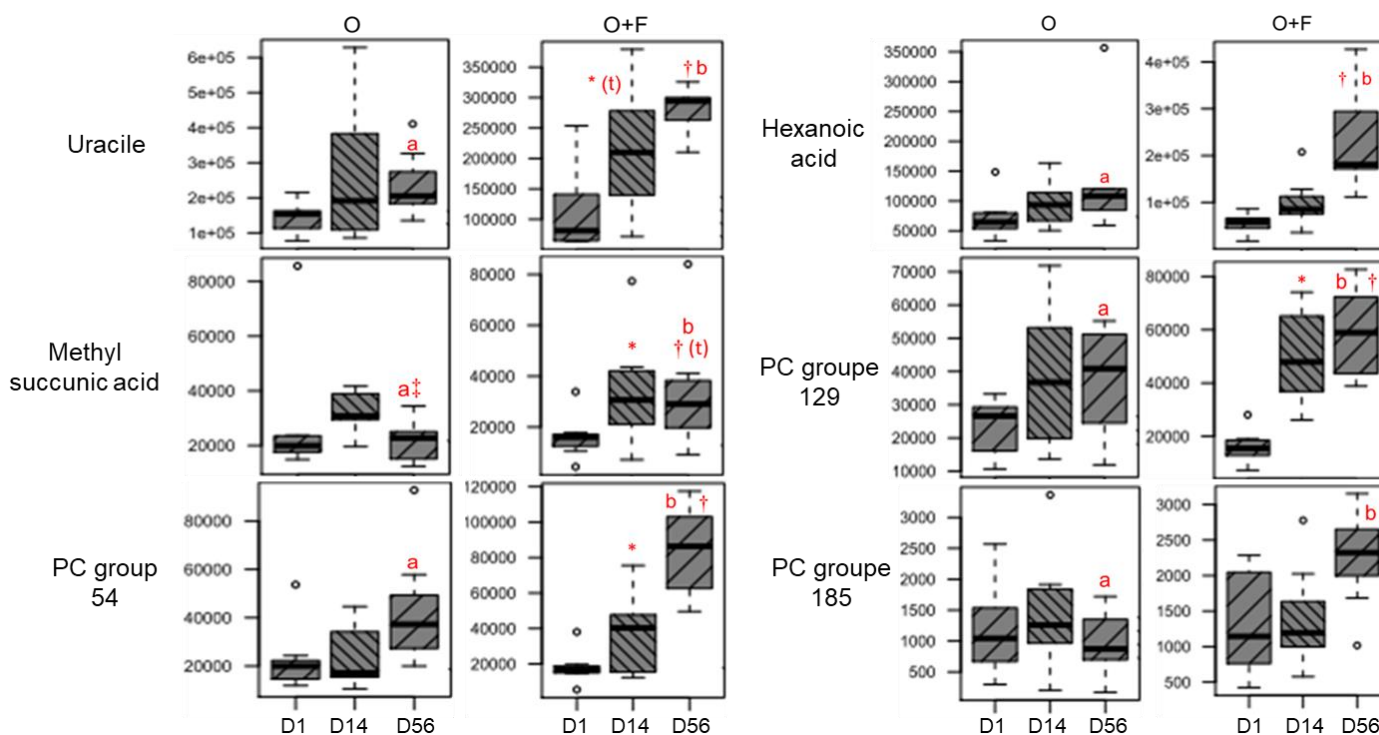


Figure 47 : Quelques exemples d'ions obtenus par métabolomique des eaux fécales suite à l'ingestion durant 1, 14 ou 56 jours des régimes O ou O+F. a et b : O ≠ O+F à D56 ; *, D1 ≠ D14 ; †, D1 ≠ D56 ; ‡, D14 ≠ D56 au sein d'un même régime. Statistique : les données statistiques ont été obtenues par ANOVA au sein d'un même régime (effet temps d'adaptation aux régimes), puis analyse comparative entre régimes au sein d'un même temps (D1, D14 et D56) avec une correction de la P-valeur par la procédure de Benjamini-Hochberg (BH)

L'interaction entre le succinate et le GLP1 (462,463), dont l'expression génique est stimulée également au niveau du caecum chez les animaux O+F vs O dans notre étude, mériterait également d'être étudiée. Néanmoins, comme pour les acides gras à chaînes courtes, le rôle potentiellement bénéfique du succinate reste à approfondir car des données récentes de Serena et coll. (2018) montrent, à l'inverse de notre hypothèse, que les taux plasmatiques de succinate étaient plus élevés chez les obèses, en lien avec une élévation des microbes producteurs de succinate dans le côlon (Prevotellaceae, Veillonellaceae) (464).

Le microbiote intestinal, en dégradant les polysaccharides pour former les principaux AGCC (acétate, propionate et butyrate), produit également d'autres AGCC comme l'hexanoate (acide caproïque) (465). Des études récentes mettent en exergue un lien entre l'acide hexanoïque et le métabolisme lipidique en induisant une diminution des TG plasmatique et l'activité de la FAS sur des cellules hépatiques (466,467). Le lien entre hexanoate et métabolisme hépatique mériterait donc d'être également approfondi.

Concernant l'uracile produit par le microbiote intestinal, est décrit dans la littérature comme pouvant stimuler l'immunité de l'hôte via l'activation de Nf-KB. L'activation du DUOX (double oxydase intestinale) constitue la première ligne de défense de l'hôte contre les infections entériques chez la drosophile. Le rôle de l'uracile dans l'activation de la voie DUOX est montré comme prépondérant dans l'activation de l'immunité intestinale et la survie de l'hôte lors du développement d'infections (468–470). Dans la majorité des études, le rôle de l'uracile produit par le microbiote a été investigué chez *C.Elegans*. On trouve peu d'études dans la littérature traitant du rôle de l'uracile libéré par la flore intestinale sur l'organisme, que ce soit chez les rongeurs ou chez l'homme.

En parallèle de ses quelques molécules décrites et identifiées ci-dessus, L'analyse statistique du métabolome fécal a sélectionné plusieurs groupes d'ions (PC groups) fortement altérés par le régime supplémenté en fibres. L'identification des PC groups est en cours : PC groups 129, 54 ou 185 (**Figure 47**). Les PC groups 54 et 185 sont tout particulièrement intéressants car ils sont modulés tardivement (entre D14 et D56) avec le régime supplémenté en fibre, suggérant une adaptation métabolique entre microbiote et hôte à plus long terme et non directement lié à un changement de régime (comme cela est le cas pour l'acide palmitique par exemple dont la concentration est augmentée avec la surnutrition dès D14 dans les régimes O et O+F). Ces premières données montrent donc qu'en plus des AGCC dont nous avons montré la modulation dans nos travaux en cours de publication. Il existe aussi d'autres molécules qui pourraient également jouer un rôle important dans la signalisation et interactions entre l'hôte et le microbiote.

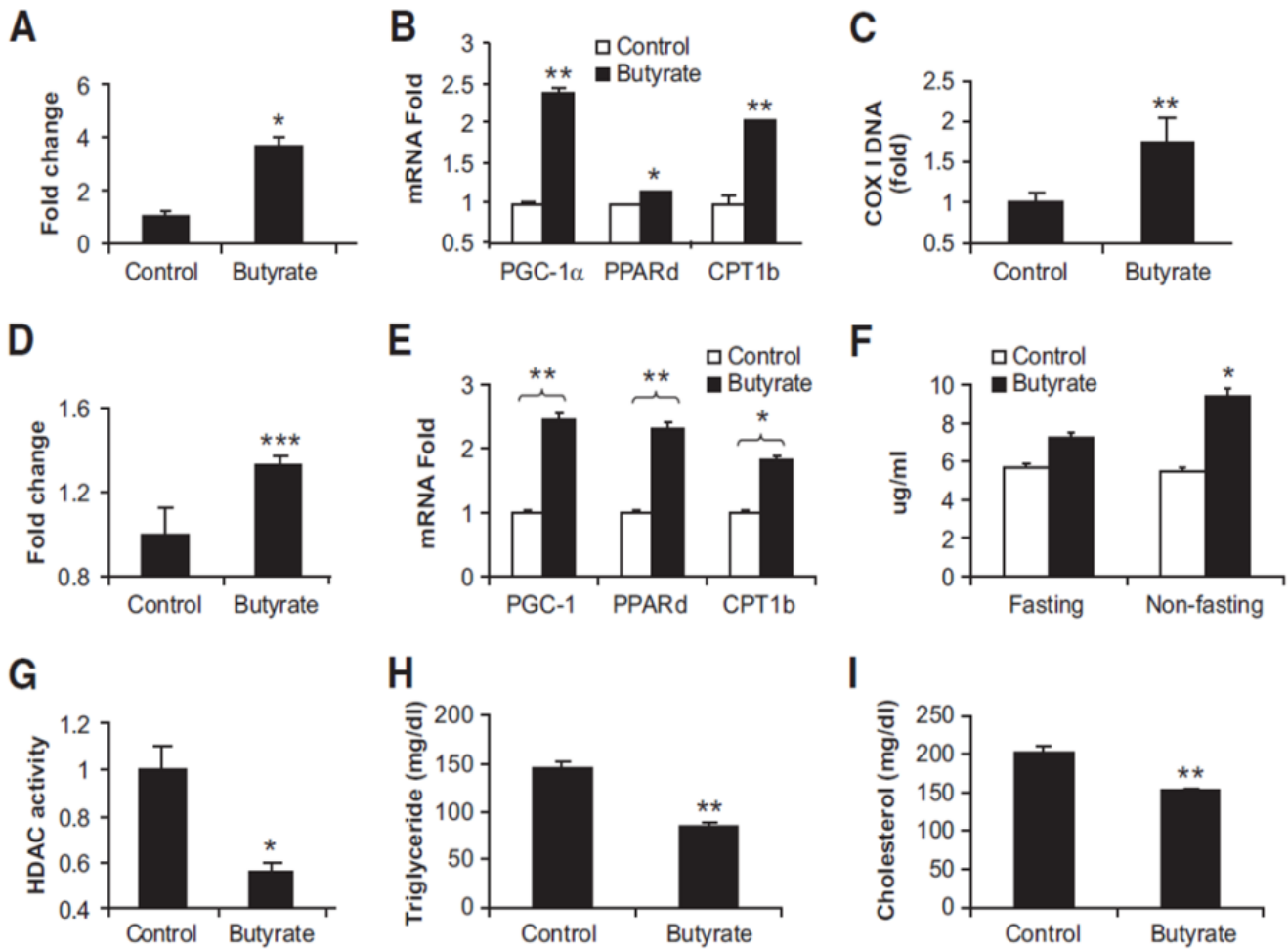


Figure 48 : Fonction mitochondriale et lipides dans le muscle. A) Oxydation des acides gras musculaires. B) Expression génique musculaire. C) ADN mitochondrial COX-I (cytochrome c oxydase I) déterminé par RT-PCR Green SYBR. D) oxydation des acides gras dans les cellules L6. E) Expression génique dans les cellules L6. F) Butyrate dans le sérum. G) Activité histone désacétylase dans le muscle. H) Triglycérides plasmatique. I) cholestérol total dans le sang (421)

II. 2. Impact de la supplémentation en fibres sur les régulations épigénétiques médiés par les HDACs.

Il a été remarqué dans la littérature que l'expression et l'activité des HDAC était inhibée lors d'une stéatose hépatique (sauf les HDAC 3) chez des souris (471,472). Ces modifications épigénétiques sont associées à une augmentation de la lipogenèse hépatique (SREBP-1c, FASN, SCD1, ChREBP) (471,472). Des études *in vitro*, sur hépatocytes, ont également mis en évidence que le butyrate pouvait inhiber l'expression de l'HDAC3, et stimuler l'expression des gènes du transport des lipides dans le foie ainsi que la β -oxydation (PPAR α , CPT1, FABP) (419,420). Ces études montrent que l'activation de la lipogenèse ou de l'oxydation des lipides peuvent potentiellement dépendre de l'activation ou de l'inhibition de certains HDAC, et en particulier de l'HDAC3. L'effet des HDAC sur la régulation du métabolisme énergétique ne se limite pas seulement au foie. Une étude de Gao et coll. en 2009 montrée sur des cellules musculaires *in vitro* (**Figure 48**), que le butyrate pouvait inhiber l'activité des HDAC (au sens large) et stimuler l'activité mitochondriale (423). Ainsi, le rôle des AGCC dans la régulation des HDACs, dans le cadre de notre étude, mériterait d'être exploré, en particulier au niveau hépatique et des tissus périphériques.

En effet, il a été montré par Gao et coll. en 2009, chez la souris, une relation négative entre l'ingestion de butyrate et la réduction de l'activité des HDAC au niveau musculaire (423). Dans le cadre de notre étude, l'absence de modification de concentration en AGCC artériels entre O et O+F à D56 nous fait interroger sur le rôle des AGCC sur la régulation des HDACs au niveau musculaire en particulier, même si cela a été montré par Gao et coll. (2009). Pour comprendre l'impact de ces AGCC sur le métabolisme hépatique et musculaire plusieurs analyses pourraient être envisagées :

- Définir les zones de l'ADN accessible au transcriptosome par des méthodologies de type ATAC-Seq
- Déterminer les gènes impactés par la régulation des HDAC, par CHIP-seq
- Décortiquer les interactions moléculaires entre HDAC et leurs gènes cibles, par CHIP-Seq et par la technique de retard sur gel (EMSA).

II. 3. Stratégie nutritionnelle et supplémentation en fibres fermentescibles : de l'effet bénéfique observé dans l'étude animale à une validation / application chez l'homme

Analyse critique de notre modèle nutritionnel : Les niveaux d'ingestion en fibres alimentaires sont très variables d'un individu et d'un pays à l'autre. Dans les pays industrialisés, la consommation de fibres alimentaires chez les adultes (proche de 20 g par jour en France) est inférieure à celle des pays en voie de développement où la consommation de fibres peut atteindre 100g par jour (*Nutrition*

humaine et sécurité alimentaire, Murielle MURAT, 2009). Rappelons que les recommandations pour la consommation des fibres alimentaires au sens large sont de l'ordre de 25-30 g/jour.

Quel parallèle peut-on faire avec les quantités de fibres ingérées par nos mini-porcs dans le cas du régime O et O+F ? Dans le cas de notre étude, la supplémentation en fibres dans le régime O+F est de 25g de fibres fermentescibles (inuline, amidon résistant et pectine) apportées par le pain. Malgré des effets bénéfiques des fibres alimentaires bien avérés dans la littérature, les fibres solubles en particulier peuvent également causer des ballonnements, flatulences, reflux et des douleurs abdominales (65,473,474). Aucun désordre digestif ou inconfort visible n'a été observé chez nos animaux (pas de vomissement, diarrhées, douleurs spécifiques chez les animaux pouvant se traduire par des prostrations ou comportements anormaux). Néanmoins, ces doses de supplémentation sont supérieures à ce qui est couramment utilisé dans les études interventionnelles où les suppléments en inuline, FOS, GOS... sont généralement de 10 grammes par jour chez l'homme (325), même si elles peuvent atteindre 20-30 g dans certaines études (276,278,475). Une étude chez l'homme nécessiterait donc au préalable une réflexion approfondie sur les doses maximales envisageables en supplémentation journalière associée à un suivi de l'impact des fibres supplémentées sur le confort digestif des volontaires.

