



**HAL**  
open science

# Fonction mitochondriale et réparation épithéliale dans un modèle cellulaire de rectocolite hémorragique

Sarah Rochdi

► **To cite this version:**

Sarah Rochdi. Fonction mitochondriale et réparation épithéliale dans un modèle cellulaire de rectocolite hémorragique. Médecine humaine et pathologie. Université de Rennes, 2023. Français. NNT : 2023URENB034 . tel-04879710

**HAL Id: tel-04879710**

**<https://theses.hal.science/tel-04879710v1>**

Submitted on 10 Jan 2025

**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.

# THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE RENNES

ECOLE DOCTORALE N° 637

*Sciences de la Vie et de la Santé*

Spécialité : *Nutrition et Pathologies Métaboliques*

Par

**Sarah Rochdi**

**Fonction mitochondriale et réparation épithéliale dans un modèle cellulaire de rectocolite hémorragique.**

Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 21 Septembre 2023

Unité de recherche : NuMeCan (Nutrition, Métabolismes et Cancer), UMR INSERM 1317, UMR INRAE 1341, Université de Rennes

**Rapporteurs avant soutenance :**

Fatima Djouadi

Directrice de Recherche, Centre de Recherche des Cordeliers UMRS 1138/Eq 26 – Paris

Audrey Ferrand

Chargée de Recherche, Institut de Recherche en Santé Digestive (IRSD) – Inserm U1220 – Toulouse

**Composition du Jury :**

Président du jury : Laurent Dubuquoy

Directeur de recherche, Praticien Hospitalier, Infinite U1286 - Lille

Examineurs : Charlène Brochard-Dellière

Professeure des Universités-Praticien Hospitalier, CHU – Rennes

Laurent Dubuquoy

Directeur de recherche, Praticien Hospitalier, Infinite U1286 - Lille

**Dir. de thèse :**

Guillaume Bouguen

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier NuMeCan UMR INSERM 317, Université de Rennes

**Co-encadrante de thèse :**

Annaïg Lan

Maitre de Conférences, PNCA UMR0914 INRAE-AgroParisTech Paris, NuMeCan UMR INSERM 1317, Université de Rennes

# Remerciements

---

Après trois ans de travail, j'aimerais tout d'abord remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ma thèse.

Je tiens tout d'abord à remercier mes directeurs de thèse Dr Annaïg LAN et Pr Guillaume BOUGUEN. Je vous remercie de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce doctorat. Votre confiance, votre encadrement et votre investissement m'ont permis de mener à bien ce projet pendant ces trois années. Je souhaite aussi remercier particulièrement Dr Anne CORLU pour ton implication dans l'encadrement de cette thèse, ton écoute et tes conseils.

Je remercie également Pr Fatima DJOUADI et Dr Audrey FERRAND pour avoir accepté de me faire l'honneur d'être rapporteurs de mon travail de thèse. Merci également à Pr Charlène BROCHARD-DELLIERE et Dr Laurent DUBUQUOY d'avoir accepté d'être examinateurs pour mon jury de thèse. Je remercie également Dr Rachel LETELLIER et Pr Ronan THIBAUT pour m'avoir accompagnée au cours de cette thèse en participant à mes deux comités de thèse. Vos questions et conseils pertinents m'ont permis d'évoluer et d'avancer dans le projet.

Je souhaite remercier le directeur de NuMeCan, Dr Olivier LOREAL, merci pour ta disponibilité, pour les échanges fructueux et ton implication au sein des pôles et de l'association NPhDA.

Mes remerciements s'adressent également aux membres du CRB, merci à Mireille DESILLE-DUGAST et Florian CABILLIC pour votre disponibilité et toutes les mises en œuvre nécessaires au bon déroulement de ce projet. Delphine, Muriel et Sylvia, pour votre dévouement, votre bonne humeur, ça a été un réel plaisir de travailler avec vous.

Je remercie Roselyne VIEL de la plateforme H2P2 pour les travaux réalisés.

Je remercie chaleureusement l'ensemble des membres du laboratoire de NuMeCan, Adina, Bernard, Caro, Claudine, Daniel, David, Fouzia, Gaëlle A., Gaëlle B, Isabelle, Julie B, Karen, Karima, Laurence, Maëlle, Megann, Michèle, Nicolas, Nolwenn, Orlando, Pascal, Patricia J, Patricia L, Pénélope, Pierre-Jean, Tiffenn, Thomas K, Thomas P et Vincent R.

Je remercie aussi les stagiaires Sarah et Eloïse avec qui j'ai pu travailler. Martin BORDET avec qui j'ai débuté cette thèse et Eunyeong AHN avec qui je l'ai clôturée.

Merci à Thomas GUERBETTE pour ton temps et ton aide pour les manips.

Merci à Fabien FOUCHER pour ton aide jusqu'à la dernière minute.

Cette thèse m'a aussi permis de faire de très belles rencontres. Merci aux docteurs et futurs docteurs Camille, Corentin, Elise, Hala, Hanadi, Hugo, Julien, Kevin(s), Kilian, Lise, Mathieu, Sarah B, Servane, Thomas, Vincent C, Yann, Yoann et Youenn pour votre soutien, votre bonne humeur mais avant tout votre amitié. Passer ces trois années à vos côtés, au laboratoire comme en dehors, a été un réel plaisir !

Un grand merci aux membres du bureau 107, Catherine et Aude pour votre accueil, votre bienveillance, vos rires, vos histoires de folie et surtout pour votre soutien sans faille. Pour continuer merci à la dream team du bureau 101 aka les Totally Spies, les Super Nanas ! Merci à Manon et Grégory pour les douceurs et bon moments partagés.

Pour la énième fois, merci à Julie MASSART pour ton temps, ton rire et parfois même ta mauvaise humeur mais surtout pour le partage de plusieurs galères et les goûters.

Ambre, Lucille et Clémence ou devrais-je dire le BBG ! Ces quelques lignes ne suffiront pas pour vous remercier. Merci pour tout, merci d'être vous, pour votre vision de la vie, pour vos rires et blagues parfois douteuses, pour votre simplicité. Je n'ai aucun doute sur vos réussites.

Merci également à mon club le CPB d'avoir été à l'écoute, d'avoir aménagé mes entraînements et déplacements en fonction de mon projet de thèse. Merci à mon entraîneur Michel DUBOIS, à mon bras droit Thomas PAYEN et surtout à ma présidente Stéphanie AUFRAY à qui je dois beaucoup. Un grand merci à tous les bénévoles, au Team MAM qui me permettent de vivre mon rêve de boxe tout en continuant mes études. Merci de croire en moi.

Merci à mes amis, ces personnes inspirantes qui m'entourent avec qui j'ai la chance de partager ma vie.

Un immense merci à ma famille, mes parents, mon frère, Kamar, Gilles, Ines, Camille de m'avoir supporté dans mes projets et cela dans tous les sens du terme. Merci aussi aux proches que je considère comme ma famille, Valérie, Ahmed, Philippe, Josette, Alice, Charlotte, Leïa, Lola, Hyacinthia, Elise et Lolo. Ma réussite est aussi la vôtre.



# LISTE DES ABREVIATIONS

---

- ACAT2 : acétoacétyl CoA thiolase
- ADF : *advanced DMEM F12*
- ADP : adénosine diphosphate
- AGCC : acide gras à chaîne courte
- ALDA : aldolase A
- ATP : adénosine triphosphate
- BMP : *bone morphogenic protein*
- BSA : *bovine serum albumin*
- CAT : catalase
- CCR : cancer colorectal
- CEI : cellule épithéliale intestinale
- CLDN-1 : claudine 1
- ChOrg : organoïde colique humain
- CoQ : coenzyme d'oxydoréduction Q
- CRP : protéine C-réactive
- CSI : cellules souches intestinales
- CTE : chaîne de transport des d'électrons
- Cyt c : cytochrome c
- DHA : acide docosahexaénoïque
- DSS : dextran sulfate de sodium
- DTT : dithiothreitol
- EGF : facteur de croissance épidermique
- EGFR : récepteur à l'EGF
- EIM : espace intermembranaire
- EMT : transition épithéliale mésenchymateuse
- EPA : acide eicosapentaénoïque
- ERO : espèce réactive de l'oxygène
- ERR : *estrogen-related receptor*
- FADH<sub>2</sub> : flavine adénine dinucléotide
- FIS1 : protéine de fission 1
- FZD : récepteur membranaire Frizzled
- GPX : glutathion peroxydase
- HIF : facteur inductible par l'hypoxie
- HMG : groupe à haute mobilité
- HRE : élément de réponse à l'hypoxie
- IFN-γ : interferon gamma
- IL : interleukine
- ITF : *intestinal trefoil factor*
- LGR5 : Récepteur 5 couplé aux protéines G contenant des répétitions riches en leucine
- MFN : mitofusine
- MICI : maladie inflammatoire chronique intestinale
- MME : membrane mitochondriale externe
- MMI : membrane mitochondriale interne
- MUC2 : mucine 2
- NAD : domaine de transactivation
- NADH : nicotinamide adénine dinucléotide
- NET : *neutrophil extracellular trap*
- NFκB : *nuclear factor-kappa B*
- NLS : séquence de localisation nucléaire
- NO : monoxyde d'azote
- NRF : facteurs de transcription nucléaire
- ODD : domaine de dégradation dépendant de l'oxygène
- OPA1 : protéine optic atrophy 1
- OXPHOS : phosphorylation oxydative
- PAMP : motif moléculaire associé à l'agent pathogène
- PGC1α : coactivateur 1-α du

- récepteur- $\gamma$  activé par les proliférateurs de peroxyosomes
- PGK1 : phosphoglycérate kinase 1
  - PHD : domaine prolyl hydroxylase
  - PINK1 : kinase putative induite par PTEN 1
  - POLG : polymérase  $\gamma$  de l'ADN mitochondrial
  - PPAR $\gamma$  : récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxyosomes
  - PRR : *pattern recognition receptors*
  - RCH : rectocolite hémorragique
  - SLC : *solute carrier family*
  - SOD : superoxyde dismutase
  - STRIDE : programme de sélection de cibles thérapeutiques dans les MICI
  - SVF : sérum de veau foetal
  - TA cell : cellule progénitrice ou *transit amplifying cells*
  - TCA : cycle des acides tricarboxyliques
- TEER : résistance électrique transépithéliale
  - TFAM : facteur de transcription mitochondrial
  - TGF : *transforming Growth Factor*
  - Th : lymphocyte T effecteur
  - TIM : transporteur de la membrane interne mitochondriale
  - TJ : jonction serrée
  - TNBS : acide trinitrobenzène sulfonique
  - TNF $\alpha$  : *tumor necrosis factor*
  - TOM : transporteur de la membrane externe mitochondriale
  - Treg : lymphocyte T régulateur
  - VEGF : facteur endothélial de croissance
  - ZO : *zonula occludens*





## TABLE DES MATIERES

<b>REMERCIEMENTS</b> .....	3
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b> .....	6
<b>INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	18
<b>1. LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES INTESTINALES</b> .....	19
1.1. Présentation.....	19
1.2. Epidémiologie.....	19
1.3. Symptômes, handicap et qualité de vie.....	20
1.3.1. Atteinte colique et symptômes.....	20
1.3.2. Handicap et qualité de vie.....	23
1.3.3. Risques évolutifs.....	24
1.4. Objectifs thérapeutiques.....	24
1.5. Prise en charge thérapeutique et traitements associés.....	26
1.5.1. Les dérivés salicylés.....	26
1.5.2. Les corticoïdes.....	26
1.5.3. Les thérapies immunosuppressives et biothérapies.....	27
<b>2. PHYSIOLOGIE DU COLON</b> .....	28
2.1. Architecture du côlon.....	29
2.2. Organisation de l'épithélium.....	29
2.3. Fonctions coliques.....	30
2.4. Environnement hypoxique.....	33
2.4.1. L'hypoxie physiologique du côlon.....	33
2.4.2. Facteurs de régulation de l'hypoxie.....	35
2.5. La fonction mitochondriale.....	37
2.5.1. Généralités.....	37
2.5.2. La phosphorylation oxydative.....	37
2.5.3. La dynamique mitochondriale.....	40
2.5.4. Substrat énergétiques des CEI.....	43
<b>3. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA RCH</b> .....	47
3.1. Généralités.....	47
3.2. Altération de la barrière intestinale.....	49

3.3. Microbiote et rectocolite hémorragique.....	49
3.4. L'inflammation.....	50
3.5. L'hypoxie.....	53
3.6. Dysfonction mitochondriale dans la rectocolite hémorragique.....	55
3.6.1. Altération morphologique .....	55
3.6.2. Utilisation des substrats oxydatifs .....	56
3.6.3. Chaîne respiratoire mitochondriale .....	59
3.6.4. Génération d'espèces réactives de l'oxygène .....	62
4. REPARATION EPITHELIALE.....	63
5. LES MODELES DISPONIBLES POUR ETUDIER LA RECTOCOLITE HEMORRAGIQUE .....	65
5.1. Les modèles existants.....	65
5.2. Le modèle organoïde pour étudier la RCH .....	66
5.2.1. Définition du modèle organoïde.....	66
5.2.2. Facteurs régulant l'homéostasie intestinale.....	67
5.2.3. Avantages du modèle d'organoïdes intestinaux.....	70
5.2.4. LIMITES DU MODELE D'ORGANOÏDES INTESTINAUX.....	71
5.2.5. UTILISATION DU MODELE ORGANOÏDE POUR ETUDIER LA RCH.....	72
<b>OBJECTIFS DE LA THESE.....</b>	<b>75</b>
<b>DEVELOPPEMENT DU MODELE ORGANOÏDE.....</b>	<b>77</b>
1. CONTEXTE.....	78
2. CULTURE D'ORGANOÏDES COLIQUES HUMAINS.....	78
3. EXPANSION DE LA CULTURE DES ORGANOÏDES .....	80
4. DIFFERENCIATION DES ORGANOÏDES ET MISE EN PLACE DU TRAITEMENT «STRESS RCH».....	82
5. INDUCTION DE LA REPARATION.....	84
<b>ARTICLE.....</b>	<b>87</b>
<b>RESULTATS COMPLEMENTAIRES.....</b>	<b>137</b>
1. Mise au point d'une méthode pour l'évaluation de la perméabilité des organoïdes intestinaux .....	138

2. Mise au point de méthode pour l'évaluation de la perméabilité des organoïdes intestinaux en 2D.....	143
<b>ETUDES CLINIQUES.....</b>	<b>144</b>
1. CONTEXTE DES ETUDES CLINIQUES.....	145
2. CICALIM Cicatrisation et Alimentation – étude multicentrique.....	146
3. MITIC dysfonction MITochondriale et cICatrisation intestinale – étude monocentrique.....	147
<b>DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>149</b>
1. LES ORGANOIDES COLIQUES HUMAINS : UN MODELE D'ETUDE DE LA RCH.....	151
1.1. Caractérisation d'un modèle d'organoïdes coliques humains différenciés.....	151
1.2. Reproduction de la réponse inflammatoire au cours de la RCH.....	152
2. EFFETS DE LA DYSFONCTION MITOCHONDRIALE.....	154
2.1. Modulation des paramètres de la fonction mitochondriale soumis au stress RCH.....	154
2.2. Transition métabolique en réponse au stress RCH.....	156
2.3. Une dynamique mitochondriale perturbée.....	157
2.4. Génération d'espèces réactives de l'oxygène perturbée.....	158
3. UN MODELE CAPABLE D'INDUIRE LA REPARATION EPITHELIALE.....	159
3.1. Développement d'un milieu de réparation.....	159
3.2. Retour à un épithélium sain et une fonction mitochondriale restaurée.....	160
3.3. Limites et perspectives du modèle de réparation.....	160
4. PERSPECTIVES : L'INFLUENCE DE L'ALIMENTATION SUR LA REPARATION EPITHELIALE..	162
4.1. Les métabolites bactériens issus de l'alimentation.....	162
4.2. Les antioxydants.....	163
4.3. Les oméga 3.....	164
4.4. Les acides aminés.....	164
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>165</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>166</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>197</b>
<b>COMMUNICATIONS AFFICHEES.....</b>	<b>201</b>



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Prévalence des MICI dans le monde en 2019.....	20
<b>Figure 2.</b> Localisations de la RCH. ....	20
<b>Figure 3.</b> Coupe transversale crypte colique coloration hématoxyline éosine safran (HES).21	
<b>Figure 4.</b> Images de coloscopie.....	23
<b>Figure 5.</b> Profondeur de la cicatrisation et risque de rechutes.....	26
<b>Figure 6.</b> Représentation schématique des différentes couches coliques.....	28
<b>Figure 7.</b> Image de microscopie électronique et représentation schématique d'une crypte colique.....	30
<b>Figure 8.</b> Mécanisme de réabsorption d'eau par la pompe ATPase Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> .....	31
<b>Figure 9.</b> Représentation schématique des jonctions serrées dans l'épithélium intestinal...32	
<b>Figure 10.</b> Gradient d'oxygène dans le côlon.....	34
<b>Figure 11.</b> Structure des facteurs HIFs.....	36
<b>Figure 12.</b> Représentation schématique de la bioénergétique mitochondriale dans les cellules épithéliales intestinales.....	39
<b>Figure 13.</b> La régulation de la biogenèse mitochondriale par la voie PGC-1 $\alpha$ -NRF1-TFAM.41	
<b>Figure 14.</b> Mécanismes de la fusion, la fission et la mitophagie.....	43
<b>Figure 15.</b> Métabolisme du butyrate dans les mitochondries des colonocytes.....	44
<b>Figure 16.</b> Oxydation de la glutamine par les CEI.....	45
<b>Figure 17.</b> Séquence des événements physiopathologiques impliqués dans la RCH.....	48
<b>Figure 18.</b> Dysfonctionnement de la fonction de barrière de l'épithélium intestinal et réponse inflammatoire associée.....	50
<b>Figure 19.</b> Cellules immunitaires et cytokines contribuant à la pathologie de la RCH.....	51
<b>Figure 20.</b> Physiopathologie de la RCH.....	52
<b>Figure 21.</b> Induction de HIF en réponse à un stress inflammatoire dans l'épithélium intestinal.....	54
<b>Figure 22.</b> Chaîne de transport des électrons (CTE) et génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	60
<b>Figure 23.</b> Processus de la cicatrisation de l'épithélium intestinal.....	63
<b>Figure 24.</b> Facteurs régulant l'homéostasie intestinale.....	68
<b>Figure 25.</b> Synthèse des voies de signalisation impliquées dans l'homéostasie des cryptes coliques.....	70
<b>Figure 26.</b> Représentation schématique de la transplantation d'organoïdes.....	73
<b>Figure 27.</b> Prélèvement colique à partir de résection chirurgicale.....	79

<b>Figure 28.</b> Isolement des cryptes coliques à partir d'une résection chirurgicale.....	73
<b>Figure 29.</b> Mise en culture des cryptes coliques dans une matrice extracellulaire.....	80
<b>Figure 30.</b> Schéma de développement d'organoïdes à partir de crypte colique.....	80
<b>Figure 31.</b> Caractérisation d'un modèle organoïde colique humain différencié.....	81
<b>Figure 33.</b> Observation par microscopie optique des organoïdes aux différentes phases du protocole expérimental.....	84
<b>Figure 33.</b> Image par microscopie à fluorescence d'organoïde colique en présence de FITCdextran.....	139
<b>Figure 34.</b> Test de perméabilité au FITCdextran sur organoïde colique humain en condition Ctrl et UC stress (ou stress RCH).....	140
<b>Figure 35.</b> Suivi d'un test de perméabilité au FITCdextran par microscopie à fluorescence.....	141
<b>Figure 36.</b> Contrôle positif de perméabilité au DSS avec de la Na-Fluorescéine.....	142
<b>Figure 37.</b> Effet du sulfure d'hydrogène sur la fonction mitochondriale dans un modèle d'organoïde de stress RCH.....	163



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Récapitulatif des caractéristiques cliniques et analyses biologiques associées. ....	21
<b>Tableau 2.</b> Score de Mayo pour l'évaluation de l'activité clinique de la RCH. ....	22
<b>Tableau 3.</b> Synthèse non exhaustive du lien entre examen endoscopique et rémission. ....	25
<b>Tableau 4.</b> Bilan de production d'ATP par la glycolyse et OXPHOS. ....	35
<b>Tableau 5.</b> Bilan de l'oxydation de la glutamine/glutamate.....	45
<b>Tableau 6.</b> Synthèse non exhaustive des résultats se rapportant à la mesure de la chaîne respiratoire mitochondriale dans différents modèles d'études de la RCH. ....	588
<b>Tableau 7.</b> Informations relatives au prélèvement pour la culture d'organoïde. ....	85
<b>Tableau 8.</b> Composition du milieu MiniGut et rôle des composants. ....	85
<b>Tableau 9.</b> Composition et concentration des milieux de prolifération, différenciation et réparation. ....	85







## INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

---

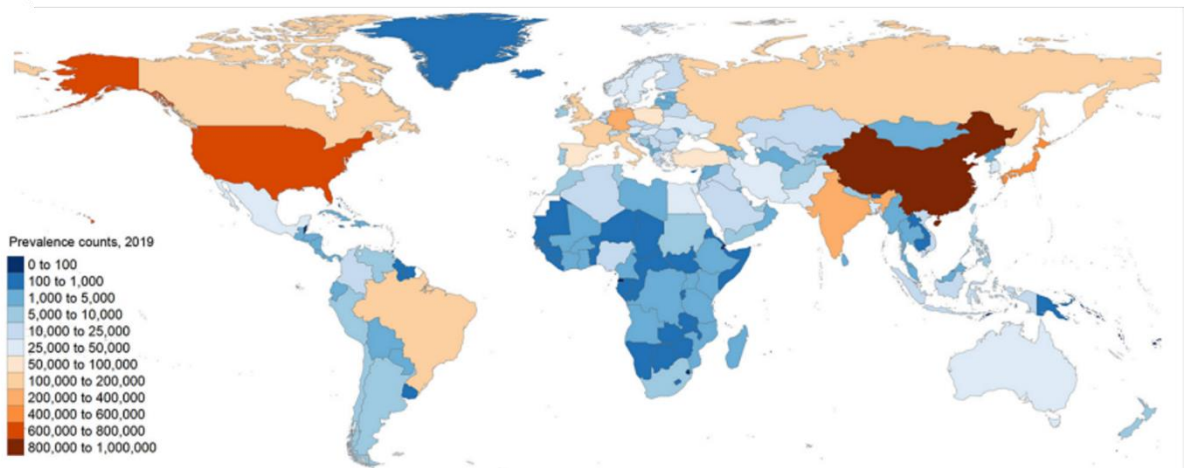
# 1. Les maladies inflammatoires chroniques intestinales

## 1.1. Présentation

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) sont un ensemble de pathologies caractérisées par des phases de poussées inflammatoires du tube digestif alternées avec des phases de rémission. Elles regroupent principalement deux pathologies : la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique (RCH). Dans la RCH, l'inflammation est continue et se limite à la muqueuse du côlon (Ordás et al. 2012).

## 1.2. Epidémiologie

A l'échelle mondiale, les MICI sont un problème de santé publique dans les pays dits industrialisés dans lesquels la prévalence est forte (Wang et al. 2023). Le taux d'incidence annuel de la RCH varie selon la région géographique, allant de 6 à 15 cas pour 100 000 individus en Europe (Figure 1) (Cosnes et al. 2011). En France, la prévalence de la RCH est de 1 sur 1 500 personnes, avec une incidence de 6 à 8 nouveaux cas pour 100 000 habitants. En 2019, 84 090 personnes atteintes de la RCH ont été recensées en France sur les données de l'Affection Longue Durée, avec une répartition presque homogène entre les hommes (45%) et les femmes (55%). La RCH peut survenir à tout âge, mais elle se déclare généralement chez les jeunes adultes, entre 15 et 35 ans (Données d'après l'AFA). En 2019, l'assurance maladie a déclaré que 989 millions d'euros ont été attribués à la prise en charge des MICI. Les principaux coûts liés aux soins de santé sont les hospitalisations, les interventions chirurgicales, les soins ambulatoires (consultations et procédures) et les traitements pharmaceutiques (Kaplan 2015).