Concernant les fibres ingérées par nos animaux dans mon étude de thèse, il ne faut pas oublier la quantité de fibres apportées à nos mini-porcs via le régime en surnutrition de base qui est d'environ 40g de cellulose (fibre très peu fermentescible). Ainsi, nos animaux O+F consomment un total de 65g de fibres par jour, ce qui est plus que les recommandations mais qui reste inférieur à ce que l'Humain mange quotidiennement dans certains pays où les végétaux riches en fibres représentent la base de l'alimentation. De plus, la cellulose, présente dans le régime de base de nos mini-porcs, a une action digestive ainsi qu'un devenir et des cibles métaboliques très différentes des fibres fermentescibles (**voir Bibliographie**).

Réalisation d'une étude chez l'homme : La validation de nos données animales chez l'homme impliquerait donc que le régime de base des volontaires soit forcément moins riche en fibres que dans le cas de notre étude animale (20g environ au lieu de 40 g). Du fait des effets importants obtenus au cours de ma thèse au niveau du métabolisme mitochondrial musculaire et adipeux, une étude chez l'homme testant l'impact de nos fibres alimentaires devrait inclure des mesures de dépenses énergétiques et des analyses du métabolisme mitochondrial dans le muscle et le tissu adipeux sous cutané. A ce jour, à part quelques études chez les rongeurs (408,458), très peu d'études chez l'homme se sont intéressées à l'impact des fibres alimentaires fermentescibles sur la dépense énergétique corporelle et l'oxydation des lipides, à part une étude récente de Chambers et coll. (2018) qui a montré chez l'homme qu'une supplémentation en propionate augmentait la dépense énergétique au repos via

une augmentation de l'oxydation des lipides corporels (476). Sachant qu'une augmentation des dépenses énergétiques sur le long terme peut se traduire par une perte de poids et une amélioration de l'insulino-sensibilité, le mélange de fibres fermentescibles que nous avons testées sur nos mini-porc seraient elles capables d'un effet similaire chez l'homme ?

Références

1. Eaton SB, Konner M. Paleolithic Nutrition. *New England Journal of Medicine*. 31 janv 1985;312(5):283-9.
2. Nestle M. Animal v. plant foods in human diets and health: is the historical record unequivocal? *Proceedings of the Nutrition Society*. mai 1999;58(2):211-8.
3. Richards MP. A brief review of the archaeological evidence for Palaeolithic and Neolithic subsistence. *European Journal of Clinical Nutrition*. déc 2002;56(12):1270-8.
4. Larsen CS. Biological Changes in Human Populations with Agriculture. *Annual Review of Anthropology*. 1995;24:185-213.
5. Leaf A, Antonio J. The Effects of Overfeeding on Body Composition: The Role of Macronutrient Composition – A Narrative Review. *Int J Exerc Sci*. 1 déc 2017;10(8):1275-96.
6. Ferro-Luzzi A, Martino L. Obesity and physical activity. *Ciba Found Symp*. 1996;201:207-21; discussion 221-227.
7. INCA 3 [Internet]. [cité 6 avr 2018]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/inca-3-evolution-des-habitudes-et-modes-de-consommation-de-nouveaux-enjeux-en-mati%C3%A8re-de>
8. Stephen AM, Champ MM-J, Cloran SJ, Fleith M, Lieshout L van, Mejbourn H, et al. Dietary fibre in Europe: current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health. *Nutrition Research Reviews*. déc 2017;30(2):149-90.
9. Polakof S, Rémond D, David J, Dardevet D, Savary-Auzeloux I. Time-course changes in circulating branched-chain amino acid levels and metabolism in obese Yucatan minipig. *Nutrition*. juin 2018;50:66-73.
10. Polakof S, Rémond D, Bernalier-Donadille A, Rambeau M, Pujos-Guillot E, Comte B, et al. Metabolic adaptations to HFHS overfeeding: how whole body and tissues postprandial metabolic flexibility adapt in Yucatan mini-pigs. *Eur J Nutr*. févr 2018;57(1):119-35.
11. Savary-Auzeloux I, Magne H, Migné C, Oberli M, Breuillé D, Faure M, et al. A Dietary Supplementation with Leucine and Antioxidants Is Capable to Accelerate Muscle Mass Recovery after Immobilization in Adult Rats. *PLoS One*. 29 nov 2013;8(11).
12. Magne H, Savary-Auzeloux I, Vazeille E, Claustre A, Attaix D, Anne L, et al. Lack of muscle recovery after immobilization in old rats does not result from a defect in normalization of the ubiquitin-proteasome and the caspase-dependent apoptotic pathways. *J Physiol (Lond)*. 1 févr 2011;589(Pt 3):511-24.
13. Boirie Y, Morio B, Caumon E, Cano NJ. Nutrition and protein energy homeostasis in elderly. *Mechanisms of Ageing and Development*. 1 mars 2014;136-137:76-84.
14. Dardevet D, Rémond D, Peyron M-A, Papet I, Savary-Auzeloux I, Mosoni L. Muscle Wasting and Resistance of Muscle Anabolism: The “Anabolic Threshold Concept” for Adapted Nutritional Strategies during Sarcopenia. *ScientificWorldJournal*. 23 déc 2012;2012.
15. Marzani B, Balage M, Vénien A, Astruc T, Papet I, Dardevet D, et al. Antioxidant

Supplementation Restores Defective Leucine Stimulation of Protein Synthesis in Skeletal Muscle from Old Rats. *J Nutr.* 1 nov 2008;138(11):2205-11.

16. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* déc 2006;444(7122):1027-31.
17. Biagi E, Franceschi C, Rampelli S, Severgnini M, Ostan R, Turrioni S, et al. Gut Microbiota and Extreme Longevity. *Curr Biol.* 06 2016;26(11):1480-5.
18. Slavin J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients.* 22 avr 2013;5(4):1417-35.
19. Trowell H. The development of the concept of dietary fiber in human nutrition. *Am J Clin Nutr.* 1 oct 1978;31(10):S3-11.
20. Topping DL, Clifton PM. Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides. *Physiological Reviews.* 1 juill 2001;81(3):1031-64.
21. Jones JR, Lineback DM, Levine MJ. Dietary Reference Intakes: Implications for Fiber Labeling and Consumption: a Summary of the International Life Sciences Institute North America Fiber Workshop, June 1–2, 2004, Washington, Dc. *Nutrition Reviews.* 1 janv 2006;64(1):31-8.
22. Tunland BC, Meyer D. Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* oct 2002;1(3):90-109.
23. Charalampopoulos D, Rastall RA. Prebiotics in foods. *Current Opinion in Biotechnology.* 1 avr 2012;23(2):187-91.
24. Hutkins RW, Krumbeck JA, Bindels LB, Cani PD, Fahey G, Goh YJ, et al. Prebiotics: why definitions matter. *Curr Opin Biotechnol.* févr 2016;37:1-7.
25. Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, Mustafa S, Yusof RM, Hassan FA. Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods.* 1 oct 2013;5(4):1542-53.
26. Les fibres alimentaires | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. [cité 9 mai 2018]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/les-fibres-alimentaires%C2%A0-0>
27. Prosky L, Asp NG, Schweizer TF, DeVries JW, Furda I, Lee SC. Determination of soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J AOAC Int.* juin 1994;77(3):690-4.
28. Tobaruela E de C, Santos A de O, Almeida-Muradian LB de, Araujo E da S, Lajolo FM, Menezes EW. Application of dietary fiber method AOAC 2011.25 in fruit and comparison with AOAC 991.43 method. *Food Chemistry.* 1 janv 2018;238:87-93.
29. Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes.* 1 juill 2012;3(4):289-306.

30. Cummings JH, Stephen AM. Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*. 9 nov 2007;61(S1):S5-18.
31. Gidenne T. Dietary fibres in the nutrition of the growing rabbit and recommendations to preserve digestive health: a review. *animal*. févr 2015;9(2):227-42.
32. Kumar V, Sinha AK, Makkar HPS, Boeck G de, Becker K. Dietary Roles of Non-Starch Polysachharides in Human Nutrition: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1 oct 2012;52(10):899-935.
33. Anttila H, Sontag-Strohm T, Salovaara H. Viscosity of beta-glucan in oat products. *Agricultural and Food Science*. 1 sept 2004;13:80-7.
34. Theuwissen E, Mensink RP. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiol Behav*. 23 mai 2008;94(2):285-92.
35. El Khoury D, Cuda C, Luhovyy BL, Anderson GH. Beta Glucan: Health Benefits in Obesity and Metabolic Syndrome [Internet]. *Journal of Nutrition and Metabolism*. 2012 [cité 22 août 2018]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/jnme/2012/851362/>
36. Bohn JA, BeMiller JN. (1→3)-β-d-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers*. 1 janv 1995;28(1):3-14.
37. Ren Y, Ellis PR, Ross-Murphy SB, Wang Q, Wood PJ. Dilute and semi-dilute solution properties of (1→3), (1→4)-β-d-glucan, the endosperm cell wall polysaccharide of oats (*Avena sativa* L.). *Carbohydrate Polymers*. 1 sept 2003;53(4):401-8.
38. Qaisrani T, Mansoor M, Mahmood Qaisrani T, Rehmani MIA. Arabinoxylans from psyllium husk: A review. *Journal of Environmental and Agricultural Sciences* 2313-8629. 16 févr 2016;6:33-9.
39. Voragen AGJ, Coenen G-J, Verhoef RP, Schols HA. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct Chem*. 13 mars 2009;20(2):263.
40. Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*. 1 juin 2008;11(3):266-77.
41. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*. 1 avr 2017;161:118-39.
42. Zhao C, Wu Y, Liu X, Liu B, Cao H, Yu H, et al. Functional properties, structural studies and chemo-enzymatic synthesis of oligosaccharides. *Trends in Food Science & Technology*. 1 août 2017;66:135-45.
43. Apolinário AC, de Lima Damasceno BPG, de Macêdo Beltrão NE, Pessoa A, Converti A, da Silva JA. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymers*. 30 janv 2014;101:368-78.
44. Crittenden RG, Playne MJ. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science & Technology*. 1 nov 1996;7(11):353-61.
45. Campbell JM, Bauer LL, Fahey George C, Hogarth AJCL, Wolf BW, Hunter DE. Selected

Fructooligosaccharide (1-Kestose, Nystose, and 1F- β -Fructofuranosylnystose) Composition of Foods and Feeds. *J Agric Food Chem.* 1 août 1997;45(8):3076-82.

46. Broekaert WF, Courtin CM, Verbeke K, Wiele TV de, Verstraete W, Delcour JA. Prebiotic and Other Health-Related Effects of Cereal-Derived Arabinoxylans, Arabinoxylan-Oligosaccharides, and Xylooligosaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 31 janv 2011;51(2):178-94.
47. Fuentes-Zaragoza E, Sánchez-Zapata E, Sendra E, Sayas E, Navarro C, Fernández-López J, et al. Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch - Stärke.* 63(7):406-15.
48. Singh J, Kaur L, Singh H. Chapter Four - Food Microstructure and Starch Digestion. In: Henry J, éditeur. *Advances in Food and Nutrition Research* [Internet]. Academic Press; 2013 [cité 31 juill 2018]. p. 137-79. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124165557000047>
49. Asp N-G, Amelsvoort JMM van, Hautvast JG a. J. Nutritional Implications Of Resistant Starch. *Nutrition Research Reviews.* janv 1996;9(1):1-31.
50. Englyst HN, Hudson GJ. The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chemistry.* 1 sept 1996;57(1):15-21.
51. Fuentes-Zaragoza E, Sánchez-Zapata E, Sendra E, Sayas E, Navarro C, Fernández-López J, et al. Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch - Stärke.* 1 juill 2011;63(7):406-15.
52. Sharma A, Yadav BS, Ritika. Resistant Starch: Physiological Roles and Food Applications. *Food Reviews International.* 24 mars 2008;24(2):193-234.
53. Berg T, Singh J, Hardacre A, Boland MJ. The role of cotyledon cell structure during in vitro digestion of starch in navy beans. *Carbohydrate Polymers.* 15 janv 2012;87(2):1678-88.
54. Capuano E. The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2 nov 2017;57(16):3543-64.
55. Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT. Dietary fibre in foods: a review. *J Food Sci Technol.* juin 2012;49(3):255-66.
56. Capuano E. The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2 nov 2017;57(16):3543-64.
57. Guillon F, Champ M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International.* 1 avr 2000;33(3):233-45.
58. Raigond P, Ezekiel R, Raigond B. Resistant starch in food: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 95(10):1968-78.
59. Kumar V, Sinha AK, Makkar HPS, de Boeck G, Becker K. Dietary Roles of Non-Starch Polysaccharides in Human Nutrition: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* oct 2012;52(10):899-935.

60. Li BW, Andrews KW, Pehrsson PR. Individual Sugars, Soluble, and Insoluble Dietary Fiber Contents of 70 High Consumption Foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 1 déc 2002;15(6):715-23.
61. Lentle RG, Janssen PWM. Physical characteristics of digesta and their influence on flow and mixing in the mammalian intestine: a review. *J Comp Physiol B*. 1 août 2008;178(6):673-90.
62. Mudgil D, Barak S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1 oct 2013;61:1-6.
63. Slavin J, Savarino V, Paredes-Diaz A, Fotopoulos G. A Review of the Role of Soluble Fiber in Health with Specific Reference to Wheat Dextrin. *J Int Med Res*. 1 févr 2009;37(1):1-17.
64. Fuller S, Beck E, Salman H, Tapsell L. New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review. *Plant Foods Hum Nutr*. 1 mars 2016;71(1):1-12.
65. Eswaran S, Muir J, Chey WD. Fiber and Functional Gastrointestinal Disorders. *The American Journal of Gastroenterology*. mai 2013;108(5):718-27.
66. Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC, Emam A, Jenkins DJA. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol*. mars 2006;40(3):235-43.
67. Hamaker BR, Tuncil YE. A Perspective on the Complexity of Dietary Fiber Structures and Their Potential Effect on the Gut Microbiota. *Journal of Molecular Biology*. 25 nov 2014;426(23):3838-50.
68. McKee LH, Latner TA. Underutilized sources of dietary fiber: A review. *Plant Foods Hum Nutr*. 1 déc 2000;55(4):285-304.
69. Kumar V, Sinha AK, Makkar HPS, Boeck G de, Becker K. Dietary Roles of Non-Starch Polysaccharides in Human Nutrition: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1 oct 2012;52(10):899-935.
70. Collaborators TG 2015 O. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine*. 6 juill 2017;377(1):13-27.
71. Gallagher EJ, LeRoith D. Obesity and Diabetes: The Increased Risk of Cancer and Cancer-Related Mortality. *Physiol Rev*. juill 2015;95(3):727-48.
72. Zeyda M, Stulnig TM. Obesity, Inflammation, and Insulin Resistance – A Mini-Review. *GER*. 2009;55(4):379-86.
73. Jung UJ, Choi M-S. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 11 avr 2014;15(4):6184-223.
74. INCA 2 [Internet]. [cité 6 avr 2018]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/inca-2-les-r%C3%A9sultats-dune-grande-%C3%A9tude>
75. ObEpi-Roche 2012 : enquête nationale sur l'obésité et le surpoids [Internet]. [cité 27 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.roche.fr/innovation-recherche-medicale/decouverte-scientifique->