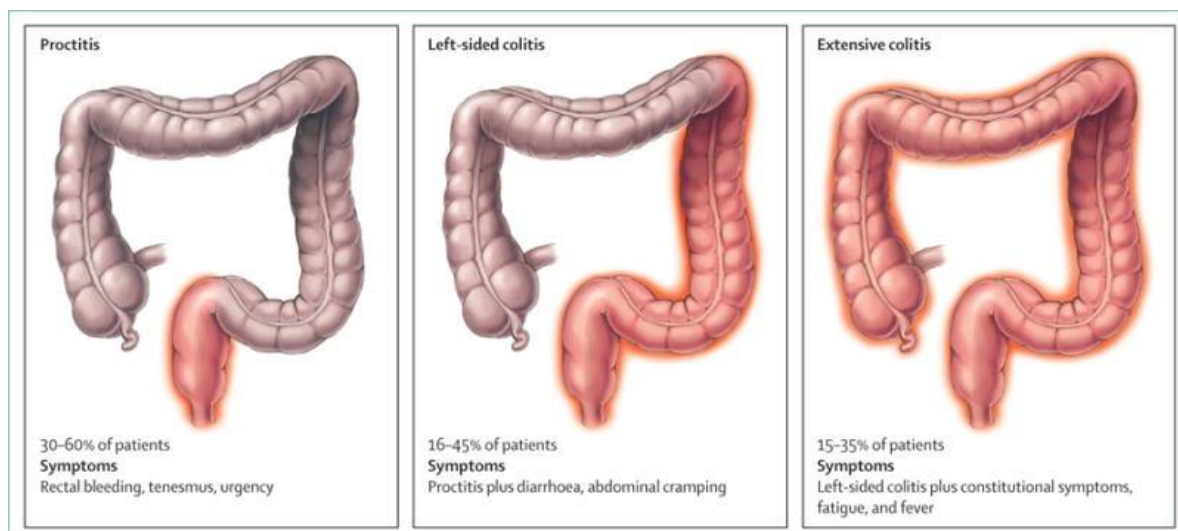


**Figure 1. Prévalence des MICI dans le monde en 2019.** (Cosnes et al. 2011)

### 1.3. Symptômes, handicap et qualité de vie

#### 1.3.1 Atteinte colique et symptômes

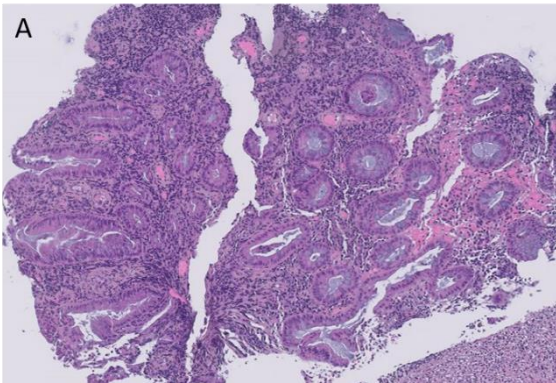
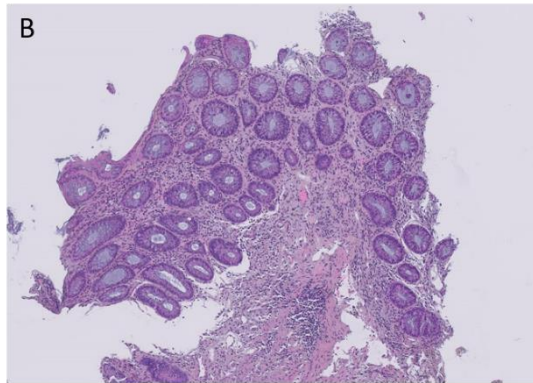
L'extension des lésions de la muqueuse colique est toujours rétrograde avec une atteinte systématique du rectum associée ou non à une extension au côlon, faisant distinguer 3 formes : la rectite, la colite gauche et la pancolite (Satsangi et al. 2006). L'atteinte du côlon gauche est fréquente. Une extension de la maladie est observée chez 15 à 35 % des patients (Figure 2) (Fumery et al. 2018).



**Figure 2. Localisations de la RCH.** Proctite : atteinte rectale uniquement. Colite gauche : atteinte du rectum, sigmoïde et côlon descendant. Pancolite : atteinte du côlon au-delà de l'angle colique gauche (Ungaro et al. 2017).

Les symptômes induits par cette localisation colique de la maladie sont des douleurs abdominales, des diarrhées sévères et des rectorragies. Les caractéristiques cliniques, biologiques et histologiques associées sont détaillées dans le Tableau 1.

**Tableau 1. Récapitulatif des caractéristiques cliniques et analyses biologiques associées.** (Gajendran et al. 2019)

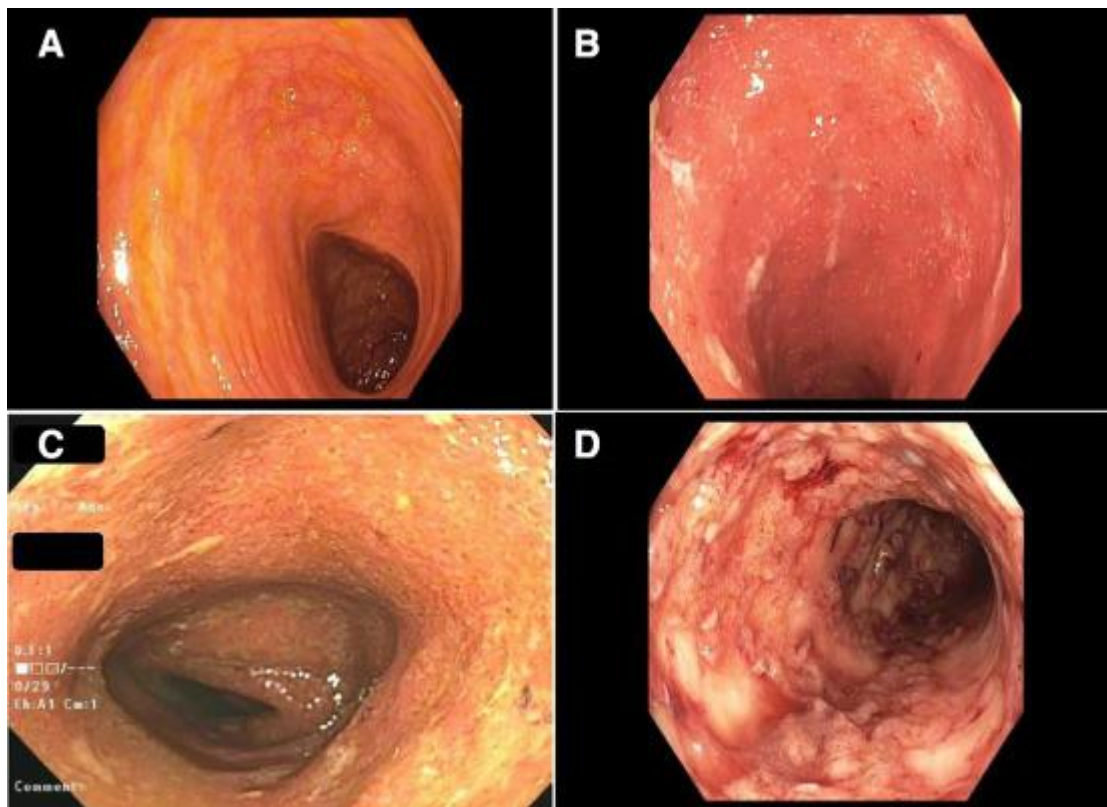
Caractéristiques	
cliniques	Diarrhée, douleurs abdominales, ténésme, hématochézie, sang et mucus dans les selles.
biologiques	<p>Marqueurs inflammatoires : taux de sédimentation érythrocytaire élevé, protéine C-réactive (CRP), calprotectine fécale et lactoferrine fécale.</p> <p>Marqueurs nutritionnels : faible taux de ferritine, anémie et faible taux d'albumine</p> <p>Sérologie : anticorps cytoplasmique anti-neutrophile (p-ANCA) - positif et anticorps anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA)-négatif.</p>
endoscopiques	Inflammation du rectum et extension proximale, circonférentielle et continue Erythème, œdème, perte du schéma vasculaire fin, granularité accrue de la muqueuse, friabilité, saignement spontané, pseudopolypes, érosions et ulcères.
histologiques	<p>Abcès, ramification, raccourcissement, désorganisation et/ou atrophie des cryptes, déplétion de mucine, augmentation de la cellularité de la <i>lamina propria</i>, plasmocytose basale, agrégats lymphoïdes basaux et éosinophiles de la <i>lamina propria</i>.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">   </div> <p><b>Figure 3. Coupe transversale d'une crypte colique - coloration hématoxyline éosine safran (HES). A. Côlon inflammatoire et ulcéré. B. Côlon cicatrisé.</b></p>

L'évaluation de l'activité et de la gravité de la maladie repose sur l'utilisation de scores cliniques tels que le score de Mayo. Il est principalement basé sur la fréquence des selles et l'importance des rectorragies. Le score de Mayo est totalisé sur 12 points et l'activité de la maladie est ensuite définie en fonction du score : faible (3 à 5 points), modérée (6 à 10 points) et sévère (11 à 12 points) (Tableau 2).

**Tableau 2. Score de Mayo pour l'évaluation de l'activité clinique de la RCH.**

Score partiel de Mayo	
Fréquences des selles (en plus du nombre habituel variant de 3/jour à 3/semaine)	
0	0
1 à 2	1
3 à 4	2
5 ou plus	3
Rectorragies	
Absentes	0
Stries de sang dans les selles moins de 50% du temps	1
Sang dans les selles plus de 50% du temps	2
Exonérations purement sanglantes	3
Appréciation clinique	
Rémission	0
Maladie légère	1
Maladie modérée	2
Maladie sévère	3
Endoscopie	
Aspect normal ou cicatriciel	0
Anomalie légère (érythème, diminution de la vascularisation, légère fragilité)	1
Anomalie modérée (érythème franc, vascularisation non visible, fragilité, érosion)	2
Anomalie sévère (saignement spontané, ulcération)	3

L'examen endoscopique reste actuellement le moyen le plus fiable pour juger de la sévérité de la RCH (Figure 4). Le sous-score de Mayo, qui correspond en réalité à la partie endoscopique du score de Mayo (évalué de 0 à 3), est souvent utilisé pour évaluer l'état de la muqueuse à l'examen endoscopique. Les lésions observées comme la modification de la trame vasculaire, le caractère friable et fragile de la muqueuse, les saignements provoqués ou spontanés dans la lumière digestive et les ulcérations témoignent d'une activité inflammatoire de la maladie.



**Figure 4. Images de coloscopie.** (A) Côlon normal ou RCH inactive, (B) colite légère, (C) colite modérée, (D) colite sévère (Gajendran et al. 2019).

### 1.3.2. Handicap et qualité de vie

En raison de l'atteinte rectale, l'incontinence est un symptôme fréquemment observé chez les patients atteints de RCH en poussée. En effet, 74% d'entre eux auront l'expérience d'au moins un épisode d'incontinence, parfois sévère et répété dans 9% des cas (Norton, Dibley, et Bassett 2013).

Au-delà des conséquences sur le long terme, la qualité de vie des patients est impactée au quotidien. Dans une cohorte de 1370 patients, 53% des patients jugeaient que la maladie impactait directement leur qualité de vie (Rubin et al. 2010). La dégradation de la qualité de vie est expliquée par une diminution des activités quotidiennes sociales et familiales telles que les sorties, le sport, les voyages. L'absentéisme provoqué par la maladie nuit aussi au bon déroulement d'une activité professionnelle ou de la scolarité (Reinisch et al. 2007). Une autre étude a révélé que 71% des patients trouvaient leur cercle social réduit à cause de la maladie. Dans le cadre professionnel, le supérieur hiérarchique direct des patients salariés ou fonctionnaires était systématiquement informé de la maladie, et dans 36% des cas les arrêts maladies étaient problématiques (Lagdali et al. 2023). En effet, le retentissement social est majeur avec plus d'un quart des patients en incapacité temporaire ou permanente de travailler



en lien direct avec leur RCH (Siebert et al. 2013). Dans leur quotidien, une étude déclare que 55% des patients n'étaient pas capables d'assurer seuls leurs tâches ménagères (Lagdali et al. 2023). Ainsi, cette maladie peut être difficile à accepter et avoir des répercussions psychologiques sur les patients, participant ainsi à la comorbidité. Deux tiers des patients atteints de RCH présentent des sentiments dépressifs, et plus de 80 % d'entre eux présentent une inquiétude par rapport à leur avenir (Rubin et al. 2010). L'appréciation de la qualité de vie des patients fait à présent partie des critères d'évaluation de la RCH, car les critères d'évaluation clinique ne reflètent que partiellement l'impact de la maladie chez le patient (Lagdali et al. 2023).

### 1.3.3. Risques évolutifs

Des signes systémiques d'inflammation comme une fièvre, une altération de l'état général, une dénutrition liée à l'exsudation colique et une asthénie peuvent apparaître dans les formes les plus sévères de la maladie. Environ 20% des patients nécessiteront une hospitalisation pour ces formes de colite aiguë grave (Bril 2016).

En plus d'altérer radicalement la qualité de vie des patients, l'inflammation incessante et les rechutes aiguës de la RCH peuvent conduire à la progression de la maladie ou à des complications telles que le cancer colorectal (CCR) pouvant nécessiter une intervention chirurgicale (Beaugerie et al. 2013; Stidham et Higgins 2018). Le risque de chirurgie dans l'année qui suit le diagnostic de la RCH concerne 8,7% à 11% des patients, et environ 25% à 10 ans (Hendriksen, Kreiner, et Binder 1985; Jess et al. 2007; Solberg et al. 2009). La probabilité cumulée de développer un CCR peut atteindre 18%, 30 ans après le diagnostic de RCH (Eaden, Abrams, et Mayberry 2001).

## 1.4. Objectifs thérapeutiques

Les objectifs thérapeutiques ont évolué au cours du temps en lien avec l'évolution de l'efficacité des traitements et leur propension à abroger l'inflammation. Cependant, la rémission de la RCH d'un point de vue clinique reste encore difficile à définir (Gajendran et al. 2019). Auparavant, l'objectif des traitements visait uniquement à soulager les patients en diminuant les symptômes. Au cours de ces dernières années, les objectifs thérapeutiques de la RCH priorisent désormais la guérison des lésions de la muqueuse colique (Pineton de Chambrun, Blanc, et Peyrin-Biroulet 2016). En effet, plusieurs études récentes ont souligné une forte association entre la cicatrisation de la muqueuse et une rémission clinique soutenue,

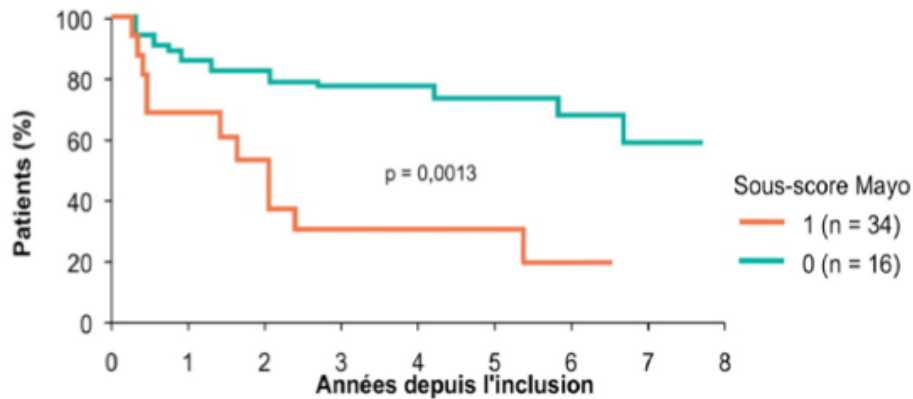
une diminution des hospitalisations, des CCR et des interventions chirurgicales (Tableau 3) (Chamaillard, Chevaux, et Peyrin-Biroulet 2013).

**Tableau 3. Synthèse non exhaustive du lien entre examen endoscopique et rémission.**

Résultats de l'étude	Références
60% des patients en rémission clinique présentaient des caractéristiques anormales à l'examen endoscopique et donc en contradiction avec l'état de rémission défini par l'évaluation clinique.	(Truelove et Richard 1990)
12 patients présentaient un sous-score endoscopique de Mayo de 0. Parmi eux, aucun n'a subi de colectomie au cours de leur suivi. 18 patients avaient un sous-score endoscopique de Mayo de 1. Parmi eux, un seul sur 18 (6%) a subi une colectomie. 32 % patients avec un sous-score de 2, et 55% sujets avec un score de 3 ont subi une colectomie. Ainsi, seulement 3% des patients ayant obtenu une cicatrisation de la muqueuse et 39% sans cicatrisation de la muqueuse ont subi une colectomie au cours de leur suivi.	(Laharie et al. 2013)
7 des 16 patients avec guérison de la muqueuse étaient en rémission après 1 an (44%), contre 6 des 21 patients sans guérison de la muqueuse (29%). La rémission était définie par un sous-score de Mayo de 0 ou 1, sans corticostéroïde et une CRP normale.	(Turner et al. 2013)
Les patients présentant 0 ou 1 facteur de risque (tel que : taux de CRP élevé, réponse réfractaire aux traitements initiaux, colite étendue etc...) présentaient le risque le plus faible à long terme (25% de rechute clinique dans les 12 mois et 2% de colectomie dans les 60 mois), tandis que les patients présentant 4 ou 5 facteurs de risque présentaient le risque le plus élevé (83% rechute dans les 12 mois et 51% colectomie dans les 60 mois).	(Arias et al. 2015)

Depuis 2013, l'Organisation Internationale pour l'étude des MICI a mis en place un programme de sélection de cibles thérapeutiques dans les MICI (STRIDE) permettant de définir les objectifs thérapeutiques à court, moyen et long terme des patients RCH (Peyrin-Biroulet et al. 2015a). Ainsi, les recommandations du STRIDE définissent la rémission endoscopique comme objectif principal, avec un score de Mayo de 0 ou 1. En parallèle, la rémission histologique est considérée comme la prochaine cible mais reste pour le moment

un objectif complémentaire informel (Turner et al. 2021). En revanche, la cicatrisation histologique permet d'évaluer la profondeur de la réponse aux traitements, jouant un rôle dans la prévention des complications à long terme (Figure 5) (Mojtahed et al. 2014).



**Figure 5. Profondeur de la cicatrisation et risque de rechutes.** Pourcentage de patients sans colectomie sur le long terme en fonction de leur score de cicatrisation de la muqueuse évalué par le sous-score de Mayo (Laharie et al. 2013).

## 1.5. Prise en charge thérapeutique et traitements associés

La décision dans la prise en charge thérapeutique de la RCH prend en compte son degré de sévérité et sa localisation dans un premier temps.

### 1.5.1. Les dérivés salicylés

En 1942, Nana Svartz découvre les dérivés salicylés (mesalamine, 5-aminosalicylés, 5-ASA) comme premier traitement efficace de la RCH (Watkinson 1986). Ces molécules sont encore aujourd'hui le principal traitement utilisé en clinique. Il permet d'induire et d'entretenir une rémission chez certains patients, en inhibant la production de prostaglandines, de leucotriènes, ainsi que la synthèse et l'effet de certaines cytokines, telles que l'interleukine (IL) IL-6 et IL-17. Cette gamme médicamenteuse est souvent prescrite en première intention dans les poussées légères (Boschetti, Nancey, et Flourié 2011).

### 1.5.2. Les corticoïdes

Dans les années 1950, un autre type de traitement basé sur les corticoïdes est mis en place dans le cas de poussées dites moyennes (Truelove et Witts 1954). Ce traitement est efficace mais rapidement associé à de nombreux effets indésirables chez le patient sur le long terme. En effet, ils sont parfois responsables d'une prise de poids, d'un gonflement du visage

(œdème), d'insomnie, d'un syndrome anxieux, d'une diminution des défenses immunitaires ou encore une déminéralisation osseuse et atrophie musculaire (Faubion et al. 2001).

### 1.5.3. Les thérapies immunosuppressives et biothérapies

Les thérapies immunosuppressives à base de thiopurines (6-mercaptopurine, azathioprine) sont utilisées pour maintenir la rémission suite aux traitements type corticoïdes ou dérivés salicylés (Bean 1962). La mise en place des biothérapies basées sur l'administration d'anticorps monoclonaux thérapeutiques *anti-tumor necrosis factor  $\alpha$*  (TNF $\alpha$ ), (infliximab, adalimumab, golimumab) ont permis une avancée dans le traitement de la RCH, ces anticorps ayant la capacité d'induire rapidement la rémission et de la maintenir (Rutgeerts et al. 2005).

D'autres traitements sont utilisés tels que des inhibiteurs de la Janus Kinase (anti-JAK) qui visent à moduler la réaction inflammatoire avec un spectre plus large en diminuant la signalisation des interleukines (IL) et des interférons. D'autres biothérapies à visée anti-inflammatoire ont été développées telles qu'un anti- intégrine  $\alpha 4\beta 7$ , un anticorps monoclonal sélectif de l'intestin utilisé dans les RCH modérées à sévères (Loftus et al. 2020) (Ferrante et Sabino 2020) ou l'ustekinumab, un anticorps monoclonal se liant à la sous-unité p40 partagée de l'IL-12 et de l'IL-23 (Guillo et al. 2021).

L'efficacité des différents traitements n'est malheureusement pas absolue et reste très variable d'un patient à l'autre. Seuls 40% des patients nécessitant une biothérapie atteindront la rémission. En outre certains patients présentent une perte de réponse secondaire au cours du temps, ce qui souligne la nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques (Ungaro et al. 2017; Torres et al. 2020).

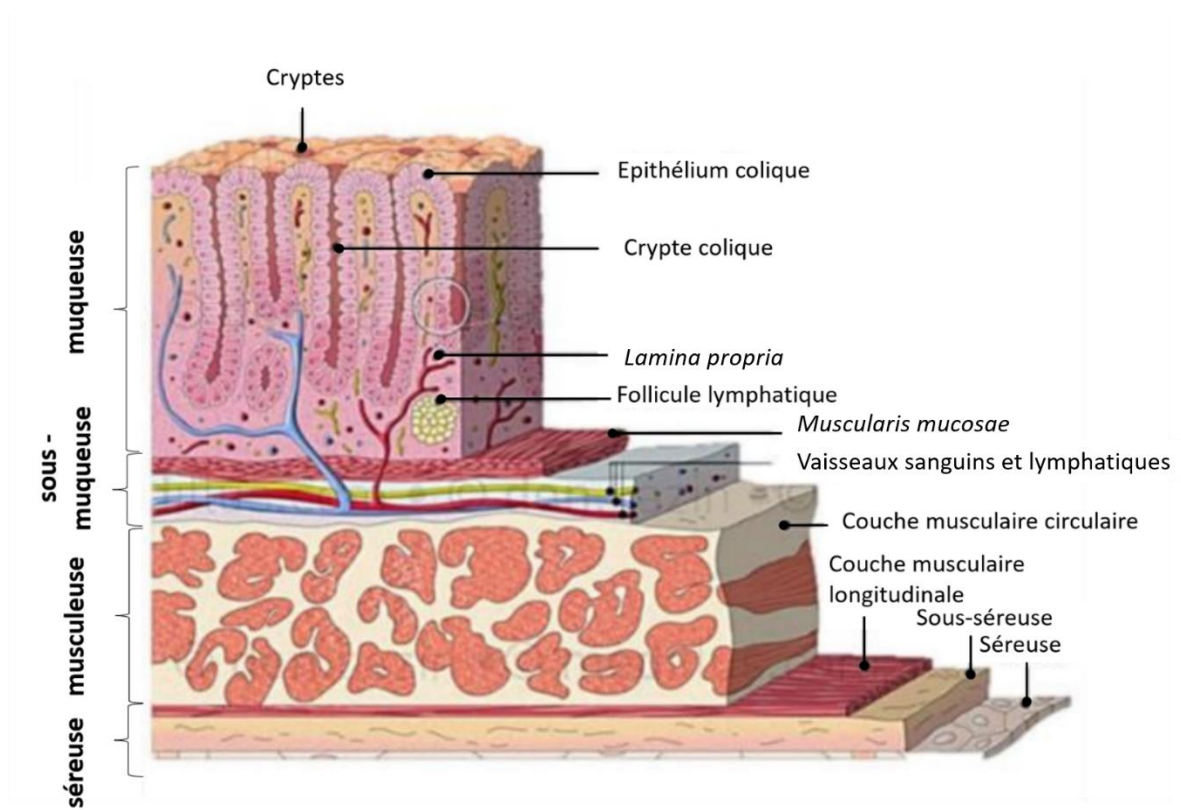
Malgré le développement au fil des années de ce nouvel arsenal thérapeutique, cette prise en charge vise uniquement à réduire l'inflammation de façon non spécifique. A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement curatif de cette pathologie.

## 2. Physiologie du côlon

### 2.1. Architecture du côlon

Le côlon et le rectum sont les deux segments du tube digestif atteints lors de la RCH. Le côlon est composé de 5 parties : le caecum, le côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon descendant et le côlon sigmoïde. C'est un organe complexe qui a une interphase directe avec l'environnement l'extérieur, soit environ 2 m<sup>2</sup> en contact avec le bol alimentaire chez l'adulte (Helander et Fändriks 2014). La paroi colique est composée de 4 couches : la séreuse, la plus externe, suivie d'une couche musculaire, puis la sous-muqueuse dans laquelle se trouve le système vasculaire sanguin et lymphatique. Enfin, la muqueuse est la couche la plus interne. Elle est elle-même divisée en 3 sous parties (Figure 6) :

- la *muscularis mucosae* qui est responsable des contractions localisées ;
- la *lamina propria* est un tissu conjonctif aussi appelé chorion contenant les cellules immunitaires et les capillaires lymphatiques et sanguins ;
- L'épithélium intestinal est en contact avec la lumière intestinale.



**Figure 6. Représentation schématique des différentes couches coliques.** La paroi colique se subdivise en 4 couches : de l'extérieur vers la lumière colique : la séreuse, la musculaire, la sous-muqueuse et la muqueuse. (Encyclopédie Medillus 2013)

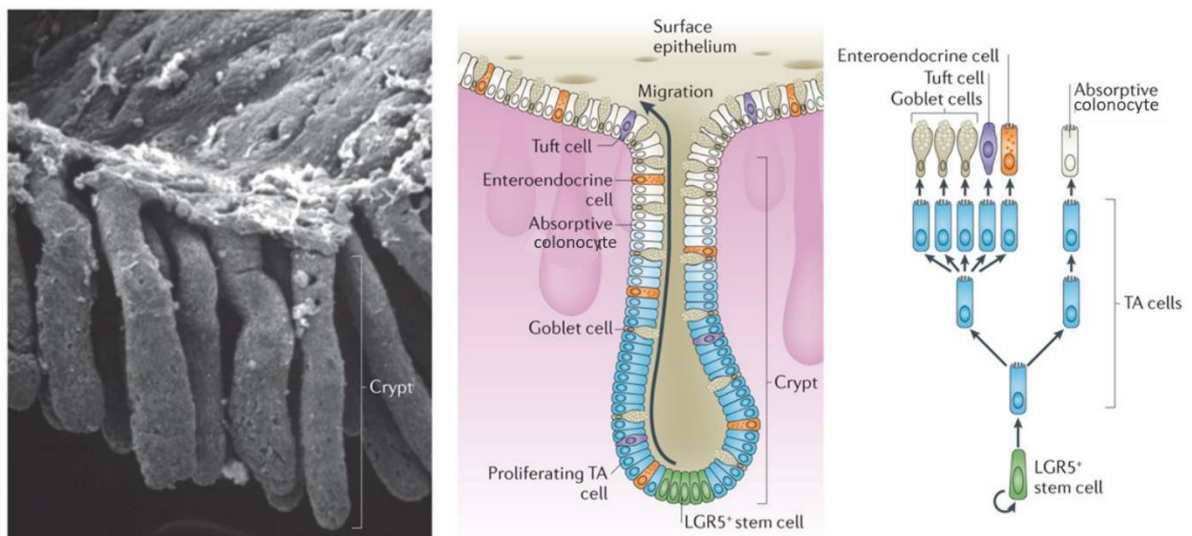
La fonction du côlon est d'assurer une déshydratation du contenu luminal intestinal *via* la réabsorption d'eau et d'électrolytes en permettant sa progression par péristaltisme dans les différents segments afin d'éliminer les déchets par le rectum. L'épithélium colique est la couche la plus interne du côlon en contact direct avec le contenu intestinal. Cet épithélium exerce deux grandes fonctions : d'absorption et de barrière.

## 2.2. Organisation de l'épithélium

L'épithélium intestinal est constitué d'une monocouche cellulaire polarisée composée de différents types cellulaires. Le pôle apical est dirigé vers la lumière intestinale et le pôle basal est dirigé vers la *lamina propria*. La surface d'échange est augmentée par la présence de très nombreux replis de la muqueuse appelés cryptes (Hall et al. 1994). Au fond des cryptes se trouve un pool de l'ordre de 4 à 5 cellules de cellules souches intestinales (CSI) identifiées par l'expression de LGR5 pour *leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5*. Elles sont responsables du renouvellement constant de ce tissu et de la pluralité cellulaire (auto-renouvellement à long terme et différenciation multipotente) (Sasaki et al. 2016). Ces CSI prolifèrent par mitose asymétrique générant des cellules progénitrices appelées *transit amplifying cells (TA)*. En fonction des facteurs environnant perçus, ces cellules se différencient en cellules épithéliales intestinales (CEI) de (Figure 7) :

- Lignage **absorbant** : il est le plus représenté et est exclusivement constitué de **colonocytes**, qui représentent 80% de la population cellulaire. Ces cellules cylindriques polarisées présentent à leur pôle apical des microvillosités permettant d'augmenter la surface d'échange avec le contenu intestinal.
- Lignage **sécrétoire** : il est composé de trois types cellulaires : les cellules **à mucus** (de gobelet ou caliciformes), les cellules **entéroendocrines** et les cellules **Tuft** (Barker et al. 2007) :
  - les cellules caliciformes (21% des cellules) participent à la fonction de barrière en sécrétant une double couche de mucus, composé de glycoprotéines dont la principale est la mucine 2 (MUC2) et qui assure un rôle protecteur de la muqueuse vis-à-vis des agressions physiques, chimiques ou biologiques. L'épithélium colique est séparé du contenu luminal par la partie interne de la couche du mucus contenant des peptides antimicrobiens et des immunoglobulines A qui permettent de maintenir un environnement quasi-stérile où seuls diffusent les métabolites bactériens et les molécules de petite taille, tandis que la partie externe de la couche de mucus héberge le microbiote intestinal (Johansson, Larsson, et Hansson 2011; Zouiten-Mekki et al. 2013) ;

- les cellules entéroendocrines (<1%) qui sécrètent un grand nombre d'hormones ayant un rôle dans le métabolisme (somatostatine, glucagon-like, peptide-1) (Grube 1976) ;
- les cellules Tuft (<1%) dont la fonction est partiellement comprise. Elles joueraient un rôle dans la réponse immunitaire, en particulier contre les infections parasitaires (Gerbe, Legraverend, et Jay 2012).

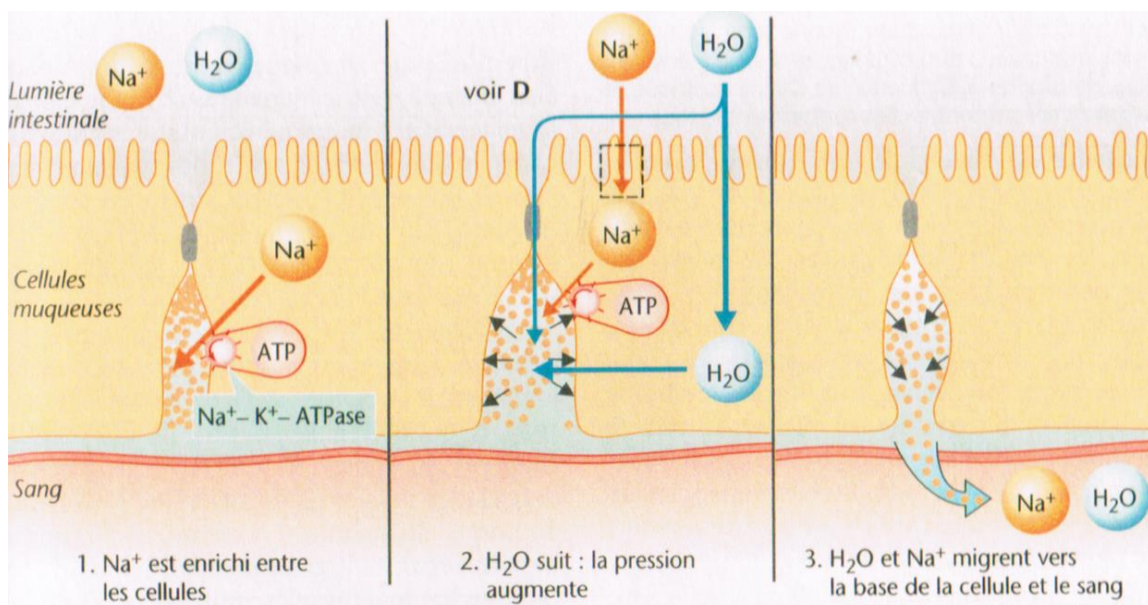


**Figure 7. Image de microscopie électronique et représentation schématique d'une crypte colique.** Organisation cellulaire d'une crypte colique. Les cellules souches LGR5+ à la base des cryptes génèrent les cellules progénitrices (TA cells) qui prolifèrent et se différencient en cellules matures (colonocytes, cellules caliciformes, entéroendocrines et Tuft) (Baker et al. 2014).

### 2.3. Fonctions coliques

Le contenu intestinal provenant de la digestion des aliments présent dans la lumière colique est principalement constitué d'eau, de sels minéraux, du microbiote et de fibres alimentaires. L'une des fonctions majeures du côlon est l'absorption d'eau et d'électrolytes par les colonocytes. Elle permet la déshydratation du chyme alimentaire pour la formation de fèces qui seront ensuite stockés puis évacués par le rectum. Les protéines membranaires de transport ATPases de type P permettent le passage des cations Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> (Figure 8). D'autres transporteurs compris dans la famille des *solute carrier family* (SLC) tels que SLC26A3, transporteur d'anions sodium/chlorure sont également exprimés au pôle apical des CEI. Cette protéine contribue à la réabsorption de l'eau en transportant les ions chlorure de la lumière

intestinale vers les cellules épithéliales. Elle est responsable de l'établissement et du maintien des gradients électrochimiques à travers la membrane plasmique (Rocafull et al. 2010). D'autres protéines membranaires comme les aquaporines participent à la réabsorption d'eau. Une autre capacité d'absorption des colonocytes est celle des acides gras par diffusion passive à travers la membrane ou active par des transporteurs. Parmi les transporteurs, le monocarboxylate 1 (SLC16A) est présent dans la membrane apicale des colonocytes et facilite l'entrée dans la cellule des acides gras à chaîne courte (AGCC), en particulier du butyrate. Ce transporteur fait partie de la famille SLC qui comprend de nombreux transporteurs d'AGCC tels que SLC16A1, SLC16A3 ou encore SLC5A8 (Ferrer-Picón et al. 2020). Le butyrate est ensuite utilisé comme substrat énergétique des colonocytes, son absorption est donc essentielle dans le maintien de l'épithélium (cf partie II.5.b).



**Figure 8. Mécanisme de réabsorption d'eau par la pompe ATPase Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>.** (A partir d'un atlas de physiologie)

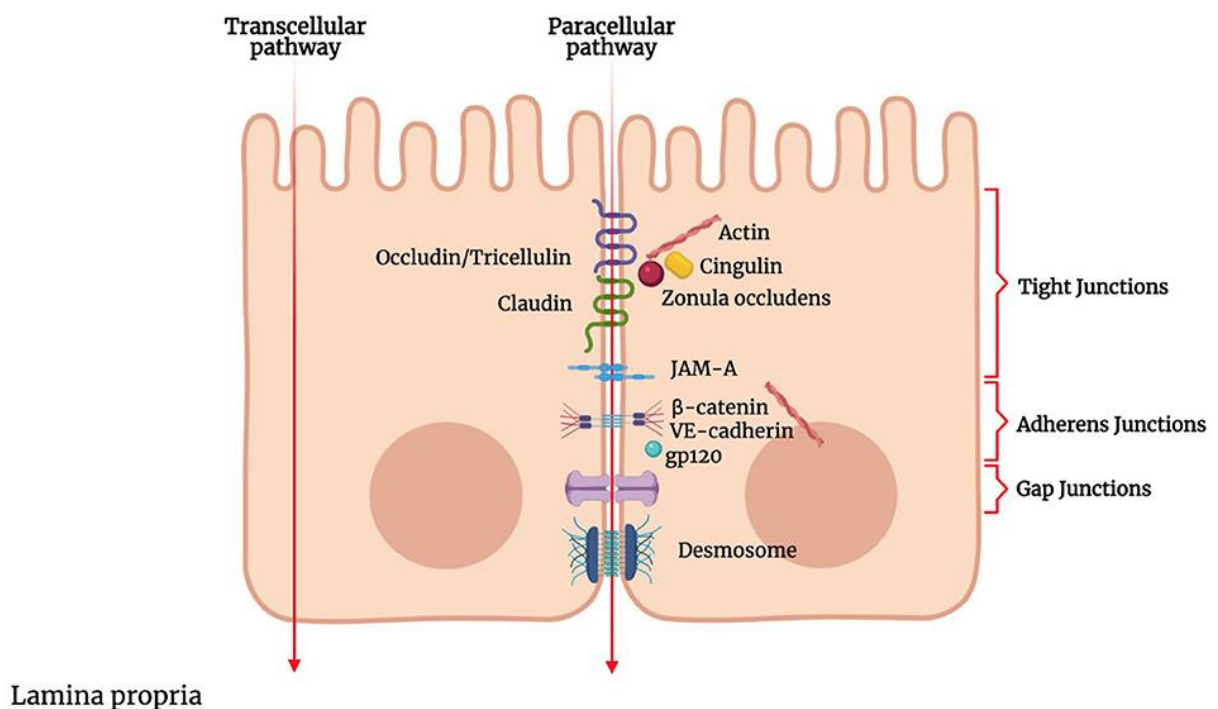
Le maintien mécanique de la fonction de barrière est assuré par les jonctions serrées et les jonctions adhérentes situées entre les cellules épithéliales. Ces jonctions sont positionnées à l'extrémité basale de la membrane plasmique latérale, et sont intimement liées dans leur régulation et leur fonction (Ivanov, Nusrat, et Parkos 2005). Les jonctions serrées sont composées de protéines transmembranaires telles que les claudines, l'occludine, la molécule d'adhésion jonctionnelle JAM et les protéines *zonula occludens* (ZO). Les ZO agissent comme des protéines d'échafaudage, reliant les claudines et l'occludine à l'actine du cytosquelette (Figure 9). Cette organisation modulable permet ainsi de faire varier la perméabilité de l'épithélium, qui repose sur des phénomènes de phosphorylation énergivore (Krause et al. 2009). Les jonctions serrées fonctionnent comme des portes semi-perméables, en laissant passer les fluides et solutés par la voie paracellulaire. Elles régulent ainsi le passage passif



de l'eau et des électrolytes du pôle apical vers le pôle basolatéral par la présence du gradient d'osmolarité au sein de la paroi colique (concentration élevée en solutés dans la lumière colique par rapport aux colonocytes) (Laukoetter, Bruewer, et Nusrat 2006). Les jonctions adhérentes sont constituées des protéines cadhérines et  $\beta$ -caténine qui assurent l'adhérence et la communication entre les cellules (Barbara et al. 2021).

La variation de la perméabilité intestinale peut être étudiée *via* le passage de molécules de poids moléculaires connus couplées à un fluorochrome, comme le FITC-dextran (4 kDa) ou encore la Na-fluorescéine (376 Da). Il est également possible d'évaluer la perméabilité par mesure de la résistance électrique transépithéliale (TEER) sur monocouche cellulaire.

### Intestinal lumen



**Figure 9. Représentation schématique des jonctions serrées dans l'épithélium intestinal.** Les molécules peuvent traverser l'épithélium de la lumière intestinale vers la lamina propria à travers la cellule (voie transcellulaire) ou entre les cellules (voie paracellulaire). La fonction de barrière est mise en œuvre par les différents complexes de jonctions : les jonctions serrées, les jonctions d'adhérence et les desmosomes (Barbara et al. 2021).

Du fait de ses fonctions d'absorption et de barrière à l'interface entre le milieu interne et l'environnement externe, l'épithélium colique est un tissu consommateur d'énergie. De plus, l'intégralité de l'épithélium colique est renouvelée dans une période de temps de 4 à 5 jours chez l'Homme, par migration des cellules de la base des cryptes jusqu'à leur extrémité apicale (épithélium de plateau) pour être éliminé dans la lumière digestive par anoïkis. Ce renouvellement cellulaire constant constitue également un coût énergétique important (Potten, Booth, et Pritchard 1997; Van der Flier et Clevers 2009).

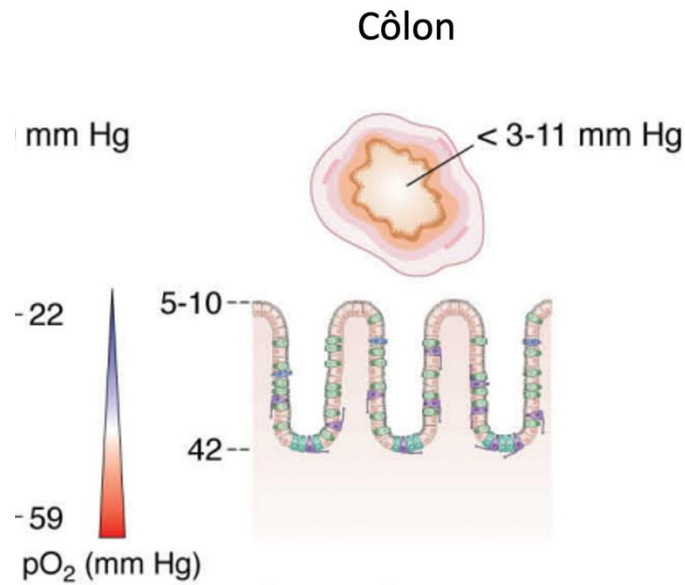
## 2.4. Environnement hypoxique

Le tractus gastro-intestinal représente seulement 5 % du poids total du corps, en revanche il consomme 20 % de l'oxygène total de l'organisme (Blachier et al. 2009). Cet O<sub>2</sub> est utilisé par la chaîne respiratoire mitochondriale pour produire de l'ATP par phosphorylation oxydative afin de répondre aux besoins énergétiques de l'épithélium intestinal.

### 2.4.1. L'hypoxie physiologique du côlon

Du fait de son architecture, l'épithélium colique est confronté à une répartition hétérogène de l'oxygène (Karhausen et al. 2004). Le côlon présente un gradient d'oxygène longitudinale avec une teneur en O<sub>2</sub> de 11mm Hg dans la lumière du côlon ascendant, jusqu'à 3mm Hg dans la lumière du côlon sigmoïde (Ramakrishnan et Shah 2016). Le côlon présente un second gradient d'oxygène selon l'axe base-haut des cryptes (Figure 10). La teneur en oxygène est plus élevée dans le fond des cryptes (42mm Hg) de par la proximité des vaisseaux sanguins présents dans la sous-muqueuse, alors que le haut des cryptes en contact avec la lumière colique est plus pauvre en oxygène (5-10 mm Hg) (Singhal et Shah 2020). L'oxygène se raréfie pour les cellules présentes dans la partie haute des cryptes en raison des conditions d'anaérobiose de la lumière intestinale. En revanche, les cellules présentes au fond des cryptes sont moins exposées à cette hypoxie. Ce gradient d'oxygène est aussi appelé « hypoxie physiologique » (Dengler, Kraetzig, et Gäbel 2021).

La vascularisation de la sous-muqueuse assure l'approvisionnement en oxygène par le pôle basal des CEI. Cet apport d'oxygène étant variable et dépendant de la phase digestive, la perfusion en O<sub>2</sub> des cellules épithéliales est alors fluctuante. L'épithélium intestinal présente ainsi une grande capacité d'adaptation (Zeitouni et al. 2016).



**Figure 10. Gradient d'oxygène dans le côlon.** (Singhal et Shah 2020)

L'activité métabolique des CEI permet de répondre à ses besoins *via* différentes voies complémentaires telles que la glycolyse ou la phosphorylation oxydative (OXPHOS) notamment, alimentées par la  $\beta$ -oxydation et le cycle de Krebs (CK).

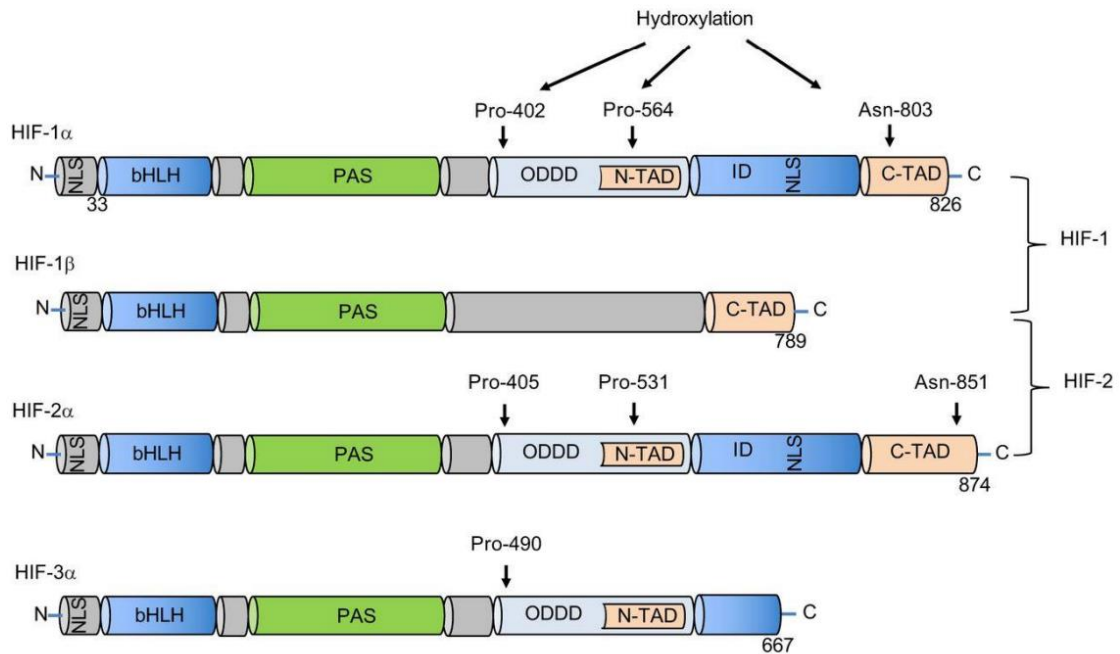
De plus, il existe un gradient métabolique créant un gradient d'O<sub>2</sub> le long de la crypte, aussi connu sous le nom d'hypoxie épithéliale (Furuta et al. 2001). En effet, le métabolisme des cellules différenciées repose sur la consommation d'oxygène pour alimenter l'OXPHOS et celui des cellules souches repose sur la glycolyse anaérobie. Les cellules souches situées au fond des cryptes coliques présentent un métabolisme principalement glycolytique, cela même en présence d'oxygène, aussi connu sous le nom d'effet Warburg. En effet, leur principale source de substrat est le glucose apporté par la voie systémique (Warburg, Wind, et Negelein 1927; Fan et al. 2015). La glycolyse anaérobie permet la production finale de deux molécules d'adénosine triphosphate (ATP) (Tableau 4). Les *TA cells* utilisent elles aussi majoritairement la glycolyse anaérobie. En revanche, le métabolisme des cellules différenciées situées plus haut dans les cryptes, repose principalement sur l'OXPHOS (Cho et al. 2006).

**Tableau 4. Bilan de production d'ATP par la glycolyse et OXPHOS.** Extrait de la thèse de T.Guerbette (2023).

<b>Voie métabolique</b>	<b>ATP formés au cours de la réaction</b>	<b>Coenzymes formées</b>	<b>ATP formés par l'oxydation des coenzymes</b>
<b>Glycolyse</b>	2 ATP (réaction anaérobie)	2 NADH,H <sup>+</sup>	6 ATP
<b>Décarboxylation oxydative des 2 pyruvates issus de la glycolyse</b>		2 NADH,H <sup>+</sup>	6 ATP
<b>2 tours de TCA (par molécule de glucose)</b>	2 ATP	2 x 3 NADH,H <sup>+</sup>	18 ATP
		2x1 FADH <sub>2</sub>	4 ATP
<b>Bilan partiel</b>	4 ATP		34 ATP
<b>Bilan total</b>	38 ATP formés à partir d'une molécule de glucose oxydée (dont 2 consommés pendant la glycolyse)		

#### 2.4.2. Facteurs de régulation de l'hypoxie

L'adaptation de cette hypoxie au niveau cellulaire est régulée par les facteurs inductibles par l'hypoxie (HIF). L'hypoxie induit 3 facteurs de transcription : HIF-1, HIF-2 et HIF-3. Le HIF est une protéine hétérodimérique constituée de plusieurs sous-unités dont HIF-1 $\alpha$  et HIF-2 $\alpha$  qui sont exprimées dans les CEI (Sun et al. 2019). Ces protéines comprennent plusieurs domaines distincts, dont le domaine hélice-boucle-hélice, les domaines PAS, les domaines de transactivation N- et C-TAD, le domaine de dégradation sensible à l'oxygène et des séquences de localisation nucléaire, chacun contribuant à leur rôle régulateur dans la transcription des gènes cibles de HIF-1 $\alpha$  et HIF-2 $\alpha$ . Plus précisément, les domaines N-TAD et C-TAD interviennent dans la transcription des gènes cibles régulés par les facteurs HIF-1 et HIF-2 (Figure 11). Les deux domaines sont séparés par un domaine inhibiteur de la transcription qui réprime l'activité du N-TAD et C-TAD en présence d'O<sub>2</sub> (Jiang et al. 1997). Le domaine de dégradation dépendant de l'oxygène (ODD) est responsable de la dégradation de HIF-1 $\alpha$  et HIF-2 $\alpha$  par le protéasome en présence d'O<sub>2</sub>. Ce domaine est impliqué dans le maintien de la stabilité des sous-unités  $\alpha$  dans des conditions d'hypoxie (Jiang et al. 1996; O'Rourke et al. 1999).