medicale/cardio-metabolisme/enquete-nationale-obepi-2012.html

76. Ye EQ, Chacko SA, Chou EL, Kugizaki M, Liu S. Greater Whole-Grain Intake Is Associated with Lower Risk of Type 2 Diabetes, Cardiovascular Disease, and Weight Gain. *J Nutr.* 1 juill 2012;142(7):1304-13.
77. Lairon D. Dietary fiber and control of body weight. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 1 janv 2007;17(1):1-5.
78. Liu S, Willett WC, Manson JE, Hu FB, Rosner B, Colditz G. Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women. *Am J Clin Nutr.* 1 nov 2003;78(5):920-7.
79. Du H, A VD, L D, Boshuizen HC, Forouhi NG, Wareham NJ, et al. Dietary fiber and subsequent changes in body weight and waist circumference in European men and women. *Am J Clin Nutr.* 1 févr 2010;91(2):329-36.
80. Bazzano LA, Song Y, Bubes V, Good CK, Manson JE, Liu S. Dietary Intake of Whole and Refined Grain Breakfast Cereals and Weight Gain in Men. *Obesity Research.* 13(11):1952-60.
81. Vijver LPL van de, Bosch LMC van den, Brandt PA van den, Goldbohm RA. Whole-grain consumption, dietary fibre intake and body mass index in the Netherlands cohort study. *European Journal of Clinical Nutrition.* janv 2009;63(1):31-8.
82. Byrd-Williams CE, Strother ML, Kelly LA, Huang TTK. Dietary fiber and associations with adiposity and fasting insulin among college students with plausible dietary reports. *Nutrition.* sept 2009;25(9):896-904.
83. McKeown NM, Yoshida M, Shea MK, Jacques PF, Lichtenstein AH, Rogers G, et al. Whole-Grain Intake and Cereal Fiber Are Associated with Lower Abdominal Adiposity in Older Adults. *J Nutr.* oct 2009;139(10):1950-5.
84. Davis JN, Alexander KE, Ventura EE, Toledo-Corral CM, Goran MI. Inverse relation between dietary fiber intake and visceral adiposity in overweight Latino youth¹²³. *Am J Clin Nutr.* nov 2009;90(5):1160-6.
85. Fischer K, Pick JA, Moewes D, Nöthlings U. Qualitative aspects of diet affecting visceral and subcutaneous abdominal adipose tissue: a systematic review of observational and controlled intervention studies. *Nutr Rev.* 1 avr 2015;73(4):191-215.
86. Johnson L, Mander AP, Jones LR, Emmett PM, Jebb SA. Energy-dense, low-fiber, high-fat dietary pattern is associated with increased fatness in childhood. *Am J Clin Nutr.* 1 avr 2008;87(4):846-54.
87. Shay CM, Van Horn L, Stamler J, Dyer AR, Brown IJ, Chan Q, et al. Food and nutrient intakes and their associations with lower BMI in middle-aged US adults: the International Study of Macro-/Micronutrients and Blood Pressure (INTERMAP)¹²³. *Am J Clin Nutr.* sept 2012;96(3):483-91.
88. Kromhout D, Bloemberg B, Seidell JC, Nissinen A, Menotti A. Physical activity and dietary fiber determine population body fat levels: the Seven Countries Study. *International Journal of Obesity.* mars 2001;25(3):301-6.

89. Lin Y, Huybrechts I, Vereecken C, Mouratidou T, Valtueña J, Kersting M, et al. Dietary fiber intake and its association with indicators of adiposity and serum biomarkers in European adolescents: the HELENA study. *Eur J Nutr.* 1 août 2015;54(5):771-82.
90. Anderson JW, Baird P, Davis RH, Ferreri S, Knudtson M, Koraym A, et al. Health benefits of dietary fiber. *1 avr 2009;67(4):188-205.*
91. Koh-Banerjee P, Franz M, Sampson L, Liu S, Jacobs DR, Spiegelman D, et al. Changes in whole-grain, bran, and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men. *Am J Clin Nutr.* 1 nov 2004;80(5):1237-45.
92. Liu S, Stampfer MJ, Hu FB, Giovannucci E, Rimm E, Manson JE, et al. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. *Am J Clin Nutr.* 1 sept 1999;70(3):412-9.
93. Kim SJ, de Souza RJ, Choo VL, Ha V, Cozma AI, Chiavaroli L, et al. Effects of dietary pulse consumption on body weight: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* mai 2016;103(5):1213-23.
94. Vergnaud A-C, Norat T, Romaguera D, Mouw T, May AM, Romieu I, et al. Fruit and vegetable consumption and prospective weight change in participants of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition–Physical Activity, Nutrition, Alcohol, Cessation of Smoking, Eating Out of Home, and Obesity study. *Am J Clin Nutr.* 1 janv 2012;95(1):184-93.
95. Rautiainen S, Wang L, Lee I-M, Manson JE, Buring JE, Sesso HD. Higher Intake of Fruit, but Not Vegetables or Fiber, at Baseline Is Associated with Lower Risk of Becoming Overweight or Obese in Middle-Aged and Older Women of Normal BMI at Baseline. *J Nutr.* mai 2015;145(5):960-8.
96. Ruottinen S, Lagström HK, Niinikoski H, Rönnemaa T, Saarinen M, Pahkala KA, et al. Dietary fiber does not displace energy but is associated with decreased serum cholesterol concentrations in healthy children. *Am J Clin Nutr.* 1 mars 2010;91(3):651-61.
97. Dahl WJ, Stewart ML. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics.* 1 nov 2015;115(11):1861-70.
98. Wanders AJ, Borne JJGC van den, Graaf C de, Hulshof T, Jonathan MC, Kristensen M, et al. Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy intake and body weight: a systematic review of randomized controlled trials. *Obesity Reviews.* 1 sept 2011;12(9):724-39.
99. Pol K, Christensen R, Bartels EM, Raben A, Tetens I, Kristensen M. Whole grain and body weight changes in apparently healthy adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled studies. *Am J Clin Nutr.* 1 oct 2013;98(4):872-84.
100. Serra-Majem L, Bautista-Castaño I. Relationship between bread and obesity. *British Journal of Nutrition.* avr 2015;113(S2):S29-35.
101. Thompson SV, Hannon BA, An R, Holscher HD. Effects of isolated soluble fiber supplementation on body weight, glycemia, and insulinemia in adults with overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 1 déc 2017;106(6):1514-28.

102. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 1 janv 2010;87(1):4-14.
103. Mathers CD, Loncar D. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030. *PLOS Medicine*. 28 nov 2006;3(11):e442.
104. OMS | Journée mondiale de la Santé 2016 - Soyez plus fort que le diabète [Internet]. WHO. [cité 3 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2016/fr/>
105. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 1 déc 2011;94(3):311-21.
106. Schwingshackl L, Hoffmann G, Lampousi A-M, Knüppel S, Iqbal K, Schwedhelm C, et al. Food groups and risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol*. 2017;32(5):363-75.
107. Meyer KA, Kushi LH, Jacobs DR, Slavin J, Sellers TA, Folsom AR. Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *Am J Clin Nutr*. 4 janv 2000;71(4):921-30.
108. Schulze MB, Liu S, Rimm EB, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *Am J Clin Nutr*. 1 août 2004;80(2):348-56.
109. Montonen J, Knekt P, Härkänen T, Järvinen R, Heliövaara M, Aromaa A, et al. Dietary Patterns and the Incidence of Type 2 Diabetes. *Am J Epidemiol*. 1 févr 2005;161(3):219-27.
110. Lindström J, Peltonen M, Eriksson JG, Louheranta A, Fogelholm M, Uusitupa M, et al. High-fibre, low-fat diet predicts long-term weight loss and decreased type 2 diabetes risk: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetologia*. 1 mai 2006;49(5):912-20.
111. The InterAct Consortium TIC. Dietary fibre and incidence of type 2 diabetes in eight European countries: the EPIC-InterAct Study and a meta-analysis of prospective studies. *Diabetologia*. 2015;58(7):1394-408.
112. Lillioja S, Neal AL, Tapsell L, Jacobs DR. Whole Grains, Type 2 Diabetes, Coronary Heart Disease, and Hypertension: Links to the Aleurone preferred over Indigestible Fiber. *Biofactors*. mai 2013;39(3):242-58.
113. de Munter JSL, Hu FB, Spiegelman D, Franz M, van Dam RM. Whole Grain, Bran, and Germ Intake and Risk of Type 2 Diabetes: A Prospective Cohort Study and Systematic Review. *PLoS Med* [Internet]. août 2007 [cité 2 juill 2018];4(8). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1952203/>
114. Sun Q, Spiegelman D, van Dam RM, Holmes MD, Malik VS, Willett WC, et al. White Rice, Brown Rice, and Risk of Type 2 Diabetes in US Men and Women. *Arch Intern Med*. 14 juin 2010;170(11):961-9.
115. Borneo R, León AE. Whole grain cereals: functional components and health benefits. *Food Funct*. 3 févr 2012;3(2):110-9.
116. Harding A-H, Wareham NJ, Bingham SA, Khaw K, Luben R, Welch A, et al. Plasma Vitamin

C Level, Fruit and Vegetable Consumption, and the Risk of New-Onset Type 2 Diabetes Mellitus: The European Prospective Investigation of Cancer–Norfolk Prospective Study. *Arch Intern Med.* 28 juill 2008;168(14):1493-9.

117. Dietary fibre and incidence of type 2 diabetes in eight European countries: the EPIC-InterAct Study and a meta-analysis of prospective studies. *Diabetologia.* 2015;58(7):1394-408.
118. Weng L-C, Lee N-J, Yeh W-T, Ho L-T, Pan W-H. Lower intake of magnesium and dietary fiber increases the incidence of type 2 diabetes in Taiwanese. *Journal of the Formosan Medical Association.* 1 nov 2012;111(11):651-9.
119. Cooper AJ, Forouhi NG, Ye Z, Buijsse B, Arriola L, Balkau B, et al. Fruit and vegetable intake and type 2 diabetes: EPIC-InterAct prospective study and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* oct 2012;66(10):1082-92.
120. Li M, Fan Y, Zhang X, Hou W, Tang Z. Fruit and vegetable intake and risk of type 2 diabetes mellitus: meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ Open* [Internet]. 5 nov 2014 [cité 2 juill 2018];4(11). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4225228/>
121. Yao B, Fang H, Xu W, Yan Y, Xu H, Liu Y, et al. Dietary fiber intake and risk of type 2 diabetes: a dose-response analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol.* févr 2014;29(2):79-88.
122. Silva FM, Kramer CK, Almeida D, C J, Steemburgo T, Gross JL, et al. Fiber intake and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Rev.* 1 déc 2013;71(12):790-801.
123. Anderson JW, Ward K. High-carbohydrate, high-fiber diets for insulin-treated men with diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* nov 1979;32(11):2312-21.
124. Pick ME, Hawrysh ZJ, Gee MI, Toth E, Garg ML, Hardin RT. Oat Bran Concentrate Bread Products Improve Long-Term Control of Diabetes: A Pilot Study. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics.* 1 déc 1996;96(12):1254-61.
125. Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 11 mai 2000;342(19):1392-8.
126. Giacco R, Parillo M, Rivellese AA, Lasorella G, Giacco A, D’Episcopo L, et al. Long-term dietary treatment with increased amounts of fiber-rich low-glycemic index natural foods improves blood glucose control and reduces the number of hypoglycemic events in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care.* 1 oct 2000;23(10):1461-6.
127. Juntunen KS, Laaksonen DE, Poutanen KS, Niskanen LK, Mykkänen HM. High-fiber rye bread and insulin secretion and sensitivity in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 1 févr 2003;77(2):385-91.
128. McRae MP. Dietary Fiber Intake and Type 2 Diabetes Mellitus: An Umbrella Review of Meta-analyses. *J Chiropr Med.* mars 2018;17(1):44-53.
129. O’Connor S, Chouinard-Castonguay S, Gagnon C, Rudkowska I. Probiotics in the management of components of the metabolic syndrome. *Maturitas.* oct 2017;104:11-8.

130. Bajorek SA, Morello CM. Effects of Dietary Fiber and Low Glycemic Index Diet on Glucose Control in Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus, Effects of Dietary Fiber and Low Glycemic Index Diet on Glucose Control in Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. *Ann Pharmacother.* 1 nov 2010;44(11):1786-92.
131. Sandberg JC, Björck IME, Nilsson AC. Effects of whole grain rye, with and without resistant starch type 2 supplementation, on glucose tolerance, gut hormones, inflammation and appetite regulation in an 11–14.5 hour perspective; a randomized controlled study in healthy subjects. *Nutr J* [Internet]. 21 avr 2017 [cité 15 sept 2018];16. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5401465/>
132. Wu X, Chen D, Yu B, Luo Y, Zheng P, Mao X, et al. Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs. *Nutrition.* août 2018;51-52:20-8.
133. Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. World Health Organization. [cité 16 juill 2018]. Disponible sur: [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
134. Singh GM, Danaei G, Farzadfar F, Stevens GA, Woodward M, Wormser D, et al. The Age-Specific Quantitative Effects of Metabolic Risk Factors on Cardiovascular Diseases and Diabetes: A Pooled Analysis. *PLoS One* [Internet]. 30 juill 2013 [cité 1 sept 2017];8(7). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3728292/>
135. ameli.fr - Fiches par pathologie [Internet]. [cité 18 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/l-assurance-maladie/statistiques-et-publications/etudes-en-sante-publique/cartographie-des-pathologies-et-des-depenses/fiches-par-pathologie/diabete.php>
136. Mente A, Koning L de, Shannon HS, Anand SS. A Systematic Review of the Evidence Supporting a Causal Link Between Dietary Factors and Coronary Heart Disease. *Arch Intern Med.* 13 avr 2009;169(7):659-69.
137. Cho SS, Qi L, Fahey GC, Klurfeld DM. Consumption of cereal fiber, mixtures of whole grains and bran, and whole grains and risk reduction in type 2 diabetes, obesity, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 1 août 2013;98(2):594-619.
138. Flight I, Clifton P. Cereal grains and legumes in the prevention of coronary heart disease and stroke: a review of the literature. *European Journal of Clinical Nutrition.* oct 2006;60(10):1145-59.
139. Satija A, Hu FB. Cardiovascular Benefits of Dietary Fiber. *Curr Atheroscler Rep.* 1 déc 2012;14(6):505-14.
140. Afshin A, Micha R, Khatibzadeh S, Mozaffarian D. Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* juill 2014;100(1):278-88.
141. Aune D, Giovannucci E, Boffetta P, Fadnes LT, Keum N, Norat T, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality—a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Int J Epidemiol.* juin 2017;46(3):1029-56.