**Figure 11 : Structure des facteurs HIFs.** Les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  sont constituées du domaine hélice-boucle-hélice (bHLH) et du domaine PAS intervenant dans la liaison à l'ADN et la dimérisation des protéines. Les sous-unités  $\alpha$  sont constituées d'un domaine ODD intervenant dans la dégradation de HIF- $\alpha$  en présence d' $O_2$ . HIF-1 $\alpha$  et HIF-2 $\alpha$  ont deux domaines distincts de transactivation N- et C-TAD jouant un rôle dans la transcription des gènes cibles séparés par un domaine inhibiteur. Les séquences NLS interviennent dans le transport nucléaire des protéines. ID : inhibitory domains. (Beaudry et al. 2016).

En hypoxie, les enzymes prolyl hydroxylases (PHDs) sont inactives à cause de l'absence d'oxygène, par conséquent les HIF-1/2 $\alpha$  ne sont donc plus dégradés par le protéasome. Au contraire, ces sous-unités deviennent plus stables et s'accumulent dans le cytoplasme. Ensuite, grâce à leurs NLS, les sous-unités alpha des facteurs HIF-1 et HIF-2 sont dirigées vers le noyau, où elles forment des hétérodimères avec la sous-unité HIF-1 $\beta$ . Ensemble, ces hétérodimères se lient à l'élément de réponse à l'hypoxie (HRE) présent dans les promoteurs des gènes cibles, déclenchant ainsi leur activation transcriptionnelle (Maxwell, Pugh, et Ratcliffe 2001). Parmi les gènes cibles HIF coordonne l'induction de gène impliqué dans la glycolyse tel que Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1 (*PDK1*) et le transporteur de glucose (*GLUT1*) et le contrôle de l'expression du facteur de croissance vasculaire (*VEGF*) (Gothié et Pouyssegur 2002).

## 2.5. La fonction mitochondriale

### 2.5.1. Généralités

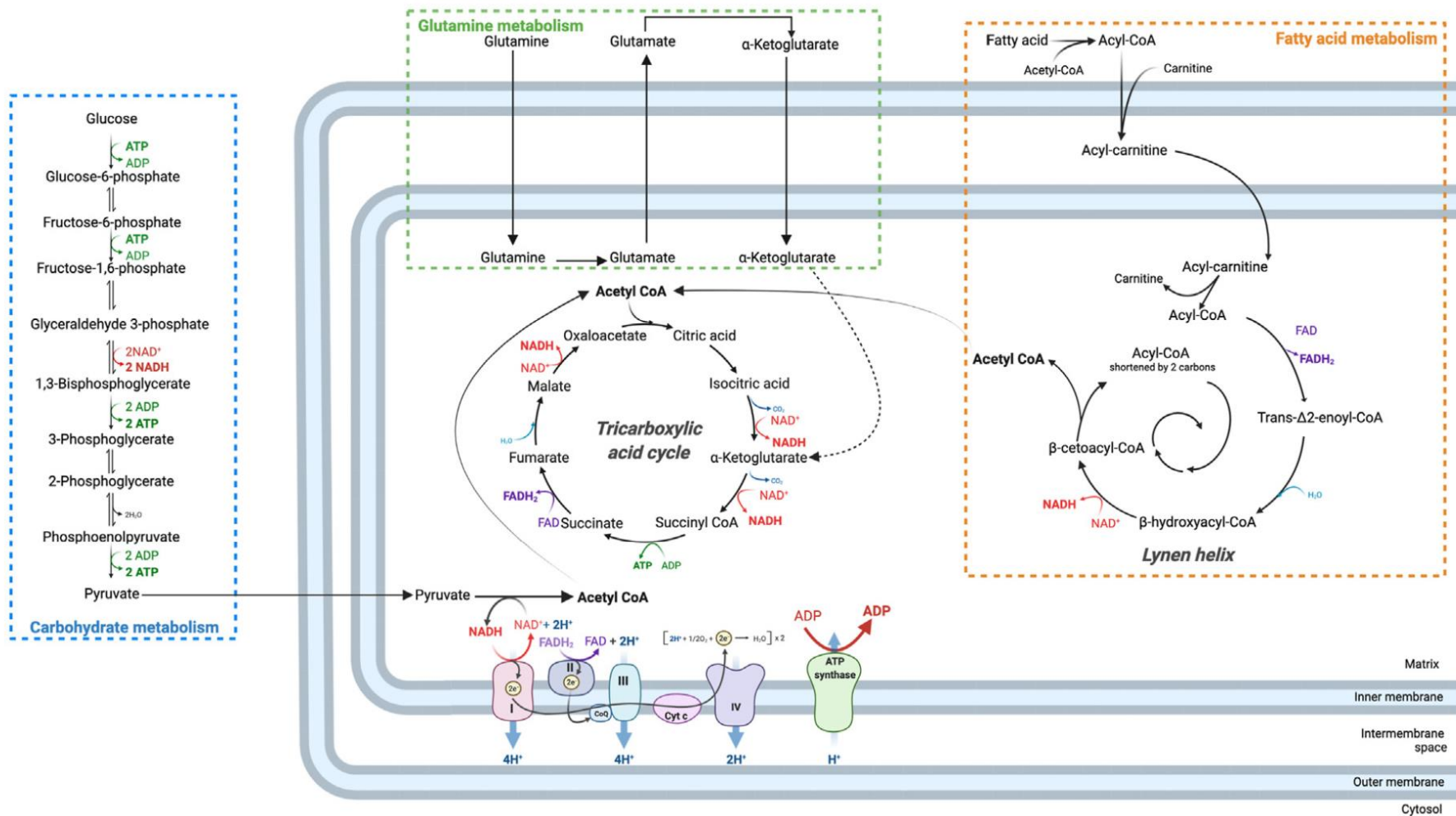
Les mitochondries possèdent leur propre génome, qui est un ADNmt circulaire à double brin (~16,6 kb chez l'Homme) situé dans la matrice mitochondriale. Le génome mitochondrial est constitué de dizaines à des centaines de copies d'ADNmt par colonocyte (O'Hara et al. 2019). Treize ARN messagers polypeptidiques codent 13 protéines des sous-unités des complexes de la chaîne respiratoire (CTE). La formation des autres protéines de la CTE dépend du génome nucléaire. Le génome mitochondrial inclut également 2 gènes codant des ARN ribosomiques et 22 codant des ARN de transfert. La biogenèse mitochondriale est le processus par lequel la cellule génère de nouvelles mitochondries à partir de mitochondries préexistantes. Elle est coordonnée entre l'ADN génomique et l'ADN mitochondrial et résulte en la transcription et la traduction de protéines impliquées notamment dans l'OXPPOS. La mitochondrie est un organe essentiel des cellules eucaryotes et est la principale source de production d'énergie sous forme d'ATP. Elle est délimitée par deux bicouches phospholipidiques : une membrane mitochondriale interne (MMI) et une membrane mitochondriale externe (MME), séparées par un espace intermembranaire. La MME sépare le contenu mitochondrial de l'espace cytosolique et permet la communication de la mitochondrie avec son environnement. La MMI contient les complexes de la CTE impliqués dans la production d'ATP *via* l'OXPPOS. Des plis vers l'intérieur, appelés crêtes, prolongent la MMI et augmentent la surface pour la production d'ATP, facilitant les échanges de protéines et de métabolites au travers de la MMI (Figure 12).

### 2.5.2. La phosphorylation oxydative

L'OXPPOS consiste en la phosphorylation de l'ADP en ATP de façon couplée à l'oxydation des cofacteurs d'oxydo-réduction nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) et flavine adénine dinucléotide (FADH<sub>2</sub>), respectivement réalisée par les complexes I et II de la CTE. L'oxydation du NADH et FADH<sub>2</sub> libère des électrons qui transitent à travers les 5 complexes de la CTE que sont : la NADH déshydrogénase (complexe I), la succinate déshydrogénase (complexe II), l'ubiquinol cytochrome c oxydoréductase (complexe III), la cytochrome c oxydase (complexe IV) et l'ATP synthase (complexe V) (Starkov et al. 2004a).

Le NADH et le FADH<sub>2</sub> sont obtenus par des voies cataboliques telles que la  $\beta$ -oxydation des acides gras *via* l'hélice de Lynen, par le catabolisme des glucides, ou encore par le catabolisme de certains acides aminés (glutamate, glutamine et aspartate) (Finnie, Taylor, et Rhodes 1993; Blachier et al. 2011). Ces voies génèrent de l'acétyl-CoA qui entre dans le cycle des acides tricarboxyliques (TCA), également appelé cycle de Krebs, dans lequel une

succession de décarboxylations oxydatives génère du NADH et du FADH<sub>2</sub>. Ensemble, la glycolyse et l'OXPHOS permettent finalement l'obtention de 38 molécules d'ATP (Tableau 4).



**Figure 12. Représentation schématique de la bioénergétique mitochondriale dans les cellules épithéliales intestinales.** L'acétyl-CoA est un carrefour métabolique. Il peut être produit à partir de la glycolyse et le métabolisme de la glutamine. Le catabolisme de l'acétyl-CoA par le TCA permet d'approvisionner la CTE en NADH et FADH<sub>2</sub>. Leur oxydation dans les complexes I et II initie le transfert d'électrons entre les complexes. (Guerbette, Boudry, et Lan 2022)

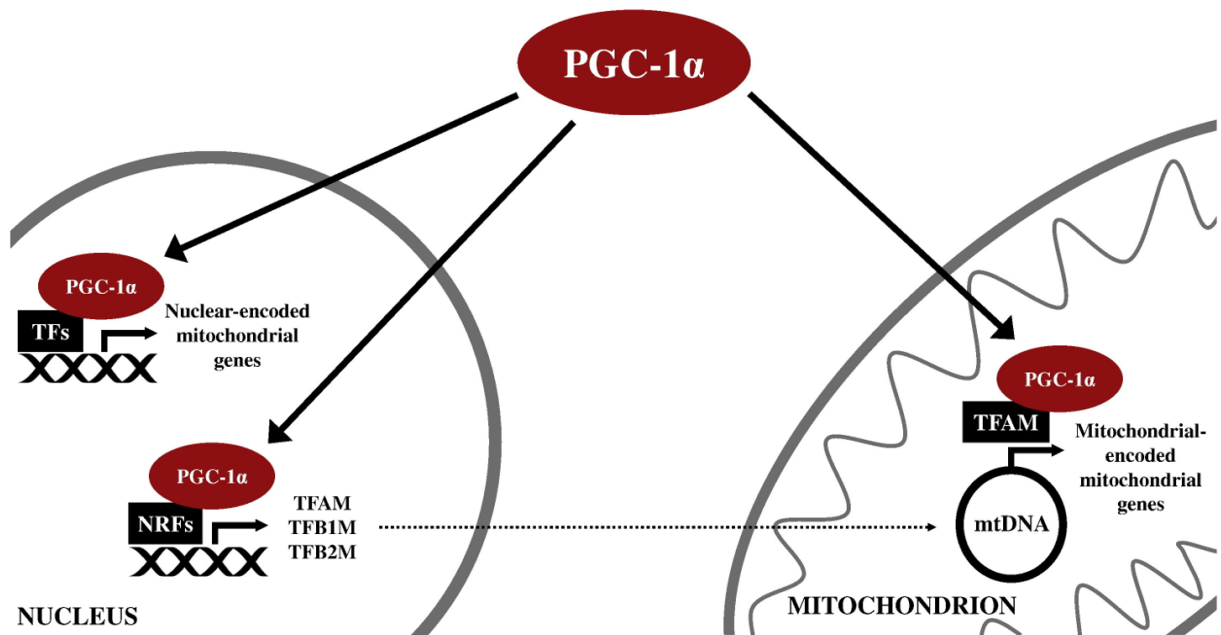


### 2.5.3. La dynamique mitochondriale

Le métabolisme énergétique des CEI est très dépendant de l'activité mitochondriale. Les mitochondries forment un réseau complexe de tubules interconnectés au sein de la cellule, dont la morphologie et la distribution sont étroitement régulées en fonction de l'état énergétique cellulaire et de son environnement (Scorrano 2013). Ce réseau mitochondrial est mobile, et en remaniement permanent (Cho et al. 2006). Le caractère dynamique de la MMI qui héberge la CTE a été mis en évidence dans les années 1960 par Hackenbrock sur un modèle de mitochondries isolées de foie de rat. Lorsque les mitochondries sont en présence d'ADP et de substrat, l'O<sub>2</sub>PHOS est optimale. Les mitochondries présentent alors de grandes crêtes. A l'inverse, lorsque le substrat devient limitant, la taille des crêtes mitochondriales diminue, supposant une production énergétique réduite (Hackenbrock 1966). Ces résultats attestent de la dynamique mitochondriale en fonction de l'état énergétique de la cellule.

#### 2.5.3.1. La biogénèse mitochondriale

Les régulateurs les plus connus de la biogénèse mitochondriale sont les coactivateurs « *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1* » (PGC1 $\alpha$ ). PGC1  $\alpha$  peut être activé par désacétylation (par la Sirtuine) et phosphorylation (par la protéine kinase AMP-dépendante AMPK et de la MAPK p38) (Quan et al. 2020). L'AMPK joue un rôle central en tant que senseur énergétique de la cellule. Cette sérine-thréonine kinase est en effet activée lorsque le ratio AMP/ATP est élevé, en raison d'une faible concentration en ATP (Foretz et al. 2006). Ces conditions correspondent à une cellule dépourvue de nutriments. L'AMPK phosphoryle PGC1 $\alpha$  pour l'activer. PGC-1 $\alpha$  se lie ensuite à des facteurs de transcription spécifiques tels que NRF-1 ou Estrogen-Related Receptor (*ERR*) impliqués dans la régulation de gènes mitochondriaux (Aquilano et al. 2010). Les NRF régulent l'expression des gènes nucléaires et mitochondriaux nécessaires à l'O<sub>2</sub>PHOS, tel que le facteur de transcription mitochondriale (TFAM) (Figure 13). Il se lie spécifiquement à l'ADN mitochondrial pour stimuler la transcription de gènes mitochondriaux et il permet aussi la réplication de l'ADN mitochondrial à l'aide d'autres protéines comme la polymérase  $\gamma$  (POLG) (Jornayvaz and Shulman, 2010; Kelly and Scarpulla, 2004; Lee and Wei, 2005; Popov, 2020). Les protéines mitochondriales provenant du génome nucléaire sont transportées dans la mitochondrie grâce à des translocases de la membrane mitochondriale externe (TOMM) et interne (TIMM) (Ventura-Clapier 2008).



**Figure 13 : La régulation de la biogenèse mitochondriale par la voie PGC-1 $\alpha$ -NRF1-TFAM.** L'activation de facteurs de transcription stimulant l'expression des gènes mitochondriaux encodés dans le noyau. Une augmentation de la régulation de TFAM, par le biais des NRFs. La stimulation de la transcription et de la réplication de l'ADN mitochondrial via TFAM. (Islam, Edgett, et Gurd 2018)

### 2.5.3.2. La fusion et fission mitochondriale

La dynamique mitochondriale englobe les mécanismes de fusion et de fission de la mitochondrie. Elle est finement régulée par des protéines qui permettent une modulation du nombre de mitochondries, de leur taille et leur position dans la cellule. Les phénomènes de fusion/fission sont liés au métabolisme. Ils sont modulés par les changements intervenant au niveau de l'O<sub>2</sub>PHOS et inversement (Benard et al., 2007). Les phénomènes de fusion/fission interviennent lors des phases de synthèse intense, pour coordonner la production d'ATP et permettre la production de quantité supérieure d'énergie (Rambold et al., 2011 ; Lackner 2014).

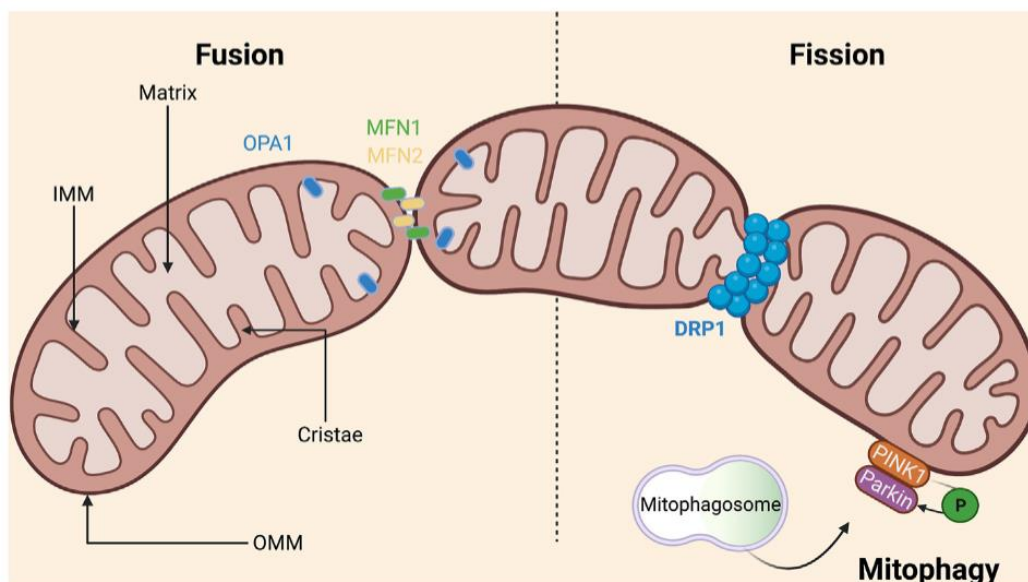
La fusion de deux mitochondries est catalysée par les protéines de fusion que sont les mitofusines 1 et 2 (MFN1/2) ainsi que la protéine optic atrophy 1 (OPA1). Les MFN sont des GTPases transmembranaires localisées au niveau de la MME. Elles fonctionnent par hydrolyse de GTP et forment des hétérodimères de MFN permettant ainsi un lien entre deux MME de deux mitochondries différentes. Les MFN fonctionnent en coordination avec OPA1 qui est également une GTPase de la famille des dynamines. OPA1 assure la fusion de la membrane interne des mitochondries (Figure 14) (van der Bliek, Shen, et Kawajiri 2013).

La fission mitochondriale produit des mitochondries plus petites à partir d'une plus grande. Elle est orchestrée par les protéines *Dynamamin-Related Protein 1* (DRP1) et par la protéine de fission 1 (FIS1). FIS1 est présente dans la MME, elle permet le recrutement de DRP1. DRP1 se multimérise et forme une structure en anneau pour procéder à la fission (Figure 14). Une fois la fission mitochondriale terminée, la mitochondrie saine réintègre le réseau tubulaire, tandis que l'autre partie de la mitochondrie altérée est isolée pour être dégradée (van der Blik et al. 2013).

D'autres facteurs peuvent également jouer un rôle dans cette régulation de la dynamique mitochondriale. C'est notamment le cas du potentiel de membrane mitochondrial  $\Delta\psi$  qui inactive la fusion en cas de réduction du flux ou au contraire l'active en cas de restauration du flux (Legros et al., 2002).

### 2.5.3.3. La mitophagie

Les mitochondries endommagées sont caractérisées par l'accumulation de protéines kinase PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1) sur la MME. Elles vont activer la protéine ubiquitine ligase E3 RBR cytosolique (Parkin) par phosphorylation. L'activation de la Parkin permet le recrutement de la machinerie des mitophagosomes (Figure 14). Le phagosome fusionne avec un lysosome et procède à la dégradation des mitochondries par l'intermédiaire des protéases et lipases lysosomales pour finalement éliminer les mitochondries endommagées par mitophagie (Kurihara et al. 2012).



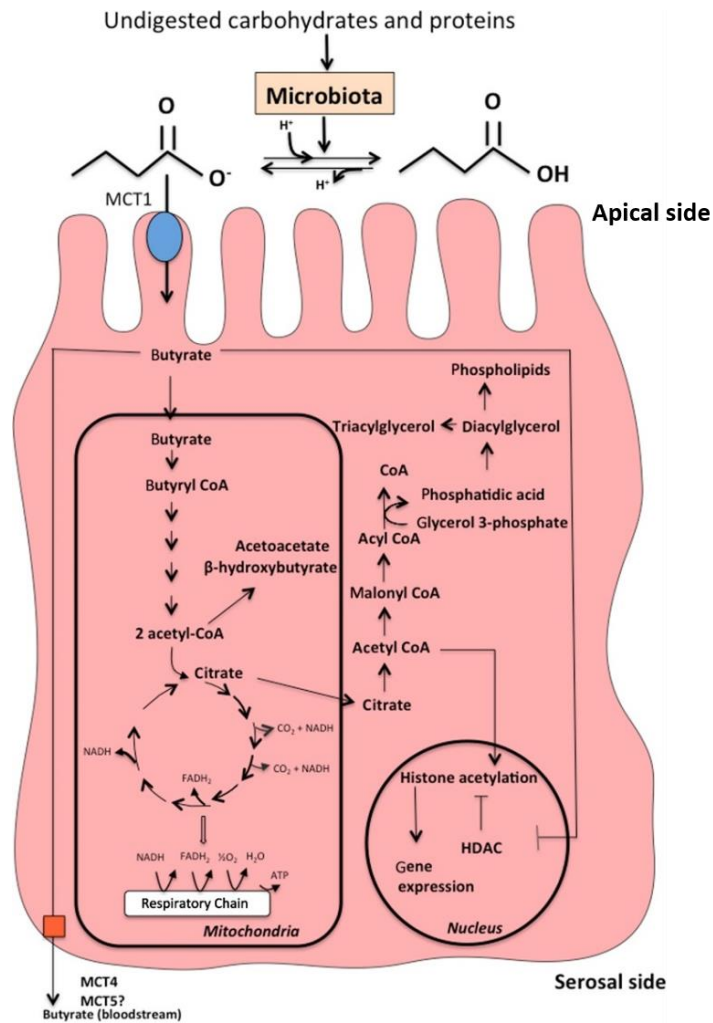
**Figure 14. Mécanismes de la fusion, la fission et la mitophagie.** La fusion mitochondriale implique la liaison entre les protéines MFN 1 et 2 de la MME entre deux mitochondries. La fusion se finalise ensuite grâce à l'implication des protéines OPA1 présente dans la MME. La fission mitochondriale est réalisée par le recrutement et l'activation des protéines DRP1. Ensemble, elles vont former un anneau concentrique pour scinder la

*mitochondrie en deux. La partie endommagée de la mitochondrie scindée est adressée au mitophagosome par l'ubiquitinylation des protéines Parkin, processus activé par la phosphorylation initiée par PINK1. D'après (Guerbette, Boudry, et Lan 2022)*

#### 2.5.4. Substrats énergétiques des CEI

Il a précédemment été décrit que les cryptes coliques présentent une architecture particulière avec une localisation spécifique des types cellulaires. En fonction de la position des cellules au sein de la crypte, la disponibilité en substrat varie (W E Roediger 1980; Litvak, Byndloss, et Bäumlér 2018). Les substrats énergétiques qui alimentent les CSI sont situés de la voie systémique et sont le glucose, l'aspartate, la glutamine et le glutamate. Les cellules au phénotype différencié (colonocyte et cellule caliciforme) situées dans la partie haute des cryptes sont en contact avec la lumière intestinale. De ce fait, les AGCC - principalement le butyrate - issus du métabolisme des fibres par le microbiote dans la lumière intestinale alimentent les cellules différenciées. En cas de déprivation en butyrate, les CEI ont la capacité d'utiliser d'autres substrats.

Les AGCC proviennent du catabolisme des acides aminés et de la fermentation bactérienne des fibres alimentaires par le microbiote intestinal. Les AGCC les plus abondants dans le côlon comprennent l'acétate (60%), le propionate (25%), et le butyrate (15%). La concentration luminale de ces AGCC évolue de façon décroissante du côlon ascendant (environ 130 mmol/kg de contenu luminal) vers le côlon descendant (environ 86 mmol/kg de contenu luminal) (Cummings et al. 1987). Cette concentration est dépendante du régime alimentaire et propre à la composition du microbiote de chaque individu et de leur état de santé. Le butyrate est le substrat oxydatif préférentiel des colonocytes en constituant 70% de leur apport énergétique *via* la  $\beta$ -oxydation mitochondriale (W. E. Roediger 1980). Le butyrate présent dans la lumière intestinale entre dans le colonocyte *via* MCT1 puis est adressé à la matrice mitochondriale où il est  $\beta$ -oxydé (Figure 15). Son oxydation conduit à la production d'acétyl-CoA. Le butyrate joue aussi un rôle en tant qu'inhibiteur des histones désacétylases en entraînant le blocage de la prolifération des CSI. Cependant, l'oxydation du butyrate par les colonocytes protège de cet effet néfaste du butyrate sur les CSI (Donohoe et al. 2011).

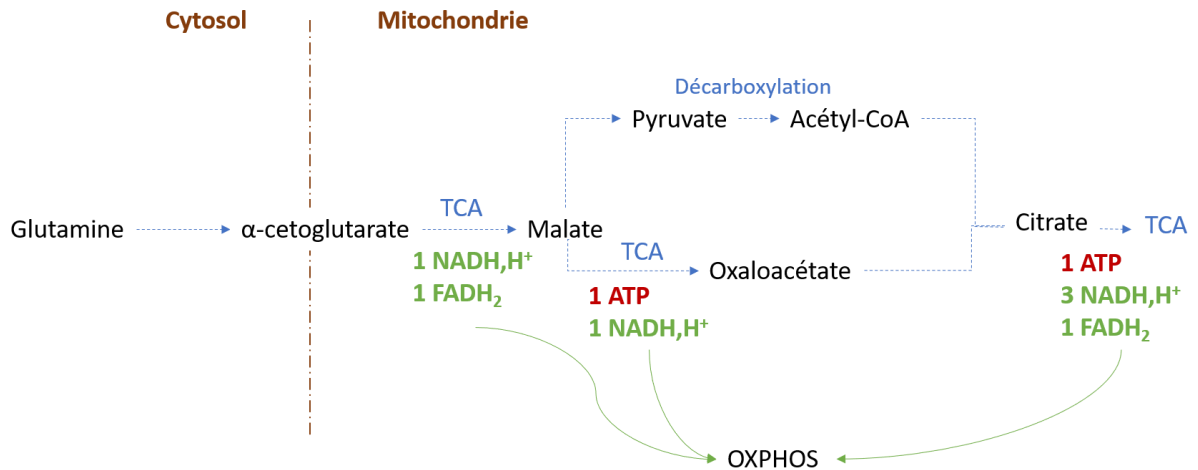


**Figure 15. Métabolisme du butyrate dans les mitochondries des colonocytes.** Le butyrate est produit par fermentation bactérienne par le microbiote présent dans la lumière intestinale et entre dans le colonocyte via son transporteur monocarboxylate isoforme (MCT1). Il entre ensuite dans la matrice mitochondriale pour être oxydé via la  $\beta$ -oxydation. (Blachier et al. 2017)

En fonction des besoins et apports luminaux, les CEI peuvent utiliser le D-glucose, l'acétoacétate, la glutamine, le glutamate et l'aspartate apportés par la circulation sanguine comme substrats énergétiques (Blachier et al. 2017). Le catabolisme du glucose débute dans le cytosol par la glycolyse, conduisant à la formation du pyruvate. Ce pyruvate sera ensuite adressé à la mitochondrie, traverse la MME par les porines puis la MMI par la pompe  $H^+$ /pyruvate. Une fois dans la matrice, le pyruvate est converti en acétyl-CoA pour entrer dans le TCA. L'OXPPOS est ensuite alimenté par les coenzymes réduits issus du TCA, permettant ainsi son fonctionnement et la production d'ATP. Ces voies métaboliques permettent de produire entre 30 et 36 molécules d'ATP.

Concernant les acides aminés, le glutamate est désaminé avec de l'oxaloacétate pour former de l' $\alpha$ -cétoglutarate et de l'aspartate. Ces deux produits peuvent directement rentrer

dans le TCA afin de fournir les cofacteurs qui alimentent l'OXPHOS permettant la production d'ATP (Figure 16 et Tableau 5).



**Figure 16. Oxydation de la glutamine par les CEI.** Une molécule de glutamine est convertie en  $\alpha$ -cétoglutarate et pour ensuite intégrer le TCA dans la matrice mitochondriale. Il va être converti en malate par le TCA et fournir des cofacteurs 1  $\text{NADH,H}^+$  et un  $\text{FADH}_2$ . Le flux d'oxydation de la glutamine est ensuite doublé à cette étape car une molécule de malate rejoint le TCA pour produire de l'oxaloacétate, tandis que l'autre molécule de malate est convertie en pyruvate. Le passage du malate à l'oxaloacétate produit 1 ATP et 1  $\text{NADH,H}^+$ , alors que le pyruvate produit à partir de l'autre molécule de malate est décarboxylé en acétyl-CoA. Ces deux molécules vont ensuite produire du citrate qui intègre à son tour le TCA pour fournir 1 ATP, 3  $\text{NADH,H}^+$  et 1  $\text{FADH}_2$ . Les coenzymes produits sont ensuite oxydés dans la CTE par l'OXPHOS. Le bilan énergétique de l'oxydation de la glutamine est de 24 molécules d'ATP. (Schéma réalisé sur powerpoint)

**Tableau 5. Bilan de l'oxydation de la glutamine/glutamate.**

Voie métabolique	ATP formés au cours de la réaction	Cofacteurs formés	ATP formés par l'oxydation des cofacteurs
TCA à partir de l' $\alpha$ -cétoglutarate jusqu'au malate	1 ATP	1 $\text{FADH}_2$ 1 $\text{NADH,H}^+$	2 ATP 3 ATP
TCA du malate à l'oxaloacétate		1 $\text{NADH,H}^+$	3 ATP
Pyruvate $\rightarrow$ Acétyl-CoA		3 $\text{NADH,H}^+$	3 ATP

<b>TCA du citrate</b>	1 ATP	3 NADH,H <sup>+</sup> 1 FADH <sub>2</sub>	3x3 ATP 2 ATP
<b>Bilan partiel</b>	2 ATP		22 ATP
<b>Bilan total</b>	<b>24 ATP</b> pour 1 molécule de Glutamine /Glutamate		

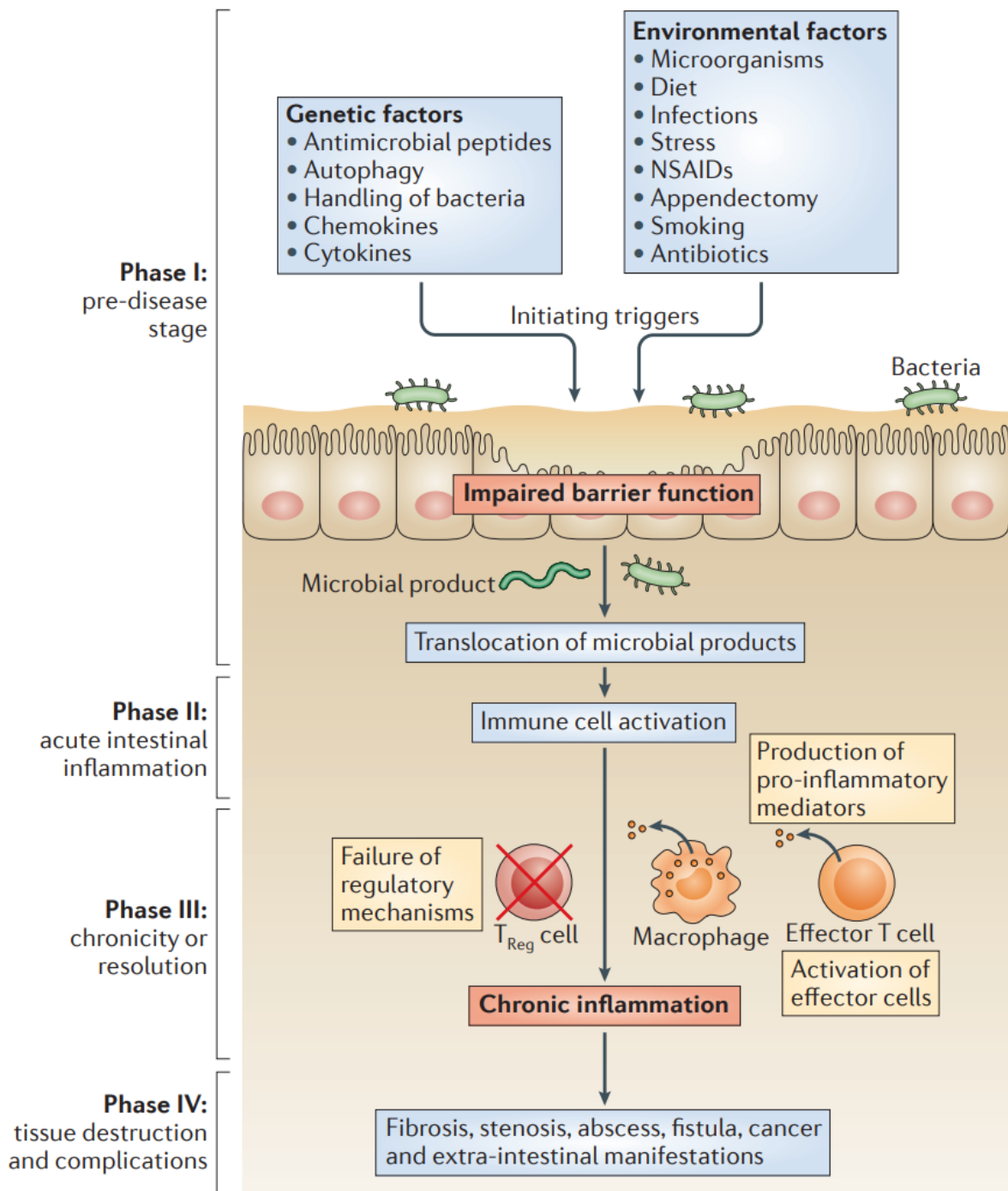
## 3. Physiopathologie de la RCH

### 3.1. Généralités

L'origine de la maladie reste en partie méconnue, multifactorielle, faisant intervenir une susceptibilité génétique et une dysfonction du système immunitaire en lien avec des modifications du microbiote et des facteurs environnementaux (Figure 17).

La physiopathologie de la RCH reste toujours partiellement incomprise, en particulier l'origine de l'inflammation et l'altération de la fonction de barrière de la muqueuse colique. A ce jour, qu'il s'agisse de l'inflammation ou du dysfonctionnement de la barrière, l'ordre des événements aboutissant à la RCH n'est pas clairement identifié (Ordás et al. 2012). L'augmentation de la perméabilité de l'épithélium s'accompagne d'une diminution de la production de mucus, d'altération du microbiote et ainsi que d'une augmentation du contact avec les antigènes présents dans la lumière intestinale. Ces perturbations entraînent l'activation des cellules immunitaires présentes dans la *lamina propria*, notamment par la production de cytokines pro-inflammatoires qui viennent entretenir l'inflammation et participent à la dérégulation de la fonction de barrière (Figure 17) (Fakhoury et al. 2014; Khalili et al. 2018).





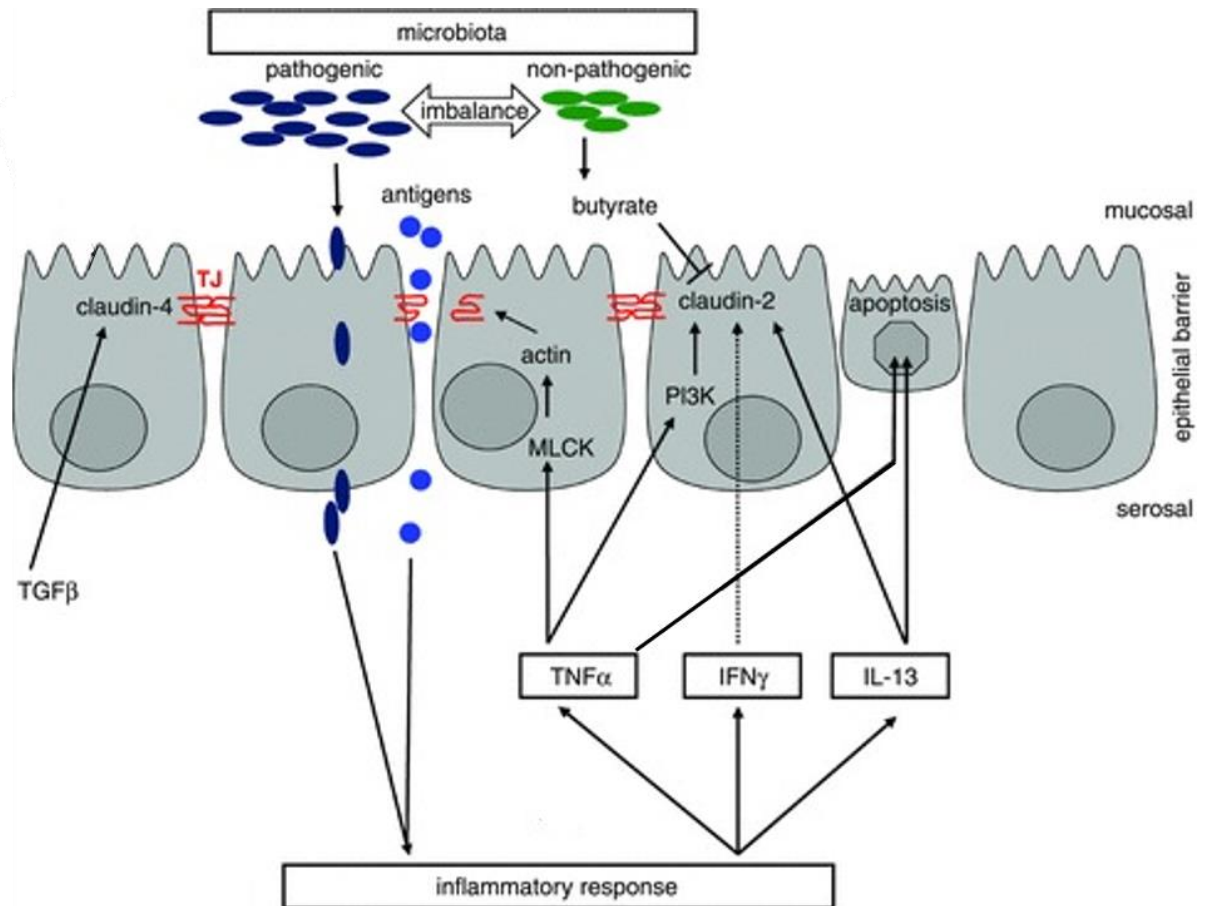
**Figure 17. Séquence des événements physiopathologiques impliqués dans la RCH.** L'altération de la fonction de barrière par des facteurs génétiques et environnementaux entraîne le passage de bactéries commensales provoquant une réaction immunitaire pro-inflammatoire, qui devient chronique. A son tour, l'inflammation chronique peut entraîner une altération de l'épithélium intestinal et de la fonction de barrière (Neurath 2014).

### 3.2. Altération de la barrière intestinale

L'ampleur de la perméabilité est dépendante de l'état de la maladie (D'incà et al. 2006). Ces altérations sont notamment dues à une diminution des mécanismes de défense innée non-spécifique du fait d'une réduction du nombre de cellules caliciformes chez les patients RCH (Kmieć, Cyman, et Ślebioda 2017). Plusieurs études ont montré une augmentation de la perméabilité intestinale à l'aide de différents tests (mesure sérique de zonuline ou *sugar assay*) : la mesure de l'excrétion des sucres par exemple (ratio lactulose/mannitol) dans les urines chez les patients RCH phase sévère est plus élevé que lorsqu'ils sont en phase inactive de leur maladie (van Wijck et al. 2013; Vojdani, Vojdani, et Kharrazian 2017). L'entretien de l'inflammation participe à l'altération de la fonction de barrière (Figure 18) (Wegh et al. 2019). Les cytokines pro-inflammatoires affectent les jonctions serrées, en dérégulant leur expression et en affectant leur distribution (Hering, Fromm, et Schulzke 2012). De plus, l'augmentation de perméabilité intestinale entraîne le passage d'antigènes présents dans la lumière intestinale (microbiote et antigènes alimentaires), déclenchant de façon excessive la réponse des cellules immunitaires situées dans la *lamina propria*. La synthèse d'anticorps dirigés contre son propre microbiote est observée chez 2 patients sur 3. Une étude sur des patients RCH a montré que 80% des bactéries de leur propre microbiote sont reconnues et opsonisées par leurs anticorps, contre 10% chez les individus sains (Castro-Dopico et al. 2019).

### 3.3. Microbiote et rectocolite hémorragique

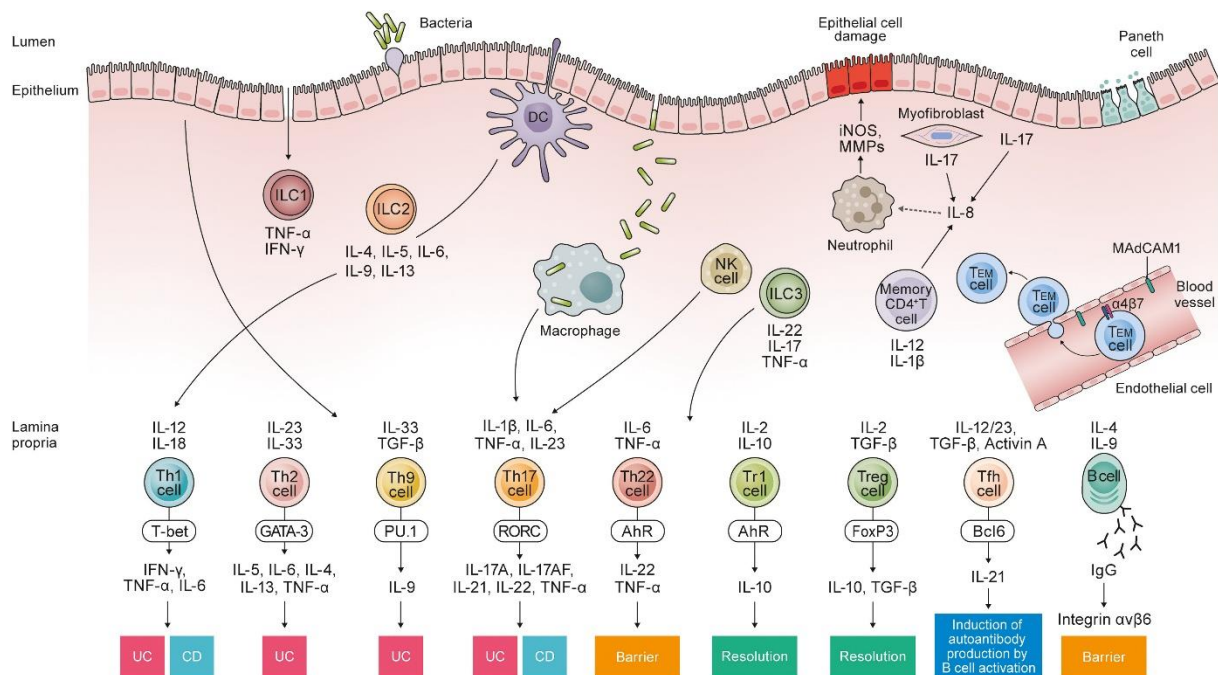
La couche de mucus qui héberge le microbiote intestinal est réduite et entraîne une dysbiose (Kałużna, Olczyk, et Komosińska-Vassev 2022). La composition du microbiote intestinal présente des différences marquées chez les patients souffrant de RCH par rapport à des individus en bonne santé. La RCH est associée à une réduction de la quantité de bactéries commensales et à une moindre présence de bactéries productrices de butyrate en particulier (Machiels et al. 2014). Au contraire, la RCH est associée à une augmentation de l'adhérence et l'invasion de certaines souches d'*E. coli*, de *C. difficile* ainsi que des producteurs de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), dont une concentration élevée peut avoir des effets délétères sur le métabolisme cellulaire (Blachier, Beaumont, et Kim 2019). L'abondance des métabolites bactériens bénéfiques pour l'intestin est réduite puisqu'une diminution de l'occurrence des genres *Lachnospiraceae* et *Ruminococcaceae* est observée, tandis que *Pseudomonadota* et *Actinomycetota* sont augmentés (Sultan et al. 2021). L'intégrité de la perméabilité intestinale est également atteinte.



**Figure 18. Dysfonctionnement de la fonction de barrière de l'épithélium intestinal et réponse inflammatoire associée.** L'altération des jonctions serrées (TJ) permet le passage d'antigènes présents dans la lumière intestinale entre les CEI. Cette infiltration provoque une réponse immunitaire via la production de cytokines pro-inflammatoires ( $TNF\alpha$ ,  $IFN\gamma$  et  $IL-13$ ). Cette réaction inflammatoire peut à son tour stimuler l'apoptose des CEI et altérer l'expression d'autres protéines de jonction comme la claudine par exemple et participer ainsi au dysfonctionnement de la fonction de barrière de l'épithélium intestinal. (Hering et al. 2012)

### 3.4. L'inflammation

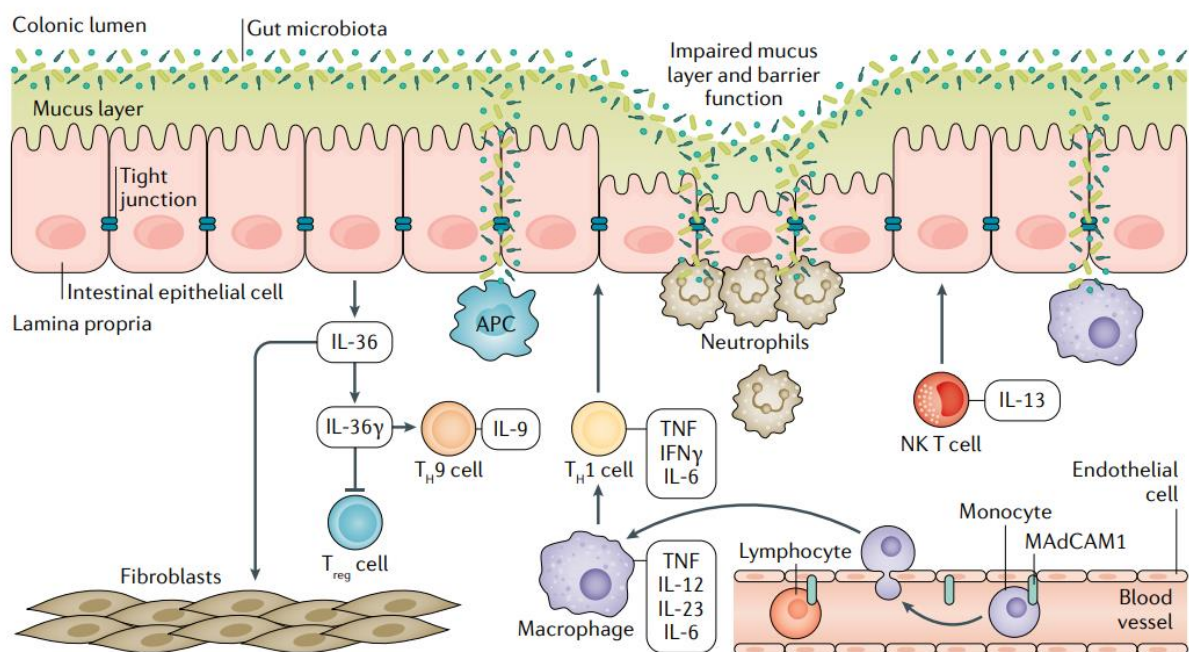
Le processus inflammatoire dans la RCH est complexe et fait intervenir de nombreux acteurs (Figure 19). Lorsqu'un antigène passe la barrière épithéliale, il va être pris en charge par les cellules dendritiques qui vont ensuite les présenter aux lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes T naïfs se différencient ensuite en lymphocytes T auxiliaires effecteurs et produisent des cytokines qui polarisent la réponse immunitaire vers le phénotype adéquat au stimulus inducteur. En revanche, leur fonctionnement est anormal dans la RCH et ils produisent des cytokines pro-inflammatoires en trop grande quantité (Figure 19). Leur accumulation dans le côlon contribue au maintien de l'inflammation et accentue les lésions de l'épithélium intestinal (Saez et al. 2023).