142. Aune D, Giovannucci E, Boffetta P, Fadnes LT, Keum N, Norat T, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality—a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Int J Epidemiol.* juin 2017;46(3):1029-56.
143. Eshak ES, Iso H, Date C, Kikuchi S, Watanabe Y, Wada Y, et al. Dietary Fiber Intake Is Associated with Reduced Risk of Mortality from Cardiovascular Disease among Japanese Men and Women. *J Nutr.* 1 août 2010;140(8):1445-53.
144. Wang L, Gaziano JM, Liu S, Manson JE, Buring JE, Sesso HD. Whole- and refined-grain intakes and the risk of hypertension in women. *Am J Clin Nutr.* 1 août 2007;86(2):472-9.
145. ye J, Gaziano JM, Djoussé L. Breakfast cereals and risk of hypertension in the Physicians' Health Study I. *Clin Nutr.* févr 2012;31(1):89-92.
146. Lairon D, Arnault N, Bertrais S, Planells R, Clero E, Hercberg S, et al. Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *Am J Clin Nutr.* 1 déc 2005;82(6):1185-94.
147. Vernay M, Aïdara M, Salanave B, Deschamps V, Malon A, Oleko A, et al. Diet and blood pressure in 18-74-year-old adults: the French Nutrition and Health Survey (ENNS, 2006-2007). *J Hypertens.* oct 2012;30(10):1920-7.
148. Kokubo Y, Iso H, Saito I, Yamagishi K, Ishihara J, Inoue M, et al. Dietary fiber intake and risk of cardiovascular disease in the Japanese population: the Japan Public Health Center-based study cohort. *European Journal of Clinical Nutrition.* nov 2011;65(11):1233-41.
149. Wu Y, Qian Y, Pan Y, Li P, Yang J, Ye X, et al. Association between dietary fiber intake and risk of coronary heart disease: A meta-analysis. *Clinical Nutrition.* 1 août 2015;34(4):603-11.
150. Mozaffarian D, Kumanyika SK, Lemaitre RN, Olson JL, Burke GL, Siscovick DS. Cereal, Fruit, and Vegetable Fiber Intake and the Risk of Cardiovascular Disease in Elderly Individuals. *JAMA.* 2 avr 2003;289(13):1659-66.
151. Mizrahi A, Knekt P, Montonen J, Laaksonen MA, Heliövaara M, Järvinen R. Plant foods and the risk of cerebrovascular diseases: a potential protection of fruit consumption. *British Journal of Nutrition.* oct 2009;102(7):1075-83.
152. Griep LO, Verschuren WMM, Kromhout D, Ocké MC, Geleijnse JM. Raw and processed fruit and vegetable consumption and 10-year stroke incidence in a population-based cohort study in the Netherlands. *European Journal of Clinical Nutrition.* juill 2011;65(7):791-9.
153. Jensen MK, Koh-Banerjee P, Hu FB, Franz M, Sampson L, Grønbæk M, et al. Intakes of whole grains, bran, and germ and the risk of coronary heart disease in men. *Am J Clin Nutr.* 1 déc 2004;80(6):1492-9.
154. Aune D, Keum N, Giovannucci E, Fadnes LT, Boffetta P, Greenwood DC, et al. Whole grain consumption and risk of cardiovascular disease, cancer, and all cause and cause specific mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ [Internet].* 14 juin 2016 [cité 9 juill 2018];353. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4908315/>

155. Threapleton DE, Greenwood DC, Evans CEL, Cleghorn CL, Nykjaer C, Woodhead C, et al. Dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 19 déc 2013;347:f6879.
156. Ascherio A, Rimm EB, Hernán MA, Giovannucci EL, Kawachi I, Stampfer MJ, et al. Intake of Potassium, Magnesium, Calcium, and Fiber and Risk of Stroke Among US Men. *Circulation*. 22 sept 1998;98(12):1198-204.
157. Maki KC, Galant R, Samuel P, Tesser J, Witchger MS, Ribaya-Mercado JD, et al. Effects of consuming foods containing oat β -glucan on blood pressure, carbohydrate metabolism and biomarkers of oxidative stress in men and women with elevated blood pressure. *European Journal of Clinical Nutrition*. juin 2007;61(6):786-95.
158. Keenan JM, Pins JJ, Frazel C, Moran A, Turnquist L. Oat ingestion reduces systolic and diastolic blood pressure in patients with mild or borderline hypertension: a pilot trial. *J Fam Pract*. avr 2002;51(4):369.
159. Burke V, Hodgson JM, Beilin LJ, Giangiulioi N, Rogers P, Puddey IB. Dietary Protein and Soluble Fiber Reduce Ambulatory Blood Pressure in Treated Hypertensives. *Hypertension*. 1 oct 2001;38(4):821-6.
160. Cicero AFG, Derosa G, Bove M, Imola F, Borghi C, Gaddi AV. Psyllium improves dyslipidaemia, hyperglycaemia and hypertension, while guar gum reduces body weight more rapidly in patients affected by metabolic syndrome following an AHA Step 2 diet. *Mediterr J Nutr Metab*. 1 avr 2010;3(1):47-54.
161. Li J, Wang J, Kaneko T, Qin L-Q, Sato A. Effects of fiber intake on the blood pressure, lipids, and heart rate in Goto Kakizaki rats. *Nutrition*. 1 nov 2004;20(11):1003-7.
162. Willecke F, Yuan C, Oka K, Chan L, Hu Y, Barnhart S, et al. Effects of High Fat Feeding and Diabetes on Regression of Atherosclerosis Induced by Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Therapy in LDL Receptor-Deficient Mice. *PLOS ONE*. 5 juin 2015;10:e0128996.
163. Baekey PA, Cerda JJ, Burgin CW, Robbins FL, Rice RW, Baumgartner TG. Grapefruit pectin inhibits hypercholesterolemia and atherosclerosis in miniature swine. *Clin Cardiol*. sept 1988;11(9):597-600.
164. Cerda JJ, Normann SJ, Sullivan MP, Burgin CW, Robbins FL, Vathada S, et al. Inhibition of atherosclerosis by dietary pectin in microswine with sustained hypercholesterolemia. *Circulation*. 1 mars 1994;89(3):1247-53.
165. Lim SH, Kim MY, Lee J. Apple pectin, a dietary fiber, ameliorates myocardial injury by inhibiting apoptosis in a rat model of ischemia/reperfusion. *Nutr Res Pract*. août 2014;8(4):391-7.
166. Lim S-H. Larch Arabinogalactan Attenuates Myocardial Injury by Inhibiting Apoptotic Cascades in a Rat Model of Ischemia-Reperfusion. *J Med Food*. juill 2017;20(7):691-9.
167. Lim SH, Lee J. Xyloglucan intake attenuates myocardial injury by inhibiting apoptosis and improving energy metabolism in a rat model of myocardial infarction. *Nutrition Research*. 1 sept 2017;45:19-29.

168. Anderson JW, Davidson MH, Blonde L, Brown WV, Howard WJ, Ginsberg H, et al. Long-term cholesterol-lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr.* 1 juin 2000;71(6):1433-8.
169. Aro A, Uusitupa M, Voutilainen E, Korhonen T. Effects of guar gum in male subjects with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr.* 1 juin 1984;39(6):911-6.
170. Roy S, Vega-Lopez S, Fernandez ML. Gender and Hormonal Status Affect the Hypolipidemic Mechanisms of Dietary Soluble Fiber in Guinea Pigs. *J Nutr.* 3 janv 2000;130(3):600-7.
171. Fernandez ML. Distinct mechanisms of plasma LDL lowering by dietary fiber in the guinea pig: specific effects of pectin, guar gum, and psyllium. *J Lipid Res.* 11 janv 1995;36(11):2394-404.
172. Cancer [Internet]. World Health Organization. [cité 24 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
173. Données globales d'épidémiologie des cancers - Epidémiologie des cancers | Institut National Du Cancer [Internet]. [cité 24 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Donnees-globales>
174. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* 61(2):69-90.
175. McGuire S. World Cancer Report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015. *Adv Nutr.* 1 mars 2016;7(2):418-9.
176. Sapienza C, Issa J-P. Diet, Nutrition, and Cancer Epigenetics. *Annual Review of Nutrition.* 2016;36(1):665-81.
177. Everitt AV, Hilmer SN, Brand-Miller JC, Jamieson HA, Truswell AS, Sharma AP, et al. Dietary Approaches that Delay Age-Related Diseases. *Clin Interv Aging.* mars 2006;1(1):11-31.
178. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K. Body Fatness and Cancer — Viewpoint of the IARC Working Group. *New England Journal of Medicine.* 25 août 2016;375(8):794-8.
179. Chen G-C, Tong X, Xu J-Y, Han S-F, Wan Z-X, Qin J-B, et al. Whole-grain intake and total, cardiovascular, and cancer mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr.* 1 juill 2016;104(1):164-72.
180. Hajishafiee M, Saneei P, Benisi-Kohansal S, Esmailzadeh A. Cereal fibre intake and risk of mortality from all causes, CVD, cancer and inflammatory diseases: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *British Journal of Nutrition.* juill 2016;116(2):343-52.
181. Kim Y, Je Y. Dietary fibre intake and mortality from cardiovascular disease and all cancers: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Archives of Cardiovascular Diseases.* 1 janv 2016;109(1):39-54.

182. Makarem N, Nicholson JM, Bandera EV, McKeown NM, Parekh N. Consumption of whole grains and cereal fiber in relation to cancer risk: a systematic review of longitudinal studies. *Nutr Rev.* juin 2016;74(6):353-73.
183. Coleman HG, Murray LJ, Hicks B, Bhat SK, Kubo A, Corley DA, et al. Dietary fiber and the risk of precancerous lesions and cancer of the esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev.* 1 juill 2013;71(7):474-82.
184. Veronese N, Solmi M, Caruso MG, Giannelli G, Osella AR, Evangelou E, et al. Dietary fiber and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Am J Clin Nutr.* 1 mars 2018;107(3):436-44.
185. Song M, Wu K, Meyerhardt JA, Ogino S, Wang M, Fuchs CS, et al. Fiber Intake and Survival After Colorectal Cancer Diagnosis. *JAMA Oncol.* 1 janv 2018;4(1):71-9.
186. Mourouti N, Kontogianni MD, Papavagelis C, Psaltopoulou T, Kapetanstrataki MG, Plytzanopoulou P, et al. Whole Grain Consumption and Breast Cancer: A Case-Control Study in Women. *J Am Coll Nutr.* 2016;35(2):143-9.
187. Mourouti N, Papavagelis C, Plytzanopoulou P, Kontogianni M, Vassilakou T, Malamos N, et al. Dietary patterns and breast cancer: a case–control study in women. *Eur J Nutr.* 1 juin 2015;54(4):609-17.
188. Sawada N, Iwasaki M, Yamaji T, Shimazu T, Sasazuki S, Inoue M, et al. Fiber intake and risk of subsequent prostate cancer in Japanese men. *Am J Clin Nutr.* 1 janv 2015;101(1):118-25.
189. Mao Q-Q, Lin Y-W, Chen H, Qin J, Zheng X-Y, Xu X, et al. Dietary fiber intake is inversely associated with risk of pancreatic cancer: a meta-analysis. *Asia Pac J Clin Nutr.* janv 2017;26(1):89-96.
190. Wang C-H, Qiao C, Wang R-C, Zhou W-P. Dietary fiber intake and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Sci Rep [Internet].* 2 juin 2015 [cité 27 juill 2018];5. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451698/>
191. Borresen EC, Brown DG, Harbison G, Taylor L, Fairbanks A, O’Malia J, et al. A randomized-controlled trial to increase navy bean or rice bran consumption in colorectal cancer survivors. *Nutr Cancer.* 2016;68(8):1269-80.
192. Landberg R, Andersson S-O, Zhang J-X, Johansson J-E, Stenman U-H, Adlercreutz H, et al. Rye Whole Grain and Bran Intake Compared with Refined Wheat Decreases Urinary C-Peptide, Plasma Insulin, and Prostate Specific Antigen in Men with Prostate Cancer. *J Nutr.* 1 déc 2010;140(12):2180-6.
193. Pool-Zobel BL. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. *British Journal of Nutrition.* avr 2005;93(S1):S73-90.
194. Macrae F, Kiliadis D, Selbie L, Abbott M, Sharpe K, Young G. Effect of cereal fibre source and processing on rectal epithelial cell proliferation. *Gut.* août 1997;41(2):239-44.
195. Donohoe DR, Holley D, Collins LB, Montgomery SA, Whitmore AC, Hillhouse A, et al. A Gnotobiotic Mouse Model Demonstrates that Dietary Fiber Protects Against Colorectal Tumorigenesis in a Microbiota- and Butyrate–Dependent Manner. *Cancer Discov.* déc

2014;4(12):1387-97.

196. Femia AP, Luceri C, Dolara P, Giannini A, Biggeri A, Salvadori M, et al. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*. nov 2002;23(11):1953-60.
197. Encarnação 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. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1 juin 2018;56:183-92.
198. Leclere L, Fransolet M, Cote F, Cambier P, Arnould T, Van Cutsem P, et al. Heat-Modified Citrus Pectin Induces Apoptosis-Like Cell Death and Autophagy in HepG2 and A549 Cancer Cells. *PLoS One* [Internet]. 20 mars 2015 [cité 20 juill 2018];10(3). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4368604/>
199. Jiang J, Eliaz I, Sliva D. Synergistic and Additive Effects of Modified Citrus Pectin With Two Polybotanical Compounds, in the Suppression of Invasive Behavior of Human Breast and Prostate Cancer Cells, Synergistic and Additive Effects of Modified Citrus Pectin With Two Polybotanical Compounds, in the Suppression of Invasive Behavior of Human Breast and Prostate Cancer Cells. *Integr Cancer Ther*. 1 mars 2013;12(2):145-52.
200. Guerreiro CS, Cravo M, Costa AR, Miranda A, Tavares L, Moura-Santos P, et al. A Comprehensive Approach to Evaluate Nutritional Status in Crohn's Patients in the Era of Biologic Therapy: A Case-Control Study. *The American Journal of Gastroenterology*. nov 2007;102(11):2551-6.
201. Ananthkrishnan 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.
202. Wedlake L, Slack N, Andreyev HJN, Whelan K. Fiber in the Treatment and Maintenance of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Inflamm Bowel Dis*. 1 mars 2014;20(3):576-86.
203. Hallert C, Björck I, Nyman M, Pousette A, Grännö C, Svensson H. Increasing fecal butyrate in ulcerative colitis patients by diet: controlled pilot study. *Inflamm Bowel Dis*. mars 2003;9(2):116-21.
204. Brotherton CS, Taylor AG, Bourguignon C, Anderson JG. A High Fiber Diet May Improve Bowel Function and Health-Related Quality of Life in Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterol Nurs*. 2014;37(3):206-16.
205. Hallert C, Kaldma M, Petersson BG. Ispaghula Husk May Relieve Gastrointestinal Symptoms in Ulcerative Colitis in Remission. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1 janv 1991;26(7):747-50.
206. Hanai H, Kanauchi O, Mitsuyama K, Andoh A, Takeuchi K, Takayuki I, et al. Germinated barley foodstuff prolongs remission in patients with ulcerative colitis. *International Journal of Molecular Medicine*. 1 mai 2004;13(5):643-7.
207. Faghfoori Z, Shakerhosseini R, Navai L, Somi MH, Nikniaz Z, Abadi A. Effects of an Oral

Supplementation of Germinated Barley Foodstuff on Serum CRP Level and Clinical Signs in Patients with Ulcerative Colitis. *Health Promot Perspect*. 12 juill 2014;4(1):116-21.