**Figure 19. Cellules immunitaires et cytokines contribuant à la pathologie de la RCH.** Les cellules T naïves se différencient en sous-types de cellules T auxiliaires qui produisent des cytokines pro- ou anti-inflammatoires. Dans la lamina propria, les cellules Th17 produisant de l'IL-17, des cellules Th9 produisant de l'IL-9 et des cellules Th2 produisant de l'IL-13, qui sont fréquemment retrouvés dans la RCH. Th1 est également impliquée dans la réaction inflammatoire de la RCH. Trois groupes de cellules lymphoïdes innées (ILC1, ILC2 et ILC3) adjacentes à la paroi de l'épithélium sécrètent des cytokines effectrices et régulent la pathologie de la RCH. L'IL-8 incite les neutrophiles à migrer et à infiltrer les intestins (Nakase et al. 2022).

Le modèle expérimental de colite induite par le Dextran Sulfate de Sodium (DSS) permet de reproduire la phase inflammatoire aiguë de la RCH chez des individus sains, à la perte de la barrière protectrice formée par les couches de mucus, en réponse à la diminution des cellules caliciformes (Figure 20). L'une des caractéristiques de la muqueuse des patients RCH en phase inflammatoire aiguë est la perte d'architecture des cryptes due à la présence d'abcès formé par l'infiltration des cellules immunitaires. En particulier, la chimiokine 8 (IL8) présente un fort pouvoir chimiotactique pour les neutrophiles. Un lien entre l'expression génique d'IL8 présente dans la muqueuse des patients RCH et leur atteinte endoscopique et histologique a été établi (Okada et al. 2020). En effet, les concentrations dans la muqueuse d'IL8 ainsi que  $\beta$  de la cytokine pro-inflammatoire IL1 $\beta$  sont plus élevées chez les patients RCH que chez des personnes saines (Yamamoto et al. 2006). Cependant, leurs niveaux d'expression sont variables selon le stade de la maladie (Nakase et al. 2022).

Une augmentation significative du nombre des neutrophiles dans la muqueuse des patients atteints de RCH par rapport à une muqueuse saine. Plus précisément, les neutrophiles étaient présents 50 fois plus abondamment dans la muqueuse des patients atteints de RCH par rapport aux individus témoins. Il a de plus été montré que la colite induite entraîne une augmentation de la production de neutrophil extracellular traps (NET). L'accumulation de ces NET contribue également à entretenir l'inflammation en stimulant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF $\alpha$  et l'IL1 $\beta$ . En inhibant la production de NET, Maronek *et al.* ont montré que l'inflammation induite par la colite était réduite, ainsi que les niveaux plasmatiques de TNF $\alpha$  et d'IL1 $\beta$  (Maronek *et al.*, 2021). De plus, le nombre d'autres cellules immunes est également augmenté comme en témoigne l'augmentation de l'expression génique de marqueur de lymphocytes T CD4+, de cellules dendritiques et de macrophages (Penrose *et al.*, 2021).



**Figure 20. Physiopathologie de la RCH.** La perte de jonctions serrées observée dans la RCH permet aux bactéries et aux antigènes alimentaires de traverser la barrière intestinale et conduit à l'activation des cellules présentatrices d'antigènes entraînant une réponse immunitaire accrue. L'activation des cellules immunitaires entraîne la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, tel que le TNF $\alpha$  et l'interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ce qui augmente la perméabilité de la barrière intestinale et favorise ainsi l'inflammation de la muqueuse intestinale (Kobayashi *et al.* 2020).

Une association étroite entre l'inflammation et l'hypoxie au niveau tissulaire dans la colite est évoqué dans plusieurs études aussi bien chez l'Homme que dans des modèles animaux,

suggérant l'importance de l'hypoxie colique dans le processus pathologique (Goggins et al. 2013; Flück et Fandrey 2016; Gamah et al. s. d.; Van Welden, Selfridge, et Hindryckx 2017).

### 3.5. L'hypoxie

Une des caractéristiques du processus inflammatoire dans les tissus est l'hypoxie. Cette réponse hypoxique en condition d'inflammation est à distinguer de l'hypoxie physiologique. Les origines de cette hypoxie pathologique peuvent être variées et ne demeurent que partiellement comprises. Dans le contexte de la RCH, la diminution d'O<sub>2</sub> dans le tissu colique inflammé induit la stabilisation de HIF qui participe au maintien de cette hypoxie. L'activation permanente de HIF participe à l'entretien de la phase inflammatoire (Dvornikova, Platonova, et Bystrova 2023).

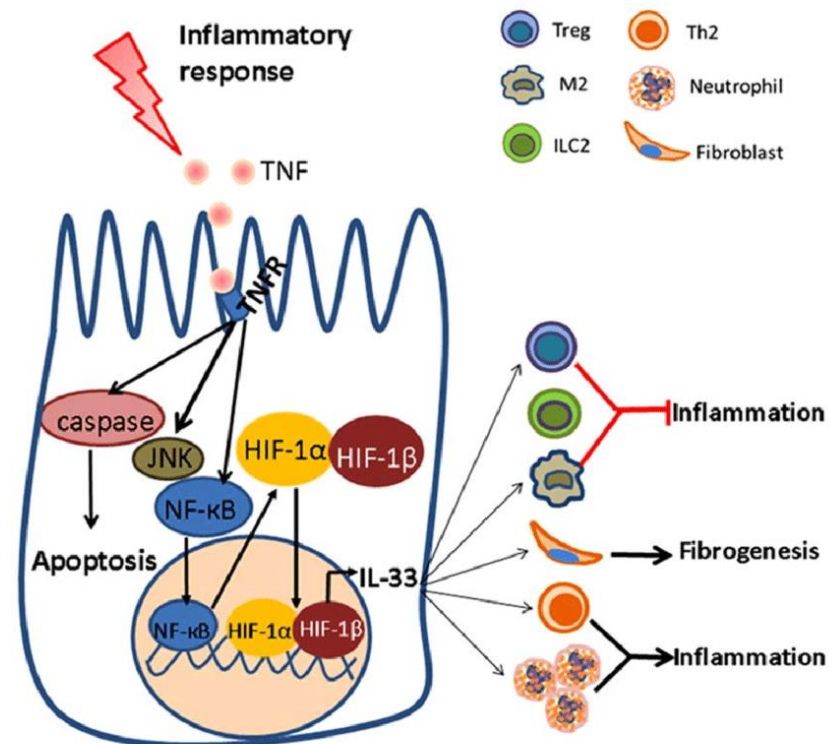
L'hypoxie peut découler d'un dysfonctionnement vasculaire et d'une augmentation de la demande en O<sub>2</sub> des cellules immunitaires infiltrantes, notamment les neutrophiles, en raison d'une activité élevée de la NADPH oxydase, outre un environnement hypoxique, HIF-1 $\alpha$  peut être activé par une activation de mTOR, la production d'espèce réactive de l'oxygène (ERO) consécutive à une dysfonction mitochondriale ou encore une augmentation de monoxyde d'azote (NO) (Semenza 2017; Colgan, Furuta, et Taylor 2020).

Les HIFs modèrent les populations lymphocytaires de la *lamina propria*. Il a été montré que HIF-1 $\alpha$  favorise la polarisation des lymphocytes Th17 (Barbi, Pardoll, et Pan 2013), qui jouent comme les lymphocytes Th1 un rôle clé dans l'inflammation de la RCH en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-17, l'IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$ . HIF-1 $\alpha$  altère aussi le développement des Tregs *via* la suppression de FoxP3 et, participe à la perte de contrôle de la réponse immunitaire (Kerber et al. 2020).

Plusieurs études ont confirmé le rôle pro-inflammatoire de HIF-2 $\alpha$  dans la RCH. HIF-2 $\alpha$  favorise l'activation des neutrophiles et leur recrutement en augmentant l'expression des chimiokines et de leurs récepteurs tels que IL8, CXCR2, CXCR3 et CCR5 (Wobben et al. 2013), contribuant ainsi à la formation d'un environnement inflammatoire dans le côlon (Triner et al. 2017; Kerber et al. 2020). La production accrue de NO par les neutrophiles entraîne une activité excessive de HIF-2 $\alpha$  (Zhao et al. 2018).

En parallèle, l'hypoxie induit une augmentation de l'activité du facteur de transcription NF- $\kappa$ B, ce qui stimule la réponse inflammatoire (Figure 21) (Scholz et al. 2013). De ce fait, l'inflammation et l'hypoxie s'entretiennent mutuellement. Cette hypoxie accrue a été mise en évidence chez les patients RCH en phase de poussée par l'augmentation de l'expression génique de HIF-2 $\alpha$  (Giatromanolaki et al. 2003; Brown et Taylor 2018). De plus, la

surexpression de HIF-2 $\alpha$  provoque une colite spontanée chez les souris et une augmentation de la sévérité de la colite induite dans un modèle de souris traités au DSS (Xue et al. 2013). L'inactivation de HIF-2 $\alpha$  dans les neutrophiles de souris a entraîné une augmentation de leur apoptose, réduisant ainsi l'inflammation et les dommages tissulaires. Ces résultats suggèrent que HIF-2 $\alpha$  joue un rôle spécifique dans le maintien de l'inflammation des neutrophiles et suggèrent que l'inhibition de HIF-2 $\alpha$  pourrait être une stratégie thérapeutique dans les MICI (Thompson et al. 2014).



**Figure 21. Induction de HIF-1 en réponse à un stress inflammatoire dans l'épithélium intestinal.** L'induction d'un stress inflammatoire par le TNF active l'expression de HIF, favorisant l'expression de l'IL-33 dans les CEI. IL-33 renforce ensuite la réaction inflammatoire par le recrutement des neutrophiles. (Sun et al. 2017)

Les ERO produits par la mitochondrie participent aussi à l'activation de HIF. En parallèle, l'hypoxie augmente aussi la génération d'ERO, particulièrement *via* le complexe III de la chaîne respiratoire mitochondriale (Gonzalez, Xie, et Jiang 2018). Par conséquent, une dysfonction de la chaîne respiratoire mitochondriale exacerbe la production d'ERO et donc le maintien de l'hypoxie par la stabilisation des HIF. Cependant, les mécanismes associés à la stabilisation de HIF-1 $\alpha$  par les ERO mitochondriaux restent inconnus. De plus, cette condition hypoxique empêcherait la production d'une grande quantité d'ATP par l'OXPHOS mitochondriale (Brown 1992).

L'hypoxie participe également à l'altération de la fonction de barrière de l'épithélium *via* l'action directe de HIF sur la régulation des jonctions serrées. En particulier, HIF module négativement la transcription de la claudine-1 (CLDN1), de l'*Intestinal Trefoil Factor 3* (ITF3) ou encore de Muc2 (Saeedi et al. 2015). Cependant, HIF-1 $\alpha$  régule également l'expression de gènes intervenant dans la cicatrisation comme VEGF1 $\alpha$  ou l'angiopoïétine (Goggins et al. 2013).

L'hypoxie intervient aussi dans le métabolisme des CEI, en augmentant le taux de glycolyse pour compenser la diminution de production d'ATP liée à l'O<sub>2</sub>PHOS. En effet, HIF-1 $\alpha$  régule positivement la transcription des gènes codant pour les transporteurs du glucose et les enzymes de la glycolyse tels que le transporteur du glucose 1 (GLUT1), l'aldolase A (ALDA), la phosphoglycérate kinase 1 (PGK1) et la pyruvate kinase M (Zhao et al. 2018).

### **3.6. Dysfonction mitochondriale dans la rectocolite hémorragique**

#### *3.6.1. Altération morphologique*

Des modifications morphologiques des mitochondries ont été signalées dans plusieurs études animales de colite chimio-induite par le DSS. Dans une étude, les CEI des souris présentaient des mitochondries gonflées et avec une architecture des crêtes perturbées (Ahmad et al. 2000). Cunningham *et al.* ont également montré une altération de la structure mitochondriale, notamment de la MMI, une obstruction des crêtes et une accumulation de vésicules intra-mitochondriales lors de l'exposition au DSS (Cunningham et al. 2016). Des altérations mitochondriales similaires telles qu'un gonflement avec rupture des crêtes ont été observées chez des patients atteints d'une RCH inactive (Farhadi et al. 2005). De plus, une étude a montré que l'altération pathologique de l'ultrastructure mitochondriale précédait les changements globaux des cryptes dans la muqueuse de patient RCH (Farhadi et al. 2005; Hsieh et al. 2006). Ces modifications ont été considérées comme un signe précoce de dommages mitochondriaux. Des changements morphologiques mitochondriaux ont également été rapportés dans l'épithélium intestinal de patients atteints de RCH active, dans lequel des mitochondries dilatées ont été observées (Fratila et Craciun 2010). Ces observations de changements morphologiques, tant dans le modèle animal que chez les patients atteints de RCH, suggèrent une altération de la fonction mitochondriale dans la RCH.

#### *3.6.2. Utilisation des substrats oxydatifs*

Les AGCC produits par le métabolisme du microbiote sont importants dans le maintien de l'homéostasie intestinale (Kelly et al. 2015). Le butyrate est le substrat énergétique préférentiel du colonocyte en situation physiologique. Au début des années 1980, Roediger *et al.* ont



montré que les colonocytes de patients atteints de RCH présentaient une altération de l'oxydation du butyrate. Ils décrivent la RCH comme une pathologie déficiente en énergie où l'oxydation du butyrate en CO<sub>2</sub> est significativement plus faible dans les colonocytes isolés des patients RCH que chez les témoins (W. E. Roediger 1980). Ces données ont été confirmées dans des études plus récentes (W E Roediger 1980; Preter et al. 2011; Moriggi et al. 2017). L'activité de  $\beta$ -oxydation des mitochondries est importante pour maintenir l'homéostasie énergétique. Or, une diminution de l'activité de l'acétoacétyl CoA thiolase qui intervient dans la dernière étape de la  $\beta$ -oxydation (permet la libération de l'acetyl-CoA) a été observée dans la muqueuse des patients RCH (Santhanam et al. 2012). Par conséquent la réduction de son activité contribue au blocage de cette voie (Babidge, Millard, et Roediger 1998; Moriggi et al. 2017).

Un système compensatoire avec une augmentation de la glycolyse a été observée en réponse au déficit d'oxydation du butyrate chez les patients atteints de la RCH (W E Roediger 1980). Une diminution de l'expression génique et protéique de SLC16A1, permettant le transport du butyrate dans la mitochondrie a été observée. Ces résultats expliqueraient le déficit d'oxydation du butyrate dans la RCH (Thibault et al. 2007; De Preter et al. 2012). De plus, un niveau réduit d'AGCC présent dans l'épithélium intestinal des patients atteints de RCH a été mesuré (Magnusson, Isaksson, et Öhman 2020). Finnie *et al.* ont réalisé une mesure du catabolisme du butyrate et de la glutamine dans des biopsies coliques de patients RCH en comparaison à des biopsies de patients sains. Aucune différence concernant l'oxydation du butyrate n'a été mise en évidence. En revanche, une augmentation de la glutaminolyse et de la glycolyse a été soulignée (Finnie et al. 1993). Un système compensatoire avec une augmentation de la glycolyse semble être mis en place, tel que cela a été observée en réponse au déficit de l'oxydation du butyrate chez les patients atteints de la RCH (W E Roediger 1980). La disponibilité et l'utilisation des substrats par les CEI sont encore mal connues dans la RCH. Un apport adéquat en substrat oxydatif et la capacité de les utiliser par les CEI sont essentiels pour le maintien de l'homéostasie de l'épithélium intestinal. Cela pourrait être une stratégie thérapeutique prometteuse pour contribuer à la réparation épithéliale de la RCH (Lan et al. 2023).

### 3.6.3. Chaîne respiratoire mitochondriale

Compte tenu des altérations rapportées (altérations morphologiques et modulation de la capacité à oxyder les substrats énergétiques classiques), plusieurs auteurs ont étudié le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale et la production d'ATP *via* l'ATP synthase. Plusieurs modèles murins de colite expérimentale ont montré une réduction à la fois de l'expression génique, de l'expression protéique, et de l'activité de certains complexes de la

CTE en cas de colite induite. Ainsi, Cunningham *et al.* ont montré une diminution de l'activité de la CTE dans le tissu colique de souris DSS, avec une baisse significative de l'activité enzymatique des complexes I et IV après 7 jours d'exposition au DSS (Cunningham *et al.* 2016). Une autre étude complète cette observation en montrant une diminution de l'expression protéique de 3 sous unités (SDHA et SDHB) de la succinate déshydrogénase (complexe II), de 3 sous unités (UCRI, CY1 et QCR2) de la cytochrome c réductase (complexe III) et de 3 sous unités (COX41, CX6B1, CX7A1) de la cytochrome c oxydase (complexe IV), ainsi que les composants de la NADH déshydrogénase et l'ATPase synthase (ATPA et ATP0) dans la muqueuse de rats traités au DSS (McQueen *et al.* 2019). En dépit de la réduction de l'expression protéique des sous-unités du complexe II, son activité enzymatique n'a pas été altérée dans un modèle de rat DSS (Damiani *et al.* 2007).

Une réduction de l'activité des complexes de la CTE a également été observée dans des biopsies de muqueuse de patients atteints de RCH, avec une réduction de l'activité des complexes II, III et IV, tandis que l'activité du complexe I était inchangée (Sifroni *et al.* 2010; Santhanam *et al.* 2012). D'autres études ont confirmé ces résultats, avec des réductions d'activité des complexes II, III et IV pouvant aller jusqu'à 60% chez les patients atteints de RCH (Rosa *et al.* 2016; McQueen *et al.* 2019; Pascual-Itoiz *et al.* 2020). En revanche, Habermann *et al.* montrent une activité réduite du complexe I dans les biopsies rectales de patient RCH par rapport à celles de patients témoins, mais aucune réduction significative pour le complexe II, comme dans les études animales. Dans cette étude, les auteurs mettent également en évidence une réduction du potentiel membranaire mitochondriale des cellules épithéliales coliques chez les patients RCH, ce qui induirait une réduction de la capacité à produire de l'ATP et une éventuelle augmentation de la fuite de protons (Haberman *et al.* 2019). Santhanam *et al.* ont montré une réduction de l'activité du complexe II aussi bien dans les muqueuses en phase inflammatoire que non inflammatoire de patients RCH, interrogeant ainsi sur le rôle de l'inflammation dans la réduction de cette activité (Santhanam *et al.* 2012). Ainsi, les résultats diffèrent selon les modèles et la nature de l'échantillon (muqueuse vs CEI isolées) (Tableau 6).

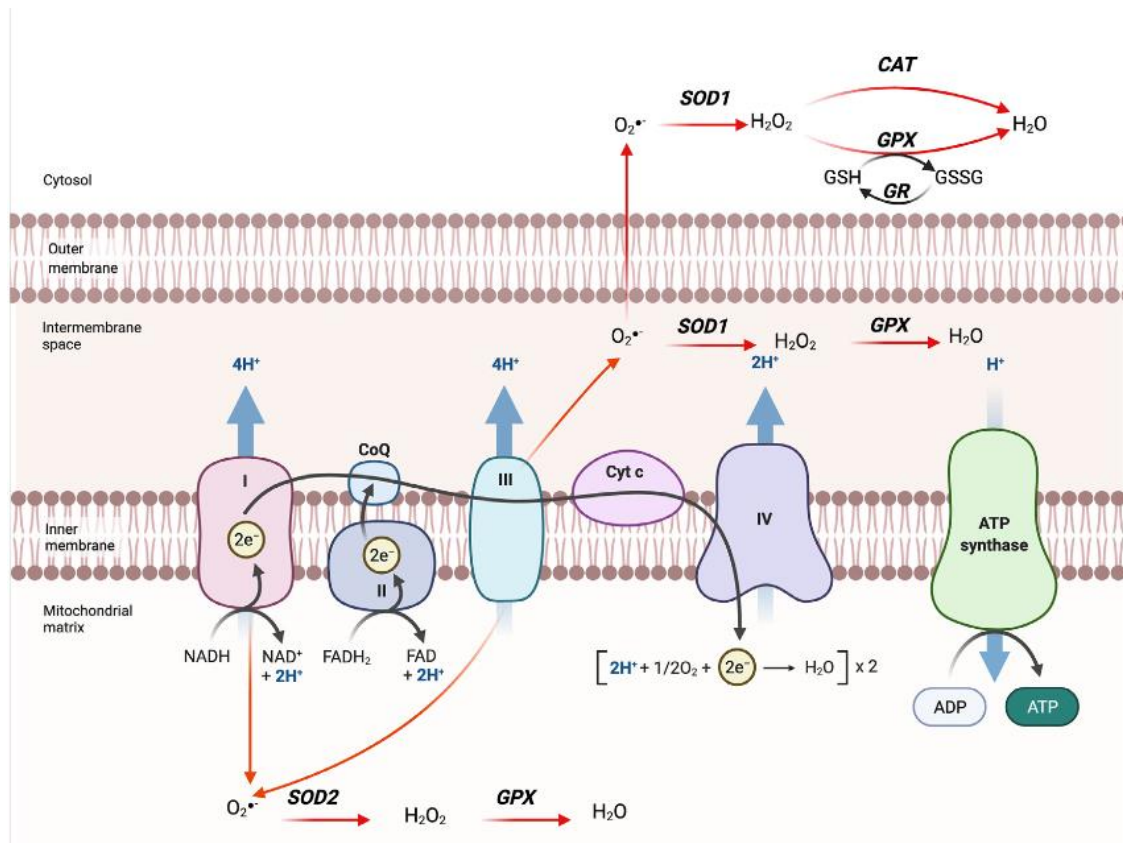
**Tableau 6. Synthèse non exhaustive des résultats se rapportant à la mesure de la chaîne respiratoire mitochondriale dans différents modèles d'étude de la RCH.**

Modèles / échantillons	Méthodes	Résultats	Références
Côlon de rats DSS (tissu entier)	Mesure de l'activité enzymatique des complexes	Augmentation du complexe IV Complexe II – inchangé	(Damiani et al. 2007)
Biopsie de patient RCH	Mesure de l'activité enzymatique des complexes	Diminution de 50 à 60% des complexes II, III et IV Complexe I – inchangé	(Sifroni et al. 2010)
Biopsie de patient RCH  Colonocytes isolés de souris DSS	Mesure de l'activité enzymatique des complexes	Diminution du complexe II Complexe I, III et IV – inchangé  Diminution des complexes II et IV Complexe I et III – inchangé	(Santhanam et al. 2012)
Biopsie de patient RCH	Quantification des complexes par immunohistochimie	Diminution du complexe IV	(Ussakli et al. 2013)
Biopsie de patient RCH	Mesure de l'activité des complexes	Diminution des complexes II, III et IV jusqu'à 60%	(Rosa et al. 2016)
Côlon de souris DSS (tissu entier)	Mesure de l'activité enzymatique des complexes et mesure d'expression génique	Diminution des complexes I et IV Diminution de la biogénèse mitochondriale Complexes II et III – inchangé	(Cunningham et al. 2016)
Muqueuse de souris DSS	Mesure de l'expression protéiques	Diminution des complexes II, III, IV et de l'ATP synthase	(McQueen et al. 2019)
CEI isolées de patient RCH	Mesure de l'activité et de l'expression génique et immunohistochimie	Diminution de l'activité et d'expression génique du complexe I Diminution du complexe IV en immunohistochimie	(Haberman et al. 2019)

De plus, Bär *et al.* ont mis en évidence un lien entre variants de l'ADNmt et niveau d'ATP. Dans cette étude, la concentration en ATP et l'activité des complexes I, II et IV mesuré dans les muqueuses de côlon de différentes souches de souris présentant un polymorphisme de l'ADNmt et soumises à une colite chimio-induite. Certaines souches de souris présentant les taux d'ATP muqueux les plus élevés étaient quasi-intégralement protégées contre la colite induite. Ces données montrent que les variants de l'ADN codés par les mitochondries modulent non seulement la fonction mitochondriale dans l'intestin, entraînant une augmentation des niveaux d'ATP dans la muqueuse intestinale, mais peuvent également s'avérer protecteurs contre l'induction de la colite expérimentale avec une réduction de l'inflammation associée (Bär *et al.* 2013).

#### 3.6.4. Génération d'espèces réactives de l'oxygène

Les mitochondries sont la plus abondante source de production d'ERO. Dans un contexte physiologique, il est estimé que 0,2% à 2% des électrons fuitent des complexes I et III pour former des ERO. Les ERO jouent un rôle bénéfique dans la signalisation intracellulaire, tel que la réponse à l'hypoxie ou l'apoptose pour éliminer les cellules endommagées et contribuer au maintien de l'homéostasie intestinale. En revanche, dans une situation de dysfonction mitochondriale, ces fuites sont augmentées et provoquent une accumulation d'ERO. (Figure 22). En effet, l'oxydation des coenzymes réduits NADH et FADH<sub>2</sub> peut causer une fuite d'électrons vers la matrice mitochondriale, participant ainsi à la production d'anions superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup> lorsqu'ils interagissent avec l'O<sub>2</sub> (Starkov *et al.* 2004b). Dans un contexte physiologique, ces anions superoxydes sont neutralisés par les superoxydes dismutases (SOD) pour générer des peroxydes d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ainsi, l'équilibre au sein de la cellule est maintenu. La détoxification de ces produits est réalisée par les glutathion-péroxydases (GPX) ou par la catalase (CAT). Les mécanismes de la β-oxydation participent aussi à la production de ERO. Lors de la déshydrogénation des acylCoA en 2-enoyl CoA, la flavoprotéine de transfert d'électrons et l'oxydoréductase ETF-ubiquinone catalysent des échanges qui permettent des fuites d'électrons, générant des ERO (Seifert *et al.* 2010).



**Figure 22. Chaîne de transport des électrons (CTE) et génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO).** L'accumulation des protons génère une différence de potentiel (gradients électrique et chimique) à travers la membrane interne. Ce gradient permet de faire fonctionner le complexe V et la synthèse d'ATP. Les fuites d'électrons des complexes I vers la matrice mitochondriale, et du complexe III vers la matrice et dans l'espace intermembranaire interagissent avec l'O<sub>2</sub> et génèrent des anions superoxydes. (Guerbette et al. 2022)

En revanche, lorsque le ratio d'ERO devient supérieur aux capacités de défenses antioxydantes, cet excès peut nuire à la viabilité cellulaire. Les ERO peuvent induire des dommages à l'ADN (mutation, délétion, oxydation), aux protéines et aux lipides constituant les membranes (peroxydation lipidique) (Zhang et al. 2016). Une augmentation de l'expression génique et protéique des enzymes impliqués dans la réponse au stress oxydant (SOD et la peroxyde réductase) a été mise en évidence dans la muqueuse des patients RCH en phase active, attestant ainsi d'une surcharge en ERO. En effet, les altérations mitochondriales décrites dans la muqueuse de patients RCH aussi bien associée à la CTE, à la production d'ATP, au TCA peuvent participer à la production des ERO et donc à l'entretien du stress oxydant (Cardinale et al. 2014; Rosa et al. 2016).

Les ERO mitochondriaux sont impliqués dans la production de cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IL-1 $\beta$  et l'IL-18 (Mittal et al. 2014). Un modèle de souris transgénique dépourvu de régulation négative de la production de ERO mitochondriaux a

permis de renforcer la compréhension du lien entre stress oxydant et inflammation. La protéine de découplage UCP2 est un transporteur d'anions de la MMI et a récemment été identifiée comme régulateur négatif de la production des ERO. En effet, les souris KO UCP2/- développent une colite sévère contrairement à leurs homologues ne présentant pas cette mutation. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de la fuite de protons peut être un mécanisme adaptatif pour contrer l'accumulation de ERO (Zhang et al. 2012).

Une diminution d'expression protéique des SOD et une augmentation de l'expression protéique du malondialdéhyde (MDA) qui est un marqueur de peroxydation lipidique, ont été mises en évidence dans un modèle de souris traitées avec 3% de DSS pendant 5 jours. Ce modèle met en avant un dysfonctionnement de la régulation des ERO secondaire à un déficit des enzymes antioxydantes (Li et al. 2022). Une corrélation positive entre l'augmentation de ERO mitochondriaux, la perméabilité intestinale et des anomalies morphologiques des membranes mitochondriales a pu être établie dans une l'étude de Handa et al. Les mitochondries présentaient en effet des vacuoles, des gonflements et une perte de l'architecture des crêtes qui pourraient contribuer à diminuer la production d'énergie (Handa et al. 2014). Ces résultats cependant n'ont pas été systématiquement reproduit (Lan et al. 2023). Dans ce travail de Lan *et al.*, l'expression génique des enzymes de la machinerie antioxydante était augmentée (Gpx2, Gsr), alors que celle de Sod2 était diminuée (Lan et al. 2023).

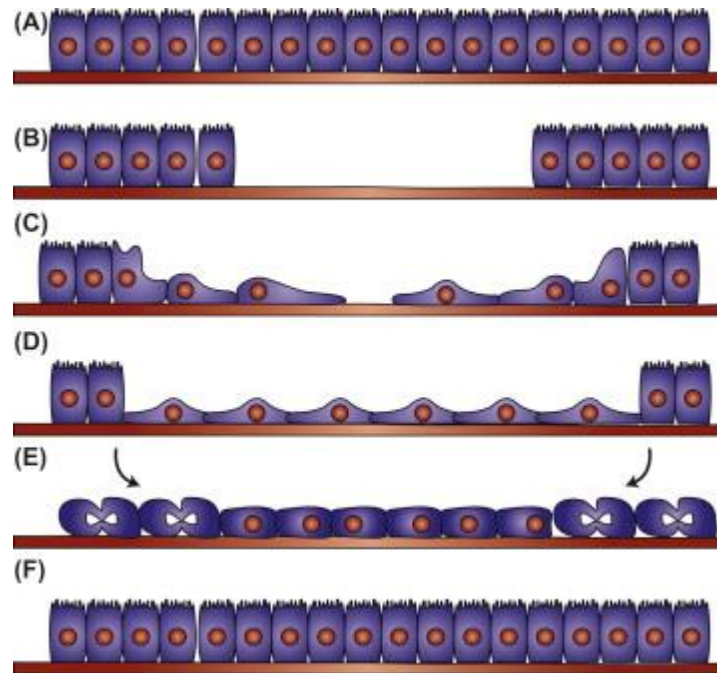
## 4. La phase de réparation

La cicatrisation de l'épithélium intestinal est un processus complexe qui implique plusieurs types cellulaires : les cellules épithéliales, les cellules immunitaires et les cellules du tissu conjonctif. Les cellules épithéliales adjacentes à la zone endommagée migrent pour recouvrir la surface lésée et la réparer (Iizuka et Konno 2011; Neurath et Travis 2012). Ce processus permet un retour à une architecture et à un agencement cellulaire viable pour exercer les fonctions de l'épithélium intestinal. Il est mis en place suite à une inflammation et est régulé par un ensemble de facteurs de croissance autocrines (TGF $\beta$ ), de cytokines immunomodulatrices (IL-22, IL-33), de chimiokines et de peptides intestinaux (Vidal-Lletjós et al. 2019).

Dans un premier temps, la réparation est initiée par une étape de dédifférenciation des cellules adjacentes de la lésion, notamment en perdant leur polarité pour ensuite migrer sur la zone lésée. Cette première étape est aussi appelée transition épithéliale – mésenchymateuse (EMT). Dans un second temps, les cellules épithéliales intestinales à proximité de la lésion s'engagent dans une réorganisation de leur cytosquelette d'actine. Ce phénomène est appelé la restitution épithéliale.

Suite à la migration, la prolifération se met en place afin de fournir le nombre de cellules nécessaire au renouvellement constant de l'épithélium. Cette étape est aussi appelée phase de régénération et est finement régulée pour éviter toute prolifération excessive (Znalesniak, Dürer, et Hoffmann 2009). Les kinases ERK et p38 MAPK, stimulées par le facteur de croissance EGF, induisent respectivement la prolifération et la migration, l'activité de l'une inhibant celle de l'autre (Frey, Golovin, et Polk 2004).

Les dernières étapes de la réparation épithéliale sont la maturation et la différenciation cellulaires afin de restaurer la fonction de barrière (Figure 23) (Znalesniak et al. 2009; Neurath et Travis 2012).



**Figure 23. Processus de la cicatrisation de l'épithélium intestinal.** (A) Epithélium d'une muqueuse saine. (B) Epithélium lésé avec desquamation des cellules épithéliales. (C) Dépolarisation des cellules au bord de la lésion et conversion en phénotype migratoire. (D) Aplatissement et migration des cellules pour recouvrir la zone lésée et rétablir la barrière protectrice. (E) Prolifération cellulaire nécessaire au renouvellement épithélial. (F) Reformation de jonctions serrées et restitution du phénotype polarisé des cellules épithéliales. (Liu, Polk, et Frey 2018)

Au cours de la cicatrisation de la muqueuse, les CEI sont confrontées à de nombreux signaux environnants tels que des facteurs de croissances, des cytokines ou encore des métabolites bactériens. Les facteurs environnants activent des voies de signalisation intracellulaire menant à l'activation de facteurs de transcription tels que NF- $\kappa$ B ou STAT3. Leur activation a un effet anti-apoptotique et stimule la prolifération cellulaire, assurant la survie et la division des CEI nécessaires aux différentes étapes de la cicatrisation de la muqueuse (Sturm et Dignass 2008). Les acteurs immunitaires sont impliqués de manière ambivalente dans la réparation tissulaire : les macrophages activés sont la source principale des facteurs de croissance et des cytokines (TGF- $\beta$ 1, IGF-I, IGF-II, TNF $\alpha$  et IL-1), qui interviennent dans la cicatrisation tissulaire (Coussens et Werb 2002) d'un côté mais d'un autre côté, la présence d'un épisode inflammatoire interfère avec les phases de migration et prolifération cellulaires, ralentissant ainsi la cicatrisation de l'épithélium intestinal (Iizuka et Konno 2011). Ce dernier point est particulièrement critique au cours de la RCH, en partie limitant la restitution *ad integrum* de la muqueuse intestinale, expliquant en partie le risque de récurrence de la maladie en phase de rémission et justifiant la poursuite au long cours des thérapeutiques.



Il convient de noter que les différents événements qui contribuent à la réparation épithéliale sont coûteux en énergie, faisant de la mitochondrie une cible thérapeutique prioritaire pour permettre la cicatrisation de la muqueuse dans un contexte de déficit énergétique décrit dans la RCH. Ce processus est apparue comme une cible thérapeutique clé pour la prévention des complications de la maladie (Peyrin-Biroulet et al. 2015b; Torres et al. 2020; Ungaro et al. 2017). Compte tenu de l'interconnexion complexe entre de nombreux acteurs cellulaires au cours de la RCH, la mise en place de modèles simples et représentatifs est nécessaire pour une meilleure compréhension des événements cellulaires impliqués à l'échelle de l'épithélium.

## 5. Les modèles disponibles pour étudier la rectocolite hémorragique

Bien que les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation de l'épithélium intestinal au cours de la RCH restent mal compris, la production d'énergie cellulaire nécessaire pour couvrir l'augmentation des processus anaboliques, est probablement une caractéristique clé pour permettre la réparation épithéliale. Cependant, les modèles d'études étaient jusqu'à récemment soit peu représentatifs de l'épithélium et de son métabolisme, soit trop complexes pour évaluer les événements épithéliaux.

### 5.1. Les modèles existants

Le modèle animal de colite induite est un standard pour l'étude de la RCH. Les agents couramment utilisés pour induire une colite chez l'animal sont le DSS et l'acide trinitrobenzène sulfonique (TNBS), le plus souvent sur modèle murin (Neurath, Fuss, et Strober 2000). L'inflammation induite au sein de la muqueuse intestinale est similaire aux phases aiguës localisées au niveau du côlon chez le patient RCH, avec une infiltration de neutrophiles et de macrophages (Chassaing et al. 2014; de Mattos et al. 2015). Malgré la pertinence des modèles *in vivo* indispensables pour la mise en place d'études cliniques chez l'Homme, le remplacement de ces modèles s'avère nécessaire d'un point de vue éthique.

Les modèles *in vitro* de lignées cellulaires immortelles figurent depuis longtemps parmi les modèles les plus utilisés pour étudier la physiologie cellulaire intestinale. En effet, ces modèles sont faciles à utiliser et peu onéreux. Ils présentent l'avantage de proposer un matériel quasi illimité. Une des lignées coliques la plus utilisée est la Caco-2, dérivée d'un adénocarcinome colorectal humain. Elle forme une monocouche confluyente en 2D, polarisée et présente des jonctions serrées, ce qui permet l'étude de la perméabilité intestinale. Cette lignée présente des caractéristiques fonctionnelles entérocytaires, par l'expression de plusieurs enzymes et récepteurs (Zheng et al. 2017). La modélisation de l'épithélium intestinal nécessite l'ajout d'autres types cellulaires en co-culture. Par exemple, la co-culture de cellules Caco-2 et de cellules HT29-MTX permet de disposer d'un modèle présentant en plus des CEI des cellules muco-sécrétantes au modèle d'étude (Zheng et al. 2017). Afin de compléter ce modèle cellulaire, l'ajout de la lignée Raji-B, dérivée de lymphocyte B a, permet la différenciation des cellules Caco-2 en cellules M par la sécrétion de médiateurs (Chakraborty et al. 2017). Ces trois types cellulaires forment un modèle tri-cellulaire Caco-2/HT29-MTX/cellules M, reproduisant en partie un épithélium intestinale. Récemment, le modèle a évolué en modèle quadricellulaire avec l'ajout de cellules entéro-endocrines NCI-H716 humaines (Gautier et al. 2022).

Malgré ces améliorations, ces modèles ne reproduisent pas toutes les caractéristiques de l'épithélium intestinal, son architecture, l'hétérogénéité cellulaire, et les interactions cellules-stroma. Les limites de ce modèle dans un contexte de RCH résident dans le fait qu'il se limite à un métabolisme glycolytique exclusif, ce qui n'est pas représentatif de l'épithélium colique d'un patient atteint de RCH. La plupart des lignées cancéreuses présentent un métabolisme glycolytique, ce qui est le cas des cellules Caco-2 et HT-29 majoritairement utilisées pour étudier la RCH (Sun et al. 2008). Les modèles cellulaires *in vitro* classiques bidimensionnels obtenus à partir de lignées cellulaires cancéreuses ou immortalisées restent donc imparfaits pour l'étude de la physiologie de l'épithélium colique humain.

## 5.2. Le modèle organoïde pour étudier la RCH

Pour les raisons précédemment évoquées, il est nécessaire de disposer de nouveaux modèles afin d'étudier le rôle de la fonction mitochondriale dans la réparation épithéliale. Depuis une dizaine d'années, un nouveau modèle cellulaire a été développé : les organoïdes intestinaux.

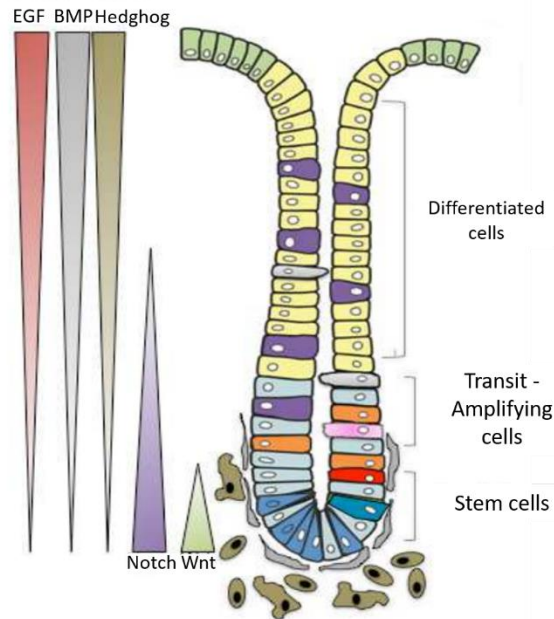
### 5.2.1. Définition du modèle organoïde

Un organoïde est défini par une structure tridimensionnelle auto-organisée issue de cellules souches, reproduisant l'architecture *in vivo* et la différenciation multi-lignée du tissu d'origine. Ils peuvent être développés à partir de deux types de cellules souches : pluripotentes (embryonnaires ou induites) ou adultes (Dutta, Heo, et Clevers 2017). Dans le cas des organoïdes intestinaux, une méthode a été développée par le laboratoire de Hans Clevers à partir de CSI de souris, puis à partir de cellules humaines (Sato et al. 2009, 2011). Les organoïdes coliques reposent sur l'exploitation des propriétés fondamentales des CSI que sont l'auto-renouvellement et la différenciation multipotente (Sato et al. 2011). Les CSI situées à la base des cryptes expriment LGR5, récepteur dont le ligand est la R-spondin impliqué dans la prolifération des CSI par activation de la voie Wnt. Les CSI sont activées en permanence et contribuent au renouvellement constant des cellules épithéliales. Un deuxième type de cellules souches qui a été décrit, présente un marquage Bmi1 et est localisé en position +4 par rapport au fond de la crypte. Il joue un rôle lorsque le tissu subit un dommage inhabituel (agression chimique ou infectieuse, radiothérapie) (Qi et Chen 2015). Les différents gradients de facteurs de croissance que l'on retrouve au sein de la crypte agissent comme déterminants de la différenciation des différents lignages cellulaires.

### 5.2.2. Facteurs régulant le renouvellement de l'épithélium intestinal

Le renouvellement de l'épithélium intestinal est guidé par la présence de différents signaux. Wnt est une famille de protéines sécrétées par les cellules stromales induisant la prolifération des CSI. En l'absence de Wnt, la  $\beta$ -caténine est ubiquitinylée et adressée au protéasome. En présence de Wnt, sa liaison à son récepteur membranaire Frizzled (FZD) induit une cascade de signalisation au sein de la cellule, inhibant l'activité du complexe de destruction protéique et permettant ainsi la translocation nucléaire de la  $\beta$ -caténine qui agit comme co-activateur transcriptionnel. L'action de Wnt active ainsi la transcription du gène LGR5 induisant la prolifération cellulaire (Figure 24). La protéine R-spondin potentialise la voie de la protéine WNT. Les protéines R-spondin se lient à des récepteurs spécifiques sur la membrane cellulaire, appelés Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled Receptors. Une fois que les R-spondines se sont liées à leurs récepteurs, cela conduit à une activation accrue de la voie Wnt et assure ainsi le renouvellement des CEI (Figure 25). De cette façon, R-spondin stabilise l'expression du récepteur de la Wnt responsable de l'amplification du signal de prolifération des CSI (Clevers, Loh, et Nusse 2014). La transcription d'autres gènes cibles tels que les cyclines CDK1 et CDK2 est activé par la voie Wnt ce qui permet l'entrée des CSI en phase de division cellulaire (Aoki et al. 2007). La famille de protéines Wnt maintient également un équilibre entre l'auto-renouvellement des cellules souches et leur différenciation en CEI (Qi et Chen 2015). En opposition à Wnt, la *Bone Morphogenic Protein* (BMP) régule négativement l'auto-renouvellement et la prolifération des CSI, jouant ainsi un rôle essentiel dans la prévention de l'hyperplasie intestinale (Figure 24 et 25) (Qi et Chen 2015). A l'inverse la protéine Noggin est un antagoniste de BMP et interfère dans la régulation négative de l'auto-renouvellement des cellules souches. Plus précisément, Noggin agit en se liant aux BMP et en empêche son interaction avec leurs récepteurs à la surface des cellules (Sato et al. 2011). Ces interactions régulent finement la prolifération de l'épithélium intestinal.

Le signal Notch présente des rôles multiples : lorsque Wnt est présent en grande quantité, Notch est impliqué dans le maintien du caractère souche. A l'inverse quand le signal Wnt est faible, le signal Notch régule la différenciation en inhibant l'orientation en lignage sécrétoire (type Muc2), induisant une différenciation vers le lignage absorbant (type ATP1A1) (Tian et al. 2015). La coordination de ces différents facteurs permet de maintenir l'équilibre au sein de la niche (Figure 24 et 25).



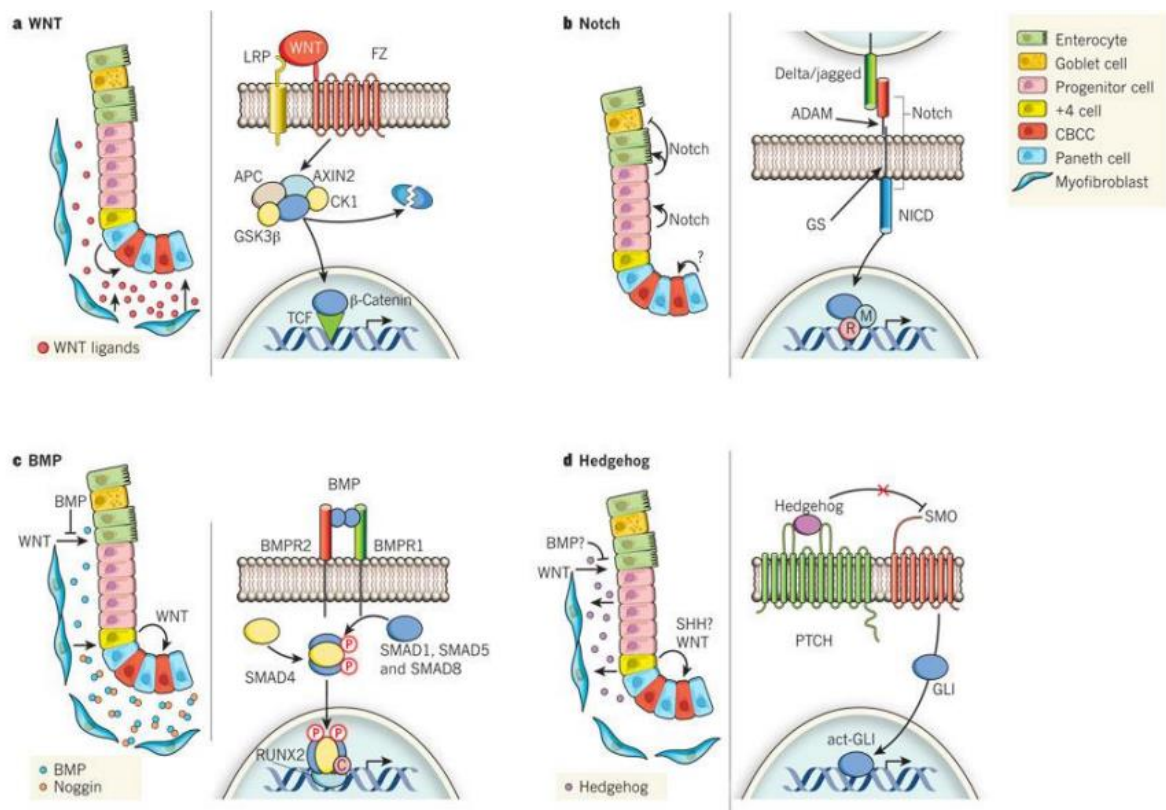
**Figure 24. Facteurs régulant l'homéostasie intestinale.** Expression graduée des différents facteurs présents dans le développement et maintien des cryptes coliques. Epithelium growth factor (EGF). Bone Morphogenic Protein (BMP). Adapté de (Barker 2014).

L'*epidermal growth factor* (EGF) se lie à son récepteur membranaire (EGFR) ce qui active les voies de signalisation intracellulaire RAS/MAPK et PI3K/AKT. Ces voies de signalisation sont impliquées dans la régulation de la prolifération, de la différenciation et de la survie cellulaire (Figure 25). L'activation de la voie RAS/MAPK conduit à l'expression de gènes cibles impliqués dans la prolifération et la survie cellulaire tel que KI67 et BMI (Hageman et al. 2020). La voie PI3K/AKT régule plusieurs processus cellulaires, dont la prolifération, la survie et la différenciation notamment via l'activation des MUC (Miyamoto, Suyama, et Baba 2017).

La voie Hedgehog est initiée par la sécrétion d'une famille de protéines de signalisation appelée Hedgehog. Les CEI sécrètent le ligand Hedgehog, généralement la protéine Sonic Hedgehog (SHH). Les cellules cibles de l'épithélium intestinal expriment des récepteurs pour le ligand Hedgehog, notamment le récepteur Patched (PTCH) et le récepteur smoothed (SMO). En l'absence du ligand Hedgehog, PTCH inhibe l'activité de SMO. L'activation de SMO déclenche une cascade de signalisation à l'intérieur de la cellule cible. La cascade de signalisation Hedgehog aboutit à l'activation des facteurs de transcription GLI, qui sont des protéines impliquées dans la régulation de l'expression des gènes. Les protéines GLI activées migrent vers le noyau cellulaire, où elles régulent l'expression de gènes cibles (Figure 25). Ces gènes cibles sont impliqués dans des processus cellulaires, tel que la prolifération

cellulaire, la différenciation, la régénération tissulaire et la réponse aux signaux environnementaux.

Sato *et al.* ont mis en évidence l'importance des facteurs de croissance pour le développement d'organoïdes à partir de cryptes isolées d'intestin grêle chez la souris (Sato et al. 2009). Ces résultats ont ensuite été validés sur un modèle d'organoïdes coliques humains à partir de cryptes isolées de patients atteints de cancer. Dans ce modèle, les auteurs ont mis en évidence le caractère indispensable du facteur EGF pour le développement et la croissance des organoïdes, ainsi que le A83-01 et le SB soutiennent la prolifération et la survie des cellules souches et des cellules TA (Sato et al. 2011). D'autres compléments restent nécessaires pour la culture d'organoïdes intestinaux. L'addition de nicotinamide s'explique par son rôle fondamental en tant que composant des coenzymes NAD, qui interviennent dans les réactions de transfert d'électrons indispensables à la génération d'ATP au sein des mitochondries (Sato et al. 2011). La N-acétylcystéine est utilisée pour favoriser la viabilité cellulaire dans la culture d'organoïdes intestinaux. En effet, elle a une action antioxydante et participe à la différenciation des TA dans le modèle organoïde. La gastrine favorise quant à elle le renouvellement épithélial (Jain et Samuelson 2006).