208. Silk DBA, Davis A, Vulevic J, Tzortzis G, Gibson GR. Clinical trial: the effects of a transgalactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 1 mars 2009;29(5):508-18.
209. Fernández-Bañares F, Hinojosa J, Sánchez-Lombraña JL, Navarro E, Martínez-Salmerón JF, García-Pugés A, et al. Randomized clinical trial of *Plantago ovata* seeds (dietary fiber) as compared with mesalamine in maintaining remission in ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology*. févr 1999;94(2):427-33.
210. Faghfoori Z, Navai L, Shakerhosseini R, Somi MH, Nikniaz Z, Norouzi MF. Effects of an oral supplementation of germinated barley foodstuff on serum tumour necrosis factor- α , interleukin-6 and -8 in patients with ulcerative colitis. *Ann Clin Biochem*. 1 mai 2011;48(3):233-7.
211. Staudacher HM, Whelan K. Altered gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome and its modification by diet: probiotics, prebiotics and the low FODMAP diet. *Proc Nutr Soc*. 2016;75(3):306-18.
212. Hellström PM, Grybäck P, Jacobsson H. The physiology of gastric emptying. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 1 sept 2006;20(3):397-407.
213. Grundy MM-L, Edwards CH, Mackie AR, Gidley MJ, Butterworth PJ, Ellis PR. Re-evaluation of the mechanisms of dietary fibre and implications for macronutrient bioaccessibility, digestion and postprandial metabolism. *Br J Nutr*. 14 sept 2016;116(5):816-33.
214. Lentle RG, Janssen PWM, Asvarujanon P, Chambers P, Stafford KJ, Hemar Y. High definition mapping of circular and longitudinal motility in the terminal ileum of the brushtail possum *Trichosurus vulpecula* with watery and viscous perfusates. *J Comp Physiol B*. 1 juill 2007;177(5):543-56.
215. Wood JD. Mixing and moving in the gut. *Gut*. sept 1999;45(3):333-4.
216. Chaudhri O, Small C, Bloom S. Gastrointestinal hormones regulating appetite. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 29 juill 2006;361(1471):1187-209.
217. Meek CL, Lewis HB, Reimann F, Gribble FM, Park AJ. The effect of bariatric surgery on gastrointestinal and pancreatic peptide hormones. *Peptides*. 1 mars 2016;77:28-37.
218. Brownlee IA. The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*. 1 mars 2011;25(2):238-50.
219. Wu T, Rayner CK, Young RL, Horowitz M. Gut motility and enteroendocrine secretion. *Current Opinion in Pharmacology*. 1 déc 2013;13(6):928-34.
220. Ph.D MR. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: A review comparing their physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1 janv 1993;33(2):103-48.
221. Huang Y-L, Tsai Y-H, Chow C-J. Water-insoluble fiber-rich fraction from pineapple peel improves intestinal function in hamsters: evidence from cecal and fecal indicators. *Nutrition*

- Research. 1 avr 2014;34(4):346-54.
222. Wu S-C, Chien P-J, Lee M-H, Chau C-F. Particle Size Reduction Effectively Enhances the Intestinal Health-Promotion Ability of an Orange Insoluble Fiber in Hamsters. *Journal of Food Science*. 1 oct 2007;72(8):S618-21.
 223. Wilfart A, Montagne L, Simmins H, Noblet J, Milgen J van. Digesta transit in different segments of the gastrointestinal tract of pigs as affected by insoluble fibre supplied by wheat bran. *British Journal of Nutrition*. juill 2007;98(1):54-62.
 224. Vuksan V, Jenkins AL, Jenkins DJ, Rogovik AL, Sievenpiper JL, Jovanovski E. Using cereal to increase dietary fiber intake to the recommended level and the effect of fiber on bowel function in healthy persons consuming North American diets. *Am J Clin Nutr*. 1 nov 2008;88(5):1256-62.
 225. de Vries J, Miller PE, Verbeke K. Effects of cereal fiber on bowel function: A systematic review of intervention trials. *World J Gastroenterol*. 7 août 2015;21(29):8952-63.
 226. Chen HL, Haack VS, Janecky CW, Vollendorf NW, Marlett JA. Mechanisms by which wheat bran and oat bran increase stool weight in humans. *Am J Clin Nutr*. 1 sept 1998;68(3):711-9.
 227. Lawton CL, Walton J, Hoyland A, Howarth E, Allan P, Chesters D, et al. Short Term (14 Days) Consumption of Insoluble Wheat Bran Fibre-Containing Breakfast Cereals Improves Subjective Digestive Feelings, General Wellbeing and Bowel Function in a Dose Dependent Manner. *Nutrients*. 22 avr 2013;5(4):1436-55.
 228. Stevenson L, Phillips F, O'sullivan K, Walton J. Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective. *Int J Food Sci Nutr*. déc 2012;63(8):1001-13.
 229. Muller M, Canfora EE, Blaak EE. Gastrointestinal Transit Time, Glucose Homeostasis and Metabolic Health: Modulation by Dietary Fibers. *Nutrients*. 28 févr 2018;10(3).
 230. Schwartz SE, Levine RA, Weinstock RS, Petokas S, Mills CA, Thomas FD. Sustained pectin ingestion: effect on gastric emptying and glucose tolerance in non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr*. 1 déc 1988;48(6):1413-7.
 231. Di Lorenzo C, Williams CM, Hajnal F, Valenzuela JE. Pectin delays gastric emptying and increases satiety in obese subjects. *Gastroenterology*. nov 1988;95(5):1211-5.
 232. Sanaka M, Yamamoto T, Anjiki H, Nagasawa K, Kuyama Y. Effects of Agar and Pectin on Gastric Emptying and Post-Prandial Glycaemic Profiles in Healthy Human Volunteers. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 1 nov 2007;34(11):1151-5.
 233. Wanders AJ, Feskens EJM, Jonathan MC, Schols HA, de Graaf C, Mars M. Pectin is not pectin: A randomized trial on the effect of different physicochemical properties of dietary fiber on appetite and energy intake. *Physiology & Behavior*. 10 avr 2014;128:212-9.
 234. Thondre PS, Shafat A, Clegg ME. Molecular weight of barley β -glucan influences energy expenditure, gastric emptying and glycaemic response in human subjects. *British Journal of Nutrition*. déc 2013;110(12):2173-9.
 235. Bergmann JF, Chassany O, Petit A, Triki R, Caulin C, Segrestaa JM. Correlation between

- echographic gastric emptying and appetite: influence of psyllium. *Gut*. août 1992;33(8):1042-3.
236. Kawasaki N, Suzuki Y, Urashima M, Nakayoshi T, Tsuboi K, Tanishima Y, et al. Effect of gelatinization on gastric emptying and absorption. *Hepatogastroenterology*. oct 2008;55(86-87):1843-5.
 237. Wanders AJ, Jonathan MC, Borne JJGC van den, Mars M, Schols HA, Feskens EJM, et al. The effects of bulking, viscous and gel-forming dietary fibres on satiation. *British Journal of Nutrition*. avr 2013;109(7):1330-7.
 238. Rigaud D, Paycha F, Meulemans A, Merrouche M, Mignon M. Effect of psyllium on gastric emptying, hunger feeling and food intake in normal volunteers: a double blind study. *Eur J Clin Nutr*. avr 1998;52(4):239-45.
 239. Frost GS, Brynes AE, Dhillon WS, Bloom SR, McBurney MI. The effects of fiber enrichment of pasta and fat content on gastric emptying, GLP-1, glucose, and insulin responses to a meal. *European Journal of Clinical Nutrition*. févr 2003;57(2):293-8.
 240. Bianchi. Effects of guar gum, ispaghula and microcrystalline cellulose on abdominal symptoms, gastric emptying, oro-caecal transit time and gas production in healthy volunteers. *Digestive and Liver Disease*. 1 sept 2002;34:S129-33.
 241. Damien B. Wholegrain barley β -glucan fermentation does not improve glucose tolerance in rats fed a high-fat diet. *Nutrition Research*. 1 févr 2015;35(2):162-8.
 242. Dikeman CL, Murphy MR, Fahey GC. Dietary Fibers Affect Viscosity of Solutions and Simulated Human Gastric and Small Intestinal Digesta. *J Nutr*. 1 avr 2006;136(4):913-9.
 243. Timm DA, Stewart ML, Hospattankar A, Slavin JL. Wheat dextrin, psyllium, and inulin produce distinct fermentation patterns, gas volumes, and short-chain fatty acid profiles in vitro. *J Med Food*. août 2010;13(4):961-6.
 244. Belobrajdic DP, King RA, Christophersen CT, Bird AR. Dietary resistant starch dose-dependently reduces adiposity in obesity-prone and obesity-resistant male rats. *Nutr Metab (Lond)*. 25 oct 2012;9:93.
 245. Roberfroid M. Prebiotics: The Concept Revisited. *J Nutr*. 1 mars 2007;137(3):830S-837S.
 246. Flamm G, Glinsmann W, Kritchevsky D, Prosky L, Roberfroid M. Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber: A Review of the Evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1 sept 2001;41(5):353-62.
 247. Li T, Lu X, Yang X. Stachyose-Enriched α -Galacto-oligosaccharides Regulate Gut Microbiota and Relieve Constipation in Mice. *J Agric Food Chem*. 4 déc 2013;61(48):11825-31.
 248. Cummings JH, Macfarlane GT. Gastrointestinal effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition*. mai 2002;87(S2):S145-51.
 249. Russo F, Riezzo G, Chiloiro M, De Michele G, Chimienti G, Marconi E, et al. Metabolic effects of a diet with inulin-enriched pasta in healthy young volunteers. *Curr Pharm Des*. 2010;16(7):825-31.

250. Chaudhri OB, Salem V, Murphy KG, Bloom SR. Gastrointestinal Satiety Signals. *Annual Review of Physiology*. 2008;70(1):239-55.
251. Hussain SS, Bloom SR. The regulation of food intake by the gut-brain axis: implications for obesity. *International Journal of Obesity*. mai 2013;37(5):625-33.
252. Howarth NC, Saltzman E, Roberts SB. Dietary fiber and weight regulation. *Nutr Rev*. mai 2001;59(5):129-39.
253. Rigaud D, Rytting KR, Angel LA, Apfelbaum M. Overweight treated with energy restriction and a dietary fibre supplement: a 6-month randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Obes*. sept 1990;14(9):763-9.
254. Hess JR, Birkett AM, Thomas W, Slavin JL. Effects of short-chain fructooligosaccharides on satiety responses in healthy men and women. *Appetite*. 1 févr 2011;56(1):128-34.
255. Mueller-Cunningham WM, Quintana R, Kasim-Karakas SE. An ad libitum, very low-fat diet results in weight loss and changes in nutrient intakes in postmenopausal women. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 1 déc 2003;103(12):1600-6.
256. Hays NP, Starling RD, Liu X, Sullivan DH, Trappe TA, Fluckey JD, et al. Effects of an ad libitum low-fat, high-carbohydrate diet on body weight, body composition, and fat distribution in older men and women: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*. 26 janv 2004;164(2):210-7.
257. Ho IHH, Matia-Merino L, Huffman LM. Use of viscous fibres in beverages for appetite control: a review of studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 4 juill 2015;66(5):479-90.
258. Chow J, Choe YS, Noss MJ, Robinson KJ, Dugle JE, Acosta SH, et al. Effect of a viscous fiber-containing nutrition bar on satiety of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 1 juin 2007;76(3):335-40.
259. Lyly M, Liukkonen K-H, Salmenkallio-Marttila M, Karhunen L, Poutanen K, Lähteenmäki L. Fibre in beverages can enhance perceived satiety. *Eur J Nutr*. juin 2009;48(4):251-8.
260. Logan K, Wright AJ, Goff HD. Correlating the structure and in vitro digestion viscosities of different pectin fibers to in vivo human satiety. *Food Funct*. janv 2015;6(1):63-71.
261. Ho IHH, Matia-Merino L, Huffman LM. Use of viscous fibres in beverages for appetite control: a review of studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 4 juill 2015;66(5):479-90.
262. Cloetens L, Ulmius M, Johansson-Persson A, Åkesson B, Önning G. Role of dietary beta-glucans in the prevention of the metabolic syndrome. *Nutr Rev*. 1 août 2012;70(8):444-58.
263. Jane M, McKay J, Pal S. Effects of daily consumption of psyllium, oat bran and polyGlycopleX on obesity-related disease risk factors: A critical review. *Nutrition*. 12 juill 2018;57:84-91.
264. Rao TP. Role of guar fiber in appetite control. *Physiology & Behavior*. 1 oct 2016;164:277-83.
265. Reimer RA, Willis HJ, Tunnicliffe JM, Park H, Madsen KL, Soto-Vaca A. Inulin-type fructans

and whey protein both modulate appetite but only fructans alter gut microbiota in adults with overweight/obesity: A randomized controlled trial. *Molecular Nutrition & Food Research*. 1 nov 2017;61(11):1700484.

266. Pedersen C, Lefevre S, Peters V, Patterson M, Ghatei MA, Morgan LM, et al. Gut hormone release and appetite regulation in healthy non-obese participants following oligofructose intake. A dose-escalation study. *Appetite*. 1 juill 2013;66:44-53.
267. 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*. nov 2015;64(11):1744-54.
268. Harrold J, Breslin L, Walsh J, Halford J, Pelkman C. Satiety effects of a whole-grain fibre composite ingredient: reduced food intake and appetite ratings. *Food Funct*. oct 2014;5(10):2574-81.
269. Peters HP, Boers HM, Haddeman E, Melnikov SM, Qvyjt F. No effect of added β -glucan or of fructooligosaccharide on appetite or energy intake. *Am J Clin Nutr*. 1 janv 2009;89(1):58-63.
270. Hess JR, Birkett AM, Thomas W, Slavin JL. Effects of short-chain fructooligosaccharides on satiety responses in healthy men and women. *Appetite*. 1 févr 2011;56(1):128-34.
271. Juvonen KR, Salmenkallio-Marttila M, Lyly M, Liukkonen K-H, Lähteenmäki L, Laaksonen DE, et al. Semisolid meal enriched in oat bran decreases plasma glucose and insulin levels, but does not change gastrointestinal peptide responses or short-term appetite in healthy subjects. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 1 sept 2011;21(9):748-56.
272. Keogh JB, Lau CWH, Noakes M, Bowen J, Clifton PM. Effects of meals with high soluble fibre, high amylose barley variant on glucose, insulin, satiety and thermic effect of food in healthy lean women. *European Journal of Clinical Nutrition*. mai 2007;61(5):597-604.
273. Karhunen LJ, Juvonen KR, Flander SM, Liukkonen K-H, Lähteenmäki L, Siloaho M, et al. A Psyllium Fiber-Enriched Meal Strongly Attenuates Postprandial Gastrointestinal Peptide Release in Healthy Young Adults. *J Nutr*. 1 avr 2010;140(4):737-44.
274. Cani PD, Lecourt E, Dewulf EM, Sohet FM, Pachikian BD, Naslain D, et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am J Clin Nutr*. 1 nov 2009;90(5):1236-43.
275. Verhoef SPM, Meyer D, Westerterp KR. Effects of oligofructose on appetite profile, glucagon-like peptide 1 and peptide YY3-36 concentrations and energy intake. *British Journal of Nutrition*. déc 2011;106(11):1757-62.
276. Tarini J, Wolever TMS. The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects. *Appl Physiol Nutr Metab*. 20 janv 2010;35(1):9-16.
277. Parnell JA, Reimer RA. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr*. juin 2009;89(6):1751-9.

278. Pedersen C, Lefevre S, Peters V, Patterson M, Ghatei MA, Morgan LM, et al. Gut hormone release and appetite regulation in healthy non-obese participants following oligofructose intake. A dose-escalation study. *Appetite*. 1 juill 2013;66:44-53.
279. Karhunen LJ, Juvonen KR, Flander SM, Liukkonen K-H, Lähteenmäki L, Siloaho M, et al. A Psyllium Fiber-Enriched Meal Strongly Attenuates Postprandial Gastrointestinal Peptide Release in Healthy Young Adults. *J Nutr*. 1 avr 2010;140(4):737-44.
280. Nilsson AC, Östman EM, Holst JJ, Björck IME. Including Indigestible Carbohydrates in the Evening Meal of Healthy Subjects Improves Glucose Tolerance, Lowers Inflammatory Markers, and Increases Satiety after a Subsequent Standardized Breakfast. *J Nutr*. 1 avr 2008;138(4):732-9.
281. Cani PD, Hoste S, Guiot Y, Delzenne NM. Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. *British Journal of Nutrition*. juill 2007;98(1):32-7.
282. Delmée E, Cani PD, Gual G, Knauf C, Burcelin R, Maton N, et al. Relation between colonic proglucagon expression and metabolic response to oligofructose in high fat diet-fed mice. *Life Sciences*. 1 août 2006;79(10):1007-13.
283. Cani PD, Neyrinck AM, Maton N, Delzenne NM. Oligofructose Promotes Satiety in Rats Fed a High-Fat Diet: Involvement of Glucagon-Like Peptide-1. *Obesity Research*. 1 juin 2005;13(6):1000-7.
284. Adam CL, Gratz SW, Peinado DI, Thomson LM, Garden KE, Williams PA, et al. Effects of Dietary Fibre (Pectin) and/or Increased Protein (Casein or Pea) on Satiety, Body Weight, Adiposity and Caecal Fermentation in High Fat Diet-Induced Obese Rats. *PLoS One* [Internet]. 25 mai 2016 [cité 26 août 2018];11(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880334/>
285. Adam CL, Thomson LM, Williams PA, Ross AW. Soluble Fermentable Dietary Fibre (Pectin) Decreases Caloric Intake, Adiposity and Lipidaemia in High-Fat Diet-Induced Obese Rats. *PLoS One* [Internet]. 8 oct 2015 [cité 20 mars 2018];10(10). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4598151/>
286. Bodinham CL, Smith L, Thomas EL, Bell JD, Swann JR, Costabile A, et al. Efficacy of increased resistant starch consumption in human type 2 diabetes. *Endocr Connect*. 15 avr 2014;3(2):75-84.
287. Raben A, Tagliabue A, Christensen NJ, Madsen J, Holst JJ, Astrup A. Resistant starch: the effect on postprandial glycemia, hormonal response, and satiety. *Am J Clin Nutr*. 1 oct 1994;60(4):544-51.
288. Zhou J, Martin RJ, Tulley RT, Raggio AM, McCutcheon KL, Shen L, et al. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. nov 2008;295(5):E1160-6.
289. Keenan MJ, Martin RJ, Raggio AM, McCutcheon KL, Brown IL, Birkett A, et al. A microarray study indicates high-amylose resistant starch increases hormones and improves structure and function of the GI tract. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2012;5(1):26-44.

290. Zhou J, Hegsted M, McCutcheon KL, Keenan MJ, Xi X, Raggio AM, et al. Peptide YY and Proglucagon mRNA Expression Patterns and Regulation in the Gut. *Obesity*. 1 avr 2006;14(4):683-9.
291. Bourdon I, Yokoyama W, Davis P, Hudson C, Backus R, Richter D, et al. Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with β -glucan. *Am J Clin Nutr*. 1 janv 1999;69(1):55-63.
292. Beck EJ, Tosh SM, Batterham MJ, Tapsell LC, Huang X-F. Oat beta-glucan increases postprandial cholecystokinin levels, decreases insulin response and extends subjective satiety in overweight subjects. *Mol Nutr Food Res*. oct 2009;53(10):1343-51.
293. Chambers ES, Morrison DJ, Frost G. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proceedings of the Nutrition Society*. août 2015;74(3):328-36.
294. Hoad CL, Rayment P, Spiller RC, Marciani L, Alonso B de C, Traynor C, et al. In Vivo Imaging of Intragastric Gelation and Its Effect on Satiety in Humans. *J Nutr*. 1 sept 2004;134(9):2293-300.
295. Isaksson G, Lundquist I, Ihse I. In vitro Inhibition of Pancreatic Enzyme Activities by Dietary Fiber. *DIG*. 1982;24(1):54-9.
296. Espinal-Ruiz M, Parada-Alfonso F, Restrepo-Sánchez L-P, Narváez-Cuenca C-E, McClements DJ. Interaction of a Dietary Fiber (Pectin) with Gastrointestinal Components (Bile Salts, Calcium, and Lipase): A Calorimetry, Electrophoresis, and Turbidity Study. *J Agric Food Chem*. 31 déc 2014;62(52):12620-30.
297. Zhai H, Gunness P, Gidley MJ. Effects of cereal soluble dietary fibres on hydrolysis of p-nitrophenyl laurate by pancreatin. *Food Funct*. 10 août 2016;7(8):3382-9.
298. Iwata E, Hotta H, Goto M. Hypolipidemic and Bifidogenic Potentials in the Dietary Fiber Prepared from Mikan (Japanese Mandarin Orange: *Citrus unshiu*) Albedo. *J Nutr Sci Vitaminol, Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2012;58(3):175-80.
299. Inagaki K, Nishimura Y, Iwata E, Manabe S, Goto M, Ogura Y, et al. Hypolipidemic Effect of the Autoclaved Extract Prepared from Pea (*Pisum sativum* L.) Pods In Vivo and In Vitro. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2016;62(5):322-9.
300. Langlois A, Corring T, Février C. Effects of wheat bran on exocrine pancreas secretion in the pig. *Reprod Nutr Dev*. 1987;27(5):929-39.
301. Dutta SK, Hlasko J. Dietary fiber in pancreatic disease: Effect of high fiber diet on fat malabsorption in pancreatic insufficiency and in vitro study of the interaction of dietary fiber with pancreatic enzymes. *Am J Clin Nutr*. 1 mars 1985;41(3):517-25.
302. Boyer JL. Bile Formation and Secretion. *Compr Physiol*. juill 2013;3(3):1035-78.
303. Ellegård L, Andersson H. Oat bran rapidly increases bile acid excretion and bile acid synthesis: an ileostomy study. *European Journal of Clinical Nutrition*. août 2007;61(8):938-45.
304. Arjmandi BH, Ahn J, Nathani S, Reeves RD. Dietary Soluble Fiber and Cholesterol Affect

Serum Cholesterol Concentration, Hepatic Portal Venous Short-Chain Fatty Acid Concentrations and Fecal Sterol Excretion in Rats. *J Nutr.* 1 févr 1992;122(2):246-53.

305. Story JA, Kritchevsky D. Comparison of the Binding of Various Bile Acids and Bile Salts in Vitro by Several Types of Fiber. *J Nutr.* 1 sept 1976;106(9):1292-4.
306. Vahouny GV, Tombes R, Cassidy MM, Kritchevsky D, Gallo LL. Dietary fibers: V. Binding of bile salts, phospholipids and cholesterol from mixed micelles by bile acid sequestrants and dietary fibers. *Lipids.* 1 déc 1980;15(12):1012-8.
307. Bowles RK, Morgan KR, Furneaux RH, Coles GD. ¹³C CP/MAS NMR study of the interaction of bile acids with barley β -D-glucan. *Carbohydrate Polymers.* 1996;1(29):7-10.
308. Gunness P, Flanagan BM, Gidley MJ. Molecular interactions between cereal soluble dietary fibre polymers and a model bile salt deduced from ¹³C NMR titration. *Journal of Cereal Science.* 1 nov 2010;52(3):444-9.
309. Mikkelsen MS, Cornali SB, Jensen MG, Nilsson M, Beeren SR, Meier S. Probing Interactions between β -Glucan and Bile Salts at Atomic Detail by ¹H–¹³C NMR Assays. *J Agric Food Chem.* 26 nov 2014;62(47):11472-8.
310. Younes H, Coudray C, Bellanger J, Demigné C, Rayssiguier Y, Rémésy C. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *British Journal of Nutrition.* oct 2001;86(4):479-85.
311. Coudray C, Tressol JC, Gueux E, Rayssiguier Y. Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. *Eur J Nutr.* 1 avr 2003;42(2):91-8.
312. Delzenne N, Aertssens J, Verplaetse H, Roccaro M, Roberfroid M. Effect of fermentable fructo-oligosaccharides on mineral, nitrogen and energy digestive balance in the rat. *Life Sciences.* 15 sept 1995;57(17):1579-87.
313. Debon SJJ, Tester RF. In vitro binding of calcium, iron and zinc by non-starch polysaccharides. *Food Chemistry.* 1 juin 2001;73(4):401-10.
314. Ismail-Beigi F, Faraji B, Reinhold JG. Binding of zinc and iron to wheat bread, wheat bran, and their components. *Am J Clin Nutr.* 1 oct 1977;30(10):1721-5.
315. Whayne TF, Felts JM. Activation of lipoprotein lipase. Evaluation of calcium, magnesium, and ammonium as cofactors. *Circ Res.* juin 1971;28(6):649-54.
316. Delzenne NM, Neyrinck AM, Cani PD. Gut microbiota and metabolic disorders: how prebiotic can work? *British Journal of Nutrition.* janv 2013;109(S2):S81-5.
317. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* 7 août 2015;21(29):8787-803.
318. Pereira FC, Berry D. Microbial nutrient niches in the gut. *Environ Microbiol.* avr 2017;19(4):1366-78.
319. Portune KJ, Benítez-Páez A, Pulgar EMGD, Cerrudo V, Sanz Y. Gut microbiota, diet, and

- obesity-related disorders—The good, the bad, and the future challenges. *Molecular Nutrition & Food Research*. 1 janv 2017;61(1):1600252.
320. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*. 2 juin 2016;165(6):1332-45.
 321. Smith EA, Macfarlane GT. Dissimilatory Amino Acid Metabolism in Human Colonic Bacteria. *Anaerobe*. 1 oct 1997;3(5):327-37.
 322. Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proceedings of the Nutrition Society*. févr 2003;62(1):67-72.
 323. Russell WR, Gratz SW, Duncan SH, Holtrop G, Ince J, Scobbie L, et al. High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *Am J Clin Nutr*. 1 mai 2011;93(5):1062-72.
 324. Fredstrom SB, Lampe JW, Jung H-JG, Slavin JL. Apparent Fiber Digestibility and Fecal Short-Chain Fatty Acid Concentrations With Ingestion of Two Types of Dietary Fiber. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 1 janv 1994;18(1):14-9.
 325. Sharma S, Puri S. Prebiotics and Lipid Metabolism: A Review. *Alternative therapies in health and medicine*. 8 sept 2015;21:34-42.
 326. Aller R, de Luis DA, Izaola O, La Calle F, del Olmo L, Fernandez L, et al. Effect of soluble fiber intake in lipid and glucose levels in healthy subjects: a randomized clinical trial. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 1 juill 2004;65(1):7-11.
 327. Brown L, Rosner B, Willett WW, Sacks FM. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1 janv 1999;69(1):30-42.
 328. Ho HVT, Sievenpiper JL, Zurbau A, Mejia SB, Jovanovski E, Au-Yeung F, et al. The effect of oat β -glucan on LDL-cholesterol, non-HDL-cholesterol and apoB for CVD risk reduction: a systematic review and meta-analysis of randomised-controlled trials. *British Journal of Nutrition*. oct 2016;116(8):1369-82.
 329. Yuan HC, Meng Y, Bai H, Shen DQ, Wan BC, Chen LY. Meta-analysis indicates that resistant starch lowers serum total cholesterol and low-density cholesterol. *Nutrition Research*. 1 juin 2018;54:1-11.
 330. Beserra BTS, Fernandes R, do Rosario VA, Mocellin MC, Kuntz MGF, Trindade EBSM. A systematic review and meta-analysis of the prebiotics and synbiotics effects on glycaemia, insulin concentrations and lipid parameters in adult patients with overweight or obesity. *Clinical Nutrition*. 1 oct 2015;34(5):845-58.
 331. Fernandez ML, Roy S, Vergara-Jimenez M. Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *Nutrition Research*. 1 juin 2000;20(6):837-49.
 332. Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Izumi T. Beyond cholesterol lowering: pleiotropic effects of bile acid binding resins against cardiovascular disease risk factors in patients with metabolic syndrome. *Curr Vasc Pharmacol*. oct 2008;6(4):271-81.

333. Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulin resistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* avr 2012;19(2):81-7.
334. Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, et al. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr.* 1 mars 1981;34(3):362-6.
335. Lazarou C, Panagiotakos D, Matalas A-L. The Role of Diet in Prevention and Management of Type 2 Diabetes: Implications for Public Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 1 mai 2012;52(5):382-9.
336. Marangoni F, Poli A. The glycemic index of bread and biscuits is markedly reduced by the addition of a proprietary fiber mixture to the ingredients. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 1 nov 2008;18(9):602-5.
337. Weickert MO, Mohlig M, Koebnick C, Holst JJ, Namsolleck P, Ristow M, et al. Impact of cereal fibre on glucose-regulating factors. *Diabetologia.* nov 2005;48(11):2343-53.
338. Roager HM, Vogt JK, Kristensen M, Hansen LBS, Ibrügger S, Mærkedahl RB, et al. Whole grain-rich diet reduces body weight and systemic low-grade inflammation without inducing major changes of the gut microbiome: a randomised cross-over trial. *Gut.* 1 nov 2017;
339. Gibb RD, McRorie JW, Russell DA, Hasselblad V, D'Alessio DA. Psyllium fiber improves glycemic control proportional to loss of glycemic control: a meta-analysis of data in euglycemic subjects, patients at risk of type 2 diabetes mellitus, and patients being treated for type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 1 déc 2015;102(6):1604-14.
340. Dall'Alba V, Silva FM, Antonio JP, Steemburgo T, Royer CP, Almeida JC, et al. Improvement of the metabolic syndrome profile by soluble fibre – guar gum – in patients with type 2 diabetes: a randomised clinical trial. *British Journal of Nutrition.* nov 2013;110(9):1601-10.
341. Slavin J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients.* 22 avr 2013;5(4):1417-35.
342. Zhang L, Li HT, Shen L, Fang QC, Qian LL, Jia WP. Effect of Dietary Resistant Starch on Prevention and Treatment of Obesity-related Diseases and Its Possible Mechanisms. *Biomed Environ Sci.* avr 2015;28(4):291-7.
343. Keenan MJ, Zhou J, Hegsted M, Pelkman C, Durham HA, Coulon DB, et al. Role of Resistant Starch in Improving Gut Health, Adiposity, and Insulin Resistance¹²³⁴. *Adv Nutr.* 5 mars 2015;6(2):198-205.
344. Koh GY, Rowling MJ. Resistant starch as a novel dietary strategy to maintain kidney health in diabetes mellitus. *Nutr Rev.* 1 mai 2017;75(5):350-60.
345. Nugent A. Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin.* 16 févr 2005;30:27-54.
346. Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology.* oct 2015;11(10):577-91.
347. MS MJC, PhD JLS. The Effect of Fiber on Satiety and Food Intake: A Systematic Review. *Journal of the American College of Nutrition.* 1 juin 2013;32(3):200-11.

348. Pereira MA, Ludwig DS. DIETARY FIBER AND BODY-WEIGHT REGULATION: Observations and Mechanisms. *Pediatric Clinics of North America*. 1 août 2001;48(4):969-80.
349. Isken F, Klaus S, Osterhoff M, Pfeiffer AFH, Weickert MO. Effects of long-term soluble vs. insoluble dietary fiber intake on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1 avr 2010;21(4):278-84.
350. McRae MP. Dietary Fiber Intake and Type 2 Diabetes Mellitus: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Journal of Chiropractic Medicine*. 1 mars 2018;17(1):44-53.
351. Sivaprakasam S, Bhutia YD, Yang S, Ganapathy V. Short-Chain Fatty Acid Transporters: Role in Colonic Homeostasis. *Compr Physiol*. 12 déc 2017;8(1):299-314.
352. Tazoe H, Otomo Y, Kaji I, Tanaka R, Karaki S-I, Kuwahara A. Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. *J Physiol Pharmacol*. août 2008;59 Suppl 2:251-62.
353. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*. 1 oct 1987;28(10):1221-7.
354. Ahmed R, Segal I, Hassan H. Fermentation of dietary starch in humans. *The American Journal of Gastroenterology*. avr 2000;95(4):1017-20.
355. Fleming SE, Gill R. Aging stimulates fatty acid oxidation in rat colonocytes but does not influence the response to dietary fiber. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. nov 1997;52(6):B318-330.
356. Fitch MD, Fleming SE. Metabolism of short-chain fatty acids by rat colonic mucosa in vivo. *Am J Physiol*. juill 1999;277(1 Pt 1):G31-40.
357. Wester TJ, Kraft G, Dardevet D, Polakof S, Ortigues-Marty I, Rémond D, et al. Nutritional regulation of the anabolic fate of amino acids within the liver in mammals: concepts arising from in vivo studies. *Nutrition Research Reviews*. juin 2015;28(1):22-41.
358. Bloemen JG, Venema K, Poll MC van de, Damink SWO, Buurman WA, Dejong CH. Short chain fatty acids exchange across the gut and liver in humans measured at surgery. *Clinical Nutrition*. 1 déc 2009;28(6):657-61.
359. Bloemen JG, Olde Damink SWM, Venema K, Buurman WA, Jalan R, Dejong CHC. Short chain fatty acids exchange: Is the cirrhotic, dysfunctional liver still able to clear them? *Clinical Nutrition*. 1 juin 2010;29(3):365-9.
360. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*. 10 mars 2016;7(3):189-200.
361. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*. sept 2013;54(9):2325-40.
362. Goldsmith ZG, Dhanasekaran DN. G Protein regulation of MAPK networks. *Oncogene*. mai 2007;26(22):3122-42.

363. Nangia-Makker P, Hogan V, Honjo Y, Baccarini S, Tait L, Bresalier R, et al. Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *J Natl Cancer Inst.* 18 déc 2002;94(24):1854-62.
364. McBain JA, Eastman A, Nobel CS, Mueller GC. Apoptotic death in adenocarcinoma cell lines induced by butyrate and other histone deacetylase inhibitors. *Biochemical Pharmacology.* 9 mai 1997;53(9):1357-68.
365. Taper HS, Roberfroid M. Influence of Inulin and Oligofructose on Breast Cancer and Tumor Growth. *J Nutr.* 1 juill 1999;129(7):1488S-1491S.
366. Tang Y, Chen Y, Jiang H, Robbins GT, Nie D. G-protein-coupled receptor for short-chain fatty acids suppresses colon cancer. *International Journal of Cancer.* 15 févr 2011;128(4):847-56.
367. Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padia R, Shi H, et al. Activation of the receptor (Gpr109a) for niacin and the commensal metabolite butyrate suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity.* 16 janv 2014;40(1):128-39.
368. Korzus E. Manipulating the brain with epigenetics. *Nature Neuroscience.* avr 2010;13(4):405-6.
369. Menzies KJ, Zhang H, Katsyuba E, Auwerx J. Protein acetylation in metabolism — metabolites and cofactors. *Nature Reviews Endocrinology.* janv 2016;12(1):43-60.
370. Emenaker NJ, Calaf GM, Cox D, Basson MD, Qureshi N. Short-Chain Fatty Acids Inhibit Invasive Human Colon Cancer by Modulating uPA, TIMP-1, TIMP-2, Mutant p53, Bcl-2, Bax, p21 and PCNA Protein Expression in an In Vitro Cell Culture Model. *J Nutr.* 1 nov 2001;131(11):3041S-3046S.
371. Thangaraju M, Cresci G, Itagaki S, Mellinger J, Browning DD, Berger FG, et al. Sodium-coupled transport of the short chain fatty acid butyrate by SLC5A8 and its relevance to colon cancer. *J Gastrointest Surg.* oct 2008;12(10):1773-81; discussion 1781-1782.
372. Blottiere HM, Buecher B, Galmiche J-P, Cherbut C. Molecular analysis of the effect of short-chain fatty acids on intestinal cell proliferation. *Proceedings of the Nutrition Society.* févr 2003;62(1):101-6.
373. Sebastián C, Mostoslavsky R. Untangling the fiber yarn: butyrate feeds Warburg to suppress colorectal cancer. *Cancer Discov.* déc 2014;4(12):1368-70.
374. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol.* 2014;121:91-119.
375. Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, et al. Short-Chain Fatty Acids Stimulate Glucagon-Like Peptide-1 Secretion via the G-Protein-Coupled Receptor FFAR2. *Diabetes.* févr 2012;61(2):364-71.
376. Psichas A, Sleeth ML, Murphy KG, Brooks L, Bewick GA, Hanyaloglu AC, et al. The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. *Int J Obes (Lond).* mars 2015;39(3):424-9.
377. Cherbut C, Ferrier L, Rozé C, Anini Y, Blottière H, Lecannu G, et al. Short-chain fatty acids

modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat. *Am J Physiol.* déc 1998;275(6 Pt 1):G1415-1422.

378. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoun C, Duchamp A, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell.* 16 janv 2014;156(1-2):84-96.
379. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Zitoun C, Duchamp A, Bäckhed F, Mithieux G. Microbiota-Produced Succinate Improves Glucose Homeostasis via Intestinal Gluconeogenesis. *Cell Metab.* 12 2016;24(1):151-7.
380. Mithieux G, Gautier-Stein A. Intestinal glucose metabolism revisited. *Diabetes Res Clin Pract.* sept 2014;105(3):295-301.
381. Cherbuy C, Vaugelade P, Labarthe S, Honvo-Houeto E, Darcy-Vrillon B, Watford M, et al. The Contribution of Intestinal Gluconeogenesis to Glucose Homeostasis Is Low in 2-Day-Old Pigs. *J Nutr.* 1 mars 2017;147(3):361-6.
382. Martin G, Ferrier B, Conjard A, Martin M, Nazaret R, Boghossian M, et al. Glutamine gluconeogenesis in the small intestine of 72 h-fasted adult rats is undetectable. *Biochem J.* 15 janv 2007;401(Pt 2):465-73.
383. Previs SF, Brunengraber DZ, Brunengraber H. Is There Glucose Production Outside of the Liver and Kidney? *Annual Review of Nutrition.* 2009;29(1):43-57.
384. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation [Internet]. *Nature.* 2008 [cité 7 sept 2018]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nature07201>
385. Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature.* mai 2008;453(7195):620-5.
386. Chatelier EL, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* août 2013;500(7464):541-6.
387. Piel C, Montagne L, Sève B, Lallès J-P. Increasing Digesta Viscosity Using Carboxymethylcellulose in Weaned Piglets Stimulates Ileal Goblet Cell Numbers and Maturation. *J Nutr.* 1 janv 2005;135(1):86-91.
388. Satchithanandam S, Vargofcak-Apker M, Calvert RJ, Leeds AR, Cassidy MM. Alteration of Gastrointestinal Mucin by Fiber Feeding in Rats. *J Nutr.* 1 oct 1990;120(10):1179-84.
389. Säemann MD, Böhmig GA, Österreicher CH, Burtscher H, Parolini O, Diakos C, et al. Anti-inflammatory effects of sodium butyrate on human monocytes: potent inhibition of IL-12 and up-regulation of IL-10 production. *The FASEB Journal.* 6 oct 2000;14(15):2380-2.
390. Tedelind S, Westberg F, Kjerrulf M, Vidal A. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 28 mai 2007;13(20):2826-32.
391. Beek VD, M C, Dejong CHC, Troost FJ, Masclee AAM, Lenaerts K. Role of short-chain fatty acids in colonic inflammation, carcinogenesis, and mucosal protection and healing. *Nutr Rev.* 1 avr 2017;75(4):286-305.

392. Kim M, Qie Y, Park J, Kim CH. Gut Microbial Metabolites Fuel Host Antibody Responses. *Cell Host Microbe*. 10 août 2016;20(2):202-14.
393. Sivaprakasam S, Prasad PD, Singh N. Benefits of Short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis. *Pharmacol Ther*. août 2016;164:144-51.
394. Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Yu D, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*. 29 oct 2009;461(7268):1282-6.
395. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-Y M, et al. The microbial metabolites, short chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* [Internet]. 2 août 2013 [cité 6 sept 2018];341(6145). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3807819/>
396. Thangaraju M, Cresci GA, Liu K, Ananth S, Gnanaprakasam JP, Browning DD, et al. GPR109A is a G-protein-coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer Res*. 1 avr 2009;69(7):2826-32.
397. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*. 2 juin 2016;165(6):1332-45.
398. Jung UJ, Choi M-S. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 11 avr 2014;15(4):6184-223.
399. Tarantino G, Savastano S, Colao A. Hepatic steatosis, low-grade chronic inflammation and hormone/growth factor/adipokine imbalance. *World J Gastroenterol*. 14 oct 2010;16(38):4773-83.
400. Desvergne B, Michalik L, Wahli W. Transcriptional Regulation of Metabolism. *Physiological Reviews*. 1 avr 2006;86(2):465-514.
401. He J, Chen D, Zhang K, Yu B. A high-amylopectin diet caused hepatic steatosis associated with more lipogenic enzymes and increased serum insulin concentration. *British Journal of Nutrition*. nov 2011;106(10):1470-5.
402. Bennekum AM van, Nguyen DV, Schulthess G, Hauser H, Phillips MC. Mechanisms of cholesterol-lowering effects of dietary insoluble fibres: relationships with intestinal and hepatic cholesterol parameters. *British Journal of Nutrition*. sept 2005;94(3):331-7.
403. Cheng H-H, Lai M-H. Fermentation of Resistant Rice Starch Produces Propionate Reducing Serum and Hepatic Cholesterol in Rats. *J Nutr*. 1 août 2000;130(8):1991-5.
404. Jakobsdottir G, Xu J, Molin G, Ahrné S, Nyman M. High-Fat Diet Reduces the Formation of Butyrate, but Increases Succinate, Inflammation, Liver Fat and Cholesterol in Rats, while Dietary Fibre Counteracts These Effects. *PLoS One* [Internet]. 13 nov 2013 [cité 14 déc 2016];8(11). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3827442/>
405. Hara H, Haga S, Aoyama Y, Kiriya S. Short-Chain Fatty Acids Suppress Cholesterol Synthesis in Rat Liver and Intestine. *J Nutr*. 1 mai 1999;129(5):942-8.

406. Morand C, Remesy C, Besson C, Demigne C. Control of glycogen metabolism by gluconeogenic and ketogenic substrates in isolated hepatocytes from fed rats. *International Journal of Biochemistry*. 1 janv 1992;24(1):159-67.
407. Demigné C, Yacoub C, Rémésy C, Fafournoux P. Propionate and butyrate metabolism in rat or sheep hepatocytes. *Biochim Biophys Acta*. 28 févr 1986;875(3):535-42.
408. Besten G den, Bleeker A, Gerding A, Eunen K van, Havinga R, Dijk TH van, et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet–Induced Obesity via a PPAR γ -Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. *Diabetes*. 1 juill 2015;64(7):2398-408.
409. Li X, Chen H, Guan Y, Li X, Lei L, Liu J, et al. Acetic Acid Activates the AMP-Activated Protein Kinase Signaling Pathway to Regulate Lipid Metabolism in Bovine Hepatocytes. *PLOS ONE*. 4 juill 2013;8(7):e67880.
410. Kondo T, Kishi M, Fushimi T, Kaga T. Acetic acid upregulates the expression of genes for fatty acid oxidation enzymes in liver to suppress body fat accumulation. *J Agric Food Chem*. 8 juill 2009;57(13):5982-6.
411. Jin CJ, Sellmann C, Engstler AJ, Ziegenhardt D, Bergheim I. Supplementation of sodium butyrate protects mice from the development of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *British Journal of Nutrition*. déc 2015;114(11):1745-55.
412. Endo H, Niioka M, Kobayashi N, Tanaka M, Watanabe T. Butyrate-Producing Probiotics Reduce Nonalcoholic Fatty Liver Disease Progression in Rats: New Insight into the Probiotics for the Gut-Liver Axis. *PLOS ONE*. 16 mai 2013;8(5):e63388.
413. Mattace Raso G, Simeoli R, Russo R, Iacono A, Santoro A, Paciello O, et al. Effects of Sodium Butyrate and Its Synthetic Amide Derivative on Liver Inflammation and Glucose Tolerance in an Animal Model of Steatosis Induced by High Fat Diet. *PLoS One* [Internet]. 5 juill 2013 [cité 11 sept 2018];8(7). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3702592/>
414. Wu J-L, Zou J-Y, Hu E-D, Chen D-Z, Chen L, Lu F-B, et al. Sodium butyrate ameliorates S100/FCA-induced autoimmune hepatitis through regulation of intestinal tight junction and toll-like receptor 4 signaling pathway. *Immunology Letters*. 1 oct 2017;190:169-76.
415. Brown AJ, Goldsworthy SM, Barnes AA, Eilert MM, Tcheang L, Daniels D, et al. The Orphan G Protein-coupled Receptors GPR41 and GPR43 Are Activated by Propionate and Other Short Chain Carboxylic Acids. *J Biol Chem*. 28 mars 2003;278(13):11312-9.
416. Bonini JA, Anderson SM, Steiner DF. Molecular Cloning and Tissue Expression of a Novel Orphan G Protein-Coupled Receptor from Rat Lung. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 8 mai 1997;234(1):190-3.
417. Kirpich I, Ghare S, Zhang J, Gobejishvili L, Kharebava G, Barve SJ, et al. Binge Alcohol-Induced Microvesicular Liver Steatosis and Injury are Associated with Down-Regulation of Hepatic Hdac 1, 7, 9, 10, 11 and Up-Regulation of Hdac 3. *Alcohol Clin Exp Res*. sept 2012;36(9):1578-86.
418. Jia H-Y, Li Q-Z, Lv L-F. HDAC5 Inhibits Hepatic Lipogenic Genes Expression by Attenuating the Transcriptional Activity of Liver X Receptor. *CPB*. 2016;39(4):1561-7.

419. Li H, Gao Z, Zhang J, Ye X, Xu A, Ye J, et al. Sodium Butyrate Stimulates Expression of Fibroblast Growth Factor 21 in Liver by Inhibition of Histone Deacetylase 3. *Diabetes*. avr 2012;61(4):797-806.
420. Sun J, Wu Q, Sun H, Qiao Y. Inhibition of Histone Deacetylase by Butyrate Protects Rat Liver from Ischemic Reperfusion Injury. *Int J Mol Sci*. 14 nov 2014;15(11):21069-79.
421. Corpeleijn E, Saris WHM, Blaak EE. Metabolic flexibility in the development of insulin resistance and type 2 diabetes: effects of lifestyle. *Obesity Reviews*. 1 mars 2009;10(2):178-93.
422. Yamashita H, Fujisawa K, Ito E, Idei S, Kawaguchi N, Kimoto M, et al. Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Biosci Biotechnol Biochem*. mai 2007;71(5):1236-43.
423. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, et al. Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice. *Diabetes*. juill 2009;58(7):1509-17.
424. Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, Kitakoshi K, Nakai N, Tsukamoto Y, et al. Acetic Acid Feeding Enhances Glycogen Repletion in Liver and Skeletal Muscle of Rats. *J Nutr*. 1 juill 2001;131(7):1973-7.
425. Henagan TM, Stefanska B, Fang Z, Navard AM, Ye J, Lenard NR, et al. Sodium butyrate epigenetically modulates high-fat diet-induced skeletal muscle mitochondrial adaptation, obesity and insulin resistance through nucleosome positioning. *Br J Pharmacol*. juin 2015;172(11):2782-98.
426. Chai W, Dong Z, Wang N, Wang W, Tao L, Cao W, et al. Glucagon-Like Peptide 1 Recruits Microvasculature and Increases Glucose Use in Muscle via a Nitric Oxide-Dependent Mechanism. *Diabetes*. avr 2012;61(4):888-96.
427. Gannon NP, Conn CA, Vaughan RA. Dietary stimulators of GLUT4 expression and translocation in skeletal muscle: a mini-review. *Mol Nutr Food Res*. janv 2015;59(1):48-64.
428. Hoek AM van den, Heijboer AC, Corssmit EPM, Voshol PJ, Romijn JA, Havekes LM, et al. PYY3-36 Reinforces Insulin Action on Glucose Disposal in Mice Fed a High-Fat Diet. *Diabetes*. 1 août 2004;53(8):1949-52.
429. Green CJ, Henriksen TI, Pedersen BK, Solomon TPJ. Glucagon Like Peptide-1-Induced Glucose Metabolism in Differentiated Human Muscle Satellite Cells Is Attenuated by Hyperglycemia. *PLOS ONE*. 28 août 2012;7(8):e44284.
430. Hoek AM van den, Heijboer AC, Corssmit EPM, Voshol PJ, Romijn JA, Havekes LM, et al. PYY3-36 Reinforces Insulin Action on Glucose Disposal in Mice Fed a High-Fat Diet. *Diabetes*. 1 août 2004;53(8):1949-52.
431. Ramzy AR, Nausheen S, Chelikani PK. Ileal transposition surgery produces ileal length-dependent changes in food intake, body weight, gut hormones and glucose metabolism in rats. *International Journal of Obesity*. mars 2014;38(3):379-87.
432. Wolever TM, Brighenti F, Royall D, Jenkins AL, Jenkins DJ. Effect of rectal infusion of short chain fatty acids in human subjects. *Am J Gastroenterol*. sept 1989;84(9):1027-33.

433. Crouse JR, Gerson CD, DeCarli LM, Lieber CS. Role of acetate in the reduction of plasma free fatty acids produced by ethanol in man. *J Lipid Res.* 7 janv 1968;9(4):509-12.
434. Korecka A, de Wouters T, Cultrone A, Lapaque N, Pettersson S, Doré J, et al. ANGPTL4 expression induced by butyrate and rosiglitazone in human intestinal epithelial cells utilizes independent pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1 juin 2013;304(11):G1025-1037.
435. Grootaert C, Van De Wiele T, Van Roosbroeck I, Posse-Miers S, Vercoutter-Edouart AS, Verstraete W, et al. Bacterial modulation of the fasting induced adipose factor (FIAP) in an intestinal cell line model: a potential host-microbe crosstalk related to obesity. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 2011;76(1):101-5.
436. Hong Y-H, Nishimura Y, Hishikawa D, Tsuzuki H, Miyahara H, Gotoh C, et al. Acetate and propionate short chain fatty acids stimulate adipogenesis via GPCR43. *Endocrinology.* déc 2005;146(12):5092-9.
437. Dewulf EM, Cani PD, Neyrinck AM, Possemiers S, Holle AV, Muccioli GG, et al. Inulin-type fructans with prebiotic properties counteract GPR43 overexpression and PPAR γ -related adipogenesis in the white adipose tissue of high-fat diet-fed mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 1 août 2011;22(8):712-22.
438. Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, Ichimura A, Kimura I. Dietary Gut Microbial Metabolites, Short-chain Fatty Acids, and Host Metabolic Regulation. *Nutrients.* 14 avr 2015;7(4):2839-49.
439. Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nature Communications.* 7 mai 2013;4:1829.
440. Bjursell M, Admyre T, Göransson M, Marley AE, Smith DM, Oscarsson J, et al. Improved glucose control and reduced body fat mass in free fatty acid receptor 2-deficient mice fed a high-fat diet. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* 19 oct 2010;300(1):E211-20.
441. Polakof S, Díaz-Rubio ME, Dardevet D, Martin J-F, Pujos-Guillot E, Scalbert A, et al. Resistant starch intake partly restores metabolic and inflammatory alterations in the liver of high-fat-diet-fed rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 1 nov 2013;24(11):1920-30.
442. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Chatelier EL, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature.* août 2013;500(7464):585-8.
443. Arufe S, Chiron H, Doré J, Savary-Auzeloux I, Saulnier L, Della Valle G. Processing & rheological properties of wheat flour dough and bread containing high levels of soluble dietary fibres blends. *Food Research International.* 1 juill 2017;97:123-32.
444. Clark BA, Alloosh M, Wenzel JW, Sturek M, Kostrominova TY. Effect of diet-induced obesity and metabolic syndrome on skeletal muscles of Ossabaw miniature swine. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* mai 2011;300(5):E848-57.
445. Polakof S, Rémond D, Bernalier-Donadille A, Rambeau M, Pujos-Guillot E, Comte B, et al. Metabolic adaptations to HFHS overfeeding: how whole body and tissues postprandial

- metabolic flexibility adapt in Yucatan mini-pigs. *Eur J Nutr.* 1 févr 2018;57(1):119-35.
446. Litten-Brown JC, Corson AM, Clarke L. Porcine models for the metabolic syndrome, digestive and bone disorders: a general overview. *animal.* juin 2010;4(6):899-920.
447. Sejersen H, Sørensen MT, Larsen T, Bendixen E, Ingvarsten KL. Liver protein expression in young pigs in response to a high-fat diet and diet restriction. *J Anim Sci.* 1 janv 2013;91(1):147-58.
448. Demigné C, Morand C, Levrat MA, Besson C, Moundras C, Rémésy C. Effect of propionate on fatty acid and cholesterol synthesis and on acetate metabolism in isolated rat hepatocytes. *Br J Nutr.* août 1995;74(2):209-19.
449. Adeva-Andany M, López-Ojén M, Funcasta-Calderón R, Ameneiros-Rodríguez E, Donapetry-García C, Vila-Altesor M, et al. Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion.* juill 2014;17:76-100.
450. Christoffersen B, Ribel U, Raun K, Golozoubova V, Pacini G. Evaluation of different methods for assessment of insulin sensitivity in Göttingen minipigs: introduction of a new, simpler method. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* 26 août 2009;297(4):R1195-201.
451. Siegel G, Ermilov E, Knes O, Rodríguez M. Combined lowering of low grade systemic inflammation and insulin resistance in metabolic syndrome patients treated with Ginkgo biloba. *Atherosclerosis.* 1 déc 2014;237(2):584-8.
452. Ding Y, Li S, Ma R-L, Guo H, Zhang J, Zhang M, et al. Association of homeostasis model assessment of insulin resistance, adiponectin, and low-grade inflammation with the course of the metabolic syndrome. *Clinical Biochemistry.* 1 mai 2015;48(7):503-7.
453. Chatelier EL, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* août 2013;500(7464):541-6.
454. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 21 déc 2006;444(7122):1022-3.
455. Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects. *Obesity.* 1 janv 2010;18(1):190-5.
456. Jiang T, Gao X, Wu C, Tian F, Lei Q, Bi J, et al. Apple-Derived Pectin Modulates Gut Microbiota, Improves Gut Barrier Function, and Attenuates Metabolic Endotoxemia in Rats with Diet-Induced Obesity. *Nutrients* [Internet]. 29 févr 2016 [cité 26 sept 2018];8(3). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4808856/>
457. Ghaffarzagagan T, Marungruang N, Fåk F, Nyman M. Molecular Properties of Guar Gum and Pectin Modify Cecal Bile Acids, Microbiota, and Plasma Lipopolysaccharide-Binding Protein in Rats. *PLoS One* [Internet]. 17 juin 2016 [cité 27 sept 2018];11(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4912110/>
458. Gao X, Pujos-Guillot E, Martin J-F, Galan P, Juste C, Jia W, et al. Metabolite analysis of human fecal water by gas chromatography/mass spectrometry with ethyl chloroformate derivatization. *Analytical Biochemistry.* 15 oct 2009;393(2):163-75.

459. Saravanan R, Pari L. Succinic acid monoethyl ester, a novel insulinotropic agent: Effect on lipid composition and lipid peroxidation in streptozotocin–nicotin-amide induced type 2 diabetic rats. *Mol Cell Biochem.* 1 févr 2007;296(1):165-76.
460. Attali V, Parnes M, Ariav Y, Cerasi E, Kaiser N, Leibowitz G. Regulation of Insulin Secretion and Proinsulin Biosynthesis by Succinate. *Endocrinology.* 1 nov 2006;147(11):5110-8.
461. Leibowitz G, Khaldi MZ, Shauer A, Parnes M, Oprescu AI, Cerasi E, et al. Mitochondrial regulation of insulin production in rat pancreatic islets. *Diabetologia.* 1 août 2005;48(8):1549-59.
462. Garcia-Martinez JA, Cancelas J, Villanueva-Peñacarrillo ML, Valverde I, Malaisse WJ. Prolongation of the insulinotropic action of glucagon-like peptide 1 by the dimethyl ester of succinic acid in an animal model of type-2 diabetes. *International Journal of Molecular Medicine.* 1 sept 2000;6(3):319-40.
463. Adam CL, Gratz SW, Peinado DI, Thomson LM, Garden KE, Williams PA, et al. Effects of Dietary Fibre (Pectin) and/or Increased Protein (Casein or Pea) on Satiety, Body Weight, Adiposity and Caecal Fermentation in High Fat Diet-Induced Obese Rats. *PLoS One* [Internet]. 25 mai 2016 [cité 20 mars 2018];11(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880334/>
464. Serena C, Ceperuelo-Mallafré V, Keiran N, Queipo-Ortuño MI, Bernal R, Gomez-Huelgas R, et al. Elevated circulating levels of succinate in human obesity are linked to specific gut microbiota. *ISME J.* juill 2018;12(7):1642-57.
465. Mortensen PB, Holtug K, Rasmussen HS. Short-Chain Fatty Acid Production from Mono- and Disaccharides in a Fecal Incubation System: Implications for Colonic Fermentation of Dietary Fiber in Humans. *J Nutr.* 1 mars 1988;118(3):321-5.
466. Mar Rodríguez M, Pérez D, Javier Chaves F, Esteve E, Marin-Garcia P, Xifra G, et al. Obesity changes the human gut mycobiome. *Sci Rep* [Internet]. 12 oct 2015 [cité 28 sept 2018];5. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4600977/>
467. Akpa MM, Point F, Sawadogo S, Radenne A, Mounier C. Inhibition of insulin and T3-induced fatty acid synthase by hexanoate. *Lipids.* nov 2010;45(11):997-1009.
468. You H, Lee WJ, Lee W-J. Homeostasis between gut-associated microorganisms and the immune system in *Drosophila*. *Current Opinion in Immunology.* 1 oct 2014;30:48-53.
469. Lee K-A, Kim S-H, Kim E-K, Ha E-M, You H, Kim B, et al. Bacterial-Derived Uracil as a Modulator of Mucosal Immunity and Gut-Microbe Homeostasis in *Drosophila*. *Cell.* 9 mai 2013;153(4):797-811.
470. Lee K-A, Kim B, You H, Lee W-J. Uracil-induced signaling pathways for DUOX-dependent gut immunity. *Fly (Austin).* 10 déc 2015;9(3):115-20.
471. Jia H-Y, Li Q-Z, Lv L-F. HDAC5 Inhibits Hepatic Lipogenic Genes Expression by Attenuating the Transcriptional Activity of Liver X Receptor. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(4):1561-7.
472. Kirpich I, Ghare S, Zhang J, Gobejishvili L, Kharebava G, Barve SJ, et al. Binge Alcohol-Induced Microvesicular Liver Steatosis and Injury are Associated with Down-Regulation of

Hepatic Hdac 1, 7, 9, 10, 11 and Up-Regulation of Hdac 3. *Alcohol Clin Exp Res.* sept 2012;36(9):1578-86.

473. Bianchi M, Capurso L. Effects of guar gum, ispaghula and microcrystalline cellulose on abdominal symptoms, gastric emptying, oro-caecal transit time and gas production in healthy volunteers. *Digestive and Liver Disease.* 1 sept 2002;34:S129-33.
474. Piche T, Varannes SB des, Sacher-Huvelin S, Holst JJ, Cuber JC, Galmiche JP. Colonic fermentation influences lower esophageal sphincter function in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology.* 1 avr 2003;124(4):894-902.
475. Rahat-Rozenbloom S, Fernandes J, Cheng J, Wolever TM. Acute increases in serum colonic short-chain fatty acids elicited by inulin do not increase GLP-1 or PYY responses but may reduce ghrelin in lean and overweight humans. *Eur J Clin Nutr.* août 2017;71(8):953-8.
476. Chambers ES, Byrne CS, Aspey K, Chen Y, Khan S, Morrison DJ, et al. Acute oral sodium propionate supplementation raises resting energy expenditure and lipid oxidation in fasted humans. *Diabetes Obes Metab.* avr 2018;20(4):1034-9.