**Figure 25. Synthèse sur les voies de signalisation impliquées dans l'homéostasie des cryptes coliques.** a. La liaison de Wnt à son récepteur permet la translocation de la  $\beta$ -caténine dans le noyau et l'activation de gènes cibles impliqués dans la prolifération des CSI. b. Notch est impliqué dans le maintien du caractère souche et dans la différenciation en phénotype absorbant lorsque Wnt est présent en faible concentration. c. BMP régule négativement l'auto-renouvellement et la prolifération des CSI en inhibant l'action de Wnt. d. Hedgehog régule positivement la prolifération des cellules souches et favorise la différenciation épithéliale. PTCH : récepteur Patched, SMO : récepteur smoothed SHH : protéine Sonic Hedgehog (Medema et Vermeulen 2011).

### 5.2.3. Avantages du modèle d'organoïdes intestinaux

Le modèle organoïde tend à être de plus en plus utilisé en raison de ses divers avantages. Il est à l'heure actuelle, le modèle qui se rapproche le plus possible de la complexité du tissu intestinal avec la présence de différents types cellulaires épithéliaux.

#### 5.2.3.1. Une culture primaire durable

Ces structures peuvent être cultivées à long terme et amplifiées au cours de repiquages. Par rapport aux cryptes fraîchement isolées, les organoïdes présentent un profil transcriptionnel similaire confortant leur intérêt (Sato et al. 2011). Les organoïdes peuvent également être congelés et conservés à long terme.

#### 5.2.3.2. Un modèle pluricellulaire

La concentration en facteurs de croissance a une influence sur le phénotype des organoïdes. En effet, la diminution de la concentration de Wnt dans le milieu favorise la différenciation cellulaire des organoïdes (VanDussen, Sonnek, et Stappenbeck 2019a). Ces structures peuvent comporter différentes populations cellulaires dont certaines expriment les marqueurs de cellules matures (tel que le transporteur Nhe1 pour les colonocytes absorbants et MUC2 pour les cellules caliciformes).

#### 5.2.3.3. Un modèle tridimensionnel auto-organisé

La culture d'organoïdes en Matrigel permet de reproduire l'environnement de la matrice extracellulaire issu d'une préparation solubilisée extraite du sarcome murin d'Engelbreth-Holm-Swarm. Cette matrice permet aux cellules de s'auto-organiser dans l'espace en formant une structure tridimensionnelle avec des excroissances formant de petites cryptes composées de cellules polarisées entourant une lumière centrale. Les cellules situées à la base de la structure expriment un phénotype essentiellement indifférencié (caractère souche LGR5+ ou proliférant Ki67+), tandis que les autres cellules subissent une différenciation progressive. Les cellules les plus différenciées se trouvent au sommet de la structure (Sato et al. 2011). Ce modèle permet d'exprimer les différents types cellulaires retrouvés dans l'épithélium intestinal.

#### 5.2.3.4. Un nouveau modèle d'étude physiopathologique

Ce modèle prend en compte l'organisation du tissu d'où il provient, permettant une étude au niveau moléculaire et cellulaire. Les organoïdes peuvent être utilisés pour modéliser les conditions physiologiques dont les mécanismes de formation et de développement des tissus, et pathologiques en mimant un stress. En outre, les organoïdes peuvent être utilisés pour la découverte et l'essai de médicaments afin de mieux comprendre leurs effets sur les fonctions des tissus et des organes (Sugimoto et Sato 2021). Notamment, la production d'organoïdes dérivés de patients pourrait permettre de mieux comprendre la pathologie associée et de mettre en place une stratégie thérapeutique spécifique aux patients en fonction des traitements testés.

#### *5.2.4. Limites du modèle d'organoïdes intestinaux*

La culture d'organoïdes présente toutefois quelques limites, en particulier son coût et la difficulté à standardiser les cultures. La variabilité des lots de Matrigel peut aussi avoir un effet sur la reproductibilité des expérimentations. La densité du Matrigel ne permet pas une diffusion optimale des grosses molécules, utile par exemple à l'étude de la perméabilité des organoïdes. L'accès au pôle apical des organoïdes reste difficile malgré la mise en œuvre de méthodes



d'inversion ou de micro-injection (Co et al. 2021). De plus, le caractère issu du vivant des organoïdes pose un problème réglementaire pour leur utilisation. Enfin, le modèle organoïde intestinal est constitué de différents types cellulaires mais limité aux cellules épithéliales. En effet, l'absence de *lamina propria*, de vascularisation et du système nerveux ne permettent pas de reproduire le tissu colique à l'identique. L'ajout d'autres types cellulaires comme des cellules de l'immunité est possible, mais ne pourra reproduire la complexité de la réponse inflammatoire observée chez les patients.

#### 5.2.5. Utilisation du modèle organoïde pour étudier la RCH

Depuis quelques années, le modèle organoïde est de plus en plus utilisé dans l'étude de la physiopathologie de la RCH.

##### 5.2.5.1. Les organoïdes dérivés de patients RCH

Les organoïdes développés directement à partir de biopsies de patients atteints de RCH permettent d'étudier les polymorphismes génétiques présents chez le patient (Rawat et al. 2020). Les organoïdes présentent en effet les anomalies épigénomiques et génétiques tels que des profils d'expression génique spécifiques à la maladie et des anomalies de méthylation de l'ADN en étant dérivés de patients atteints de MICI. Cet avantage permet d'étudier la relation génotype-phénotype. Par exemple, une augmentation de l'expression génique de la CLDN18, qui est également associée à la colite expérimentale et est très peu exprimée en conditions physiologiques dans le côlon, est observée. (Dotti et al. 2017; Howell et al. 2018). L'étude de l'expression génique d'organoïdes différenciés issus de patients RCH ont par exemple montré une diminution de l'expression de *MUC2* (Noben et al. 2017). Récemment, d'Aldebert *et al.* ont décrit une « inversion de polarité » dans des organoïdes issus de patients MICI ainsi que dans des organoïdes issus de tissu sain soumis à un stimulus inflammatoire. Une analyse microscopique par immunomarquage a montré que l'actine habituellement présente au pôle apical était alors localisée sur l'extérieur de l'organoïde (d'Aldebert et al. 2020a). Ce modèle pourrait donc reproduire *in vitro* les perturbations fonctionnelles et structurelles observées chez les patients.

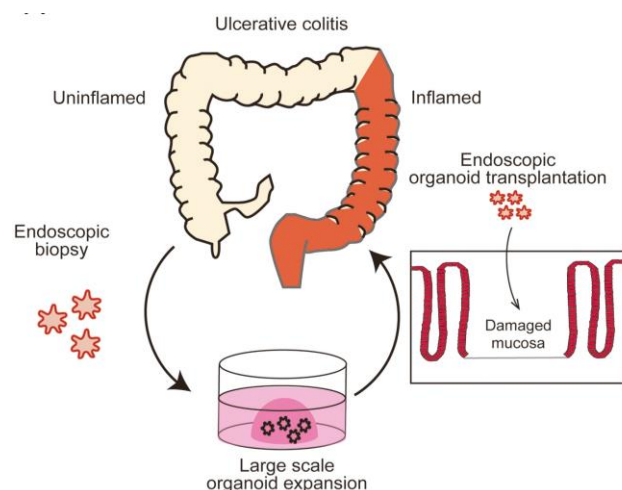
##### 5.2.5.2. Organoïdes issus de tissus sains

Le modèle organoïde peut être produit à partir de tissus sains tels que des biopsies prélevées dans le cadre de la prévention du cancer colorectal ou encore la marge saine du côlon suite à une résection chirurgicale. Il est possible de reproduire la pathogenèse complexe de la RCH *in vitro* en traitant les organoïdes avec des cytokines, des composants du microbiote intestinal ou de métabolites bactériens (Lukovac et al. 2014; Rogoz et al. 2015; Nozaki et al. 2016; Park

et al. 2016). Le phénomène chronique de la phase inflammatoire de la RCH peut ainsi être entretenu sur le long terme. Il a été montré que des organoïdes coliques humains stimulés de façon chronique par des cytokines inflammatoires présentaient une activation de la voie NF- $\kappa$ B persistante même après l'arrêt de la stimulation et une surproduction de ERO. A plus long terme, les organoïdes stimulés peuvent présenter une dédifférenciation ainsi qu'une surexpression de gènes liés à la carcinogénèse (Hibiya et al. 2017). La technologie CRISPR-Cas9 peut également être utilisée pour introduire des mutations observées chez les patients RCH dans des organoïdes sains et ainsi en étudier les effets sur la fonction épithéliale intestinale (Fujii, Clevers, et Sato 2019).

#### 5.2.5.3. Les organoïdes : un outil clinique pour les tests médicamenteux et en médecine régénérative

Afin de s'émanciper des expérimentations animales, ce modèle pourrait être utilisé comme modèle préclinique pour tester de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement de la RCH (Yoo et Donowitz 2019). Par ailleurs, peu de données sont disponibles concernant l'utilisation de ce modèle dans le domaine de la cicatrisation, en particulier pour la réparation épithéliale. La restauration de la fonction de barrière épithéliale intestinale par transplantation organoïde, générée à partir de greffe d'un tissu altéré (Figure 26) (Okamoto et al. 2020a), pourrait être une nouvelle approche thérapeutique pour la RCH.



**Figure 26. Représentation schématique de la transplantation d'organoïdes.** Un outil de médecine régénérative dans la RCH. Aperçu schématique de la transplantation endoscopique de cellules souches à l'aide d'organoïdes intestinaux. (Okamoto et al. 2020b)

Les organoïdes greffés se fixent à la région lésée et reconstruisent un épithélium dérivé du donneur (Watanabe et al. 2022). Des premiers essais ont été réalisés dans un modèle de

colite chez la souris pour induire la cicatrisation de la muqueuse. Les premiers essais cliniques chez l'Homme utilisant des organoïdes du côlon chez des patients atteints de RCH sont actuellement en cours à l'université médicale et dentaire de Tokyo (TMDU) (Japan Science and Technology Agency : <https://sj.jst.go.jp/news/202209/n0907-01k.html>).

Pour conclure, l'utilisation du le modèle organoïde permet de limiter le recours aux modèles *in vivo* et permet de travailler directement sur des cellules humaines saines ou de patients (Varani, McClintock, et Aslam 2021). Ce modèle peut être utilisé pour comprendre les mécanismes de formation et de développement des tissus, les voies moléculaires et cellulaires impliquées dans la physiologie et la pathophysiologie. De plus, ses aptitudes d'auto-organisation et de renouvellement cellulaire se rapprochent d'avantage du processus de réparation chez l'Homme.

## OBJECTIFS DE LA THESE

---

Actuellement, le traitement de la RCH repose sur l'utilisation d'agents pharmacologiques diminuant de façon non spécifique l'inflammation et les réponses immunitaires dans le but de réduire les symptômes. Cependant, la stratégie classique d'escalade thérapeutique est parfois inefficace pour contrôler la maladie et éviter ses complications. L'obtention d'une cicatrisation de la muqueuse colique au cours de la RCH s'est imposée comme un objectif thérapeutique essentiel pour la prévention des complications de la maladie. Les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la **réparation de l'épithélium intestinal** restent peu décrits, en particulier pour ce qui est de l'implication de la **mitochondrie**, malgré son rôle probablement clé dans ce processus. Il est en effet fort probable qu'en condition de réparation épithéliale après un épisode inflammatoire, les besoins énergétiques des cellules épithéliales soient plus importants. Or des travaux dans des modèles RCH se rapportant à la mitochondrie, qui exerce un rôle central dans la production énergétique cellulaire en situation physiologique, ont décrit des altérations mitochondriales induites par l'inflammation dans ces modèles et chez les patients RCH. Comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation épithéliale pourrait permettre d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Pour ce faire, l'utilisation d'un modèle d'étude adapté est indispensable et les organoïdes coliques issus de CSI adultes pourraient ainsi s'avérer pertinents pour l'étude de la réparation épithéliale et du métabolisme associé.

Dans ce contexte, les objectifs de ce travail de thèse étaient :

1. De développer un modèle organoïde colique humain de RCH.
2. D'étudier le métabolisme énergétique des cellules épithéliales intestinales en réponse à un stress inflammatoire puis lors de la réparation au décours du stress.
3. D'évaluer les événements cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation épithéliale en réponse au stress inflammatoire.
4. D'étudier la fonction mitochondriale au cours du processus de cicatrisation chez les patients RCH.

## DEVELOPPEMENT DU MODELE ORGANOÏDE

---

## 1. Contexte

Le projet vise à développer un modèle cellulaire de RCH afin de caractériser les événements cellulaires et moléculaires impactés par l'inflammation et impliqués dans la réparation épithéliale.

La mise en place d'un modèle d'organoïde colique humain nécessite d'obtenir un échantillon de tissu colique dans le but d'en isoler les cryptes. Ce développement peut se faire à partir d'une pièce chirurgicale ou d'une biopsie endoscopique. Afin d'obtenir un échantillon chirurgical, un circuit de prélèvements a été créé en partenariat avec le service de chirurgie hépatobiliaire et digestive du CHU de Rennes. Ce projet a été présenté à la direction de la Recherche et de l'Innovation du CHU de Rennes afin d'obtenir les autorisations réglementaires (RIPH3) permettant le développement et le stockage d'organoïdes coliques dans le cadre du projet IOïDES (projet conforme à la méthodologie de référence MR004, N° de déclaration : 2205295 v 0). Les cultures d'organoïdes sont identifiées par l'appellation ChOrg pour Côlon humain Organoïde et suivi d'un numéro propre à chaque lignée (Tableau 7).

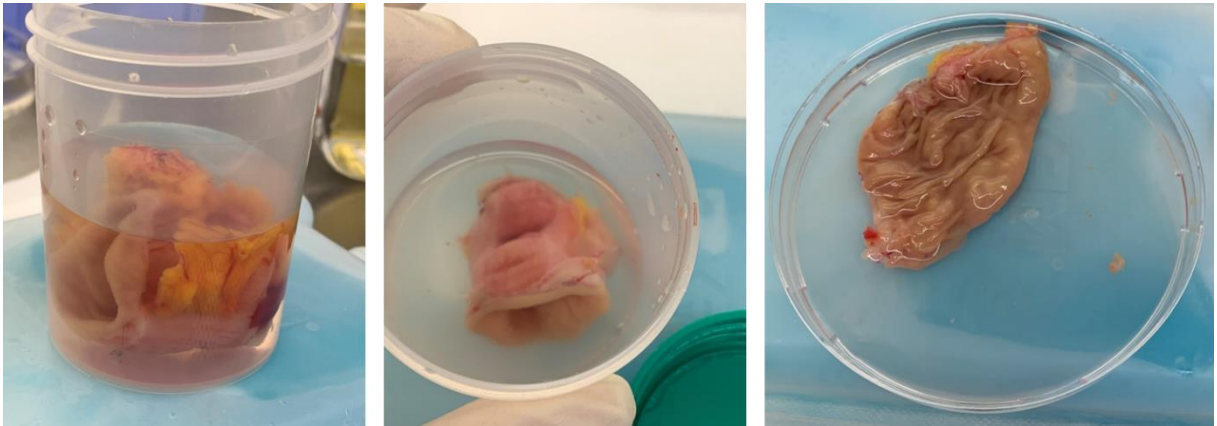
**Tableau 7. Informations relatives au prélèvement pour la culture d'organoïde.**

N° de culture	Age du donneur	Sexe	Localisation du prélèvement
ChOrg7	62	F	Côlon gauche
ChOrg8	47	H	Sigmoïde
ChOrg11	61	H	Rectum
ChOrg13	62	F	Côlon gauche

## 2. Culture d'organoïdes coliques humains

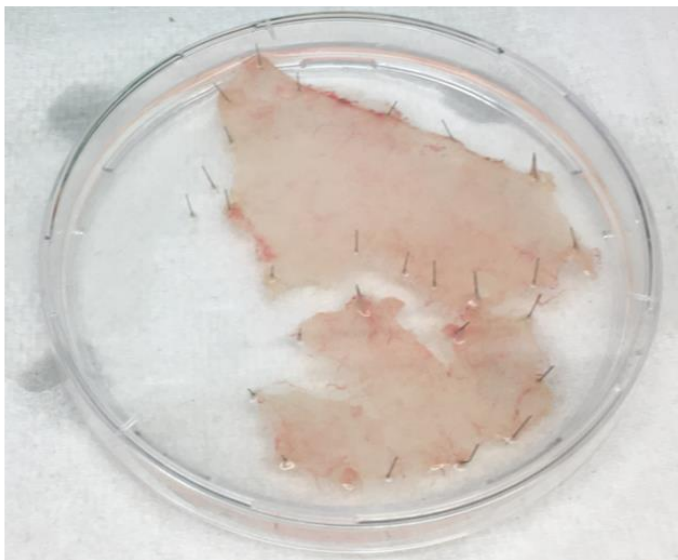
La marge saine de prélèvements chirurgicaux de côlon gauche (4 cm<sup>2</sup> environ) est réceptionnée au centre de ressource biologique (CRB) Santé de Rennes. La muqueuse intestinale est disséquée et lavée à plusieurs reprises jusqu'à ce que le milieu ne contienne plus de débris visibles (Figure 27). La solution de lavage est constituée de PBS froid contenant un mélange d'antifongique et d'antibiotiques (gentamycine/amphotéricine B - 50-0640 Gibco; pénicilline (P), 50 Units/mL - 100X – 15070-063 Gibco ; streptomycine (S), 50 µg/mL – 15070-063 Gibco). Pour retirer le mucus, la muqueuse est grattée à l'aide de pinces Dumont dans une solution de dithiothreitol (DTT, 3mM) puis incubée dans une solution d'EDTA (9mM), du DTT (3mM) et du Y27632 (10 mM), pendant 30 min sous agitation à 50 rpm et à 4°C. Après élimination de la solution d'EDTA, les cryptes intestinales sont récoltées dans une solution de

PBS contenant 10 mM de Y27632 puis 200 à 300 cryptes isolées sont reprises dans 25  $\mu$ L de matrigel (Corning 354230) par puits de plaque 48 puits (Figures 27 – 30). La culture en matrigel reproduit une matrice extracellulaire, permettant le développement et un agencement cellulaire en 3 dimensions. En effet, le matrigel offre un biomimétisme de par sa composition riche en protéines extracellulaire (laminine et collagène), similaires au chorion des tissus. Les cellules adhèrent au matrigel et cela permet d'induire une polarité et l'organisation des cellules.

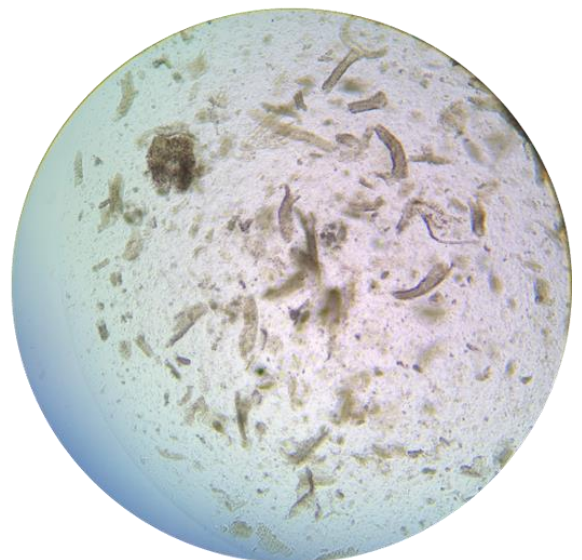


**Figure 27.** Prélèvement colique à partir de résection chirurgicale.

A

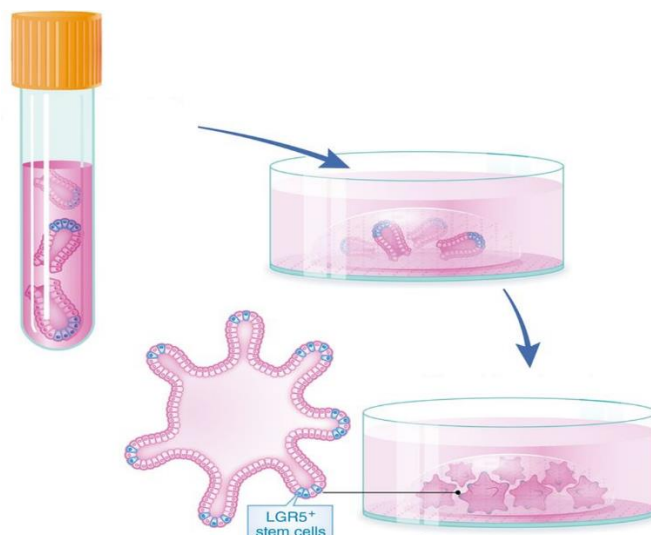


B

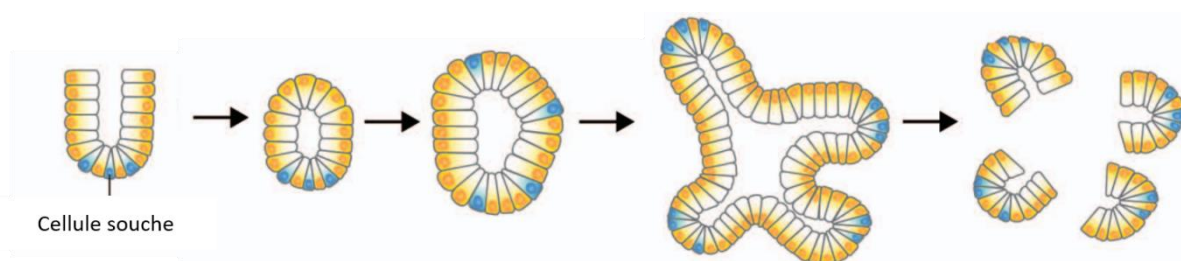


**Figure 28.** Isolement des cryptes coliques à partir d'une résection chirurgicale. A. Muqueuse colique disséquée, étirée et lavée avant extraction des cryptes coliques. B. Solution de cryptes coliques isolées observée par microscopie optique au grossissement x4.





**Figure 29. Mise en culture des cryptes coliques en matrigel.** Les cryptes coliques isolées sont reprises dans une matrice de membrane basale (matrigel) et déposées en puits de culture sous forme de dôme puis recouvertes de milieu de culture.



**Figure 30. Schéma de développement d'organoïdes à partir de crypte colique.** Crypte colique contenant des cellules souches LGR5+. Agencement sous forme de sphère. Formation d'une lumière avec une couche épithéliale polarisée. Prolifération des cellules. Formation d'excroissances appelées « buds » reproduisant l'organisation architecturale des cryptes. Amplification par repiquage en cassant les organoïdes. Adapté à partir de Mahé et al. 2015

### 3. Prolifération des organoïdes

Les primoculture de cryptes sont cultivées dans un milieu commercial (IntestiCult OGM Human, STEMCELL Technologies, 250 µL/puits) privilégiant la survie et l'expansion des cellules souches (Figure 32) pendant une semaine. Après le premier repiquage, le milieu de culture utilisé ensuite est un milieu de culture conditionné produit à partir de la lignée cellulaire L-WRN. Ce sont des fibroblastes murins transformés qui sécrètent les facteurs WNT, R-spondin et Noggin (VanDussen, Sonnek, et Stappenbeck 2019b). Après cassage, les organoïdes sont cultivés dans un milieu de prolifération contenant 90% de milieu MiniGut (milieu conditionné LWRN dilué au demi dans du milieu Advanced DMEM F12 (ADF)

additionné de P /S, 2 mM Glutamine, 20% sérum de veau foetal (SVF)) et 10% Human IntestiCult OGM (Stem Cell), complémenté avec du A8301 500nM (Biogems 9094360), du SB202190 10µM (Biogems 1523072), de l'EGF 8nM (Sigma-Aldrich E9644), de la [Leu]15-Gastrin 10nM (Sigma-Aldrich G9145), du Nicotinamide 10µM (Sigma-Aldrich N0636), de la N-acetylcystéine 1mM (Sigma-Aldrich A9165) (Tableau 8). Du Y27632 10µM est ajouté les premières 24h afin d'inhiber l'apoptose. Les organoïdes sont repiqués toutes les semaines pour amplifier d'un facteur 3 la culture avec ajout de Y27632 dans le milieu pendant les premières 24h après repiquage. Le milieu de culture est changé tous les 2 à 3 jours.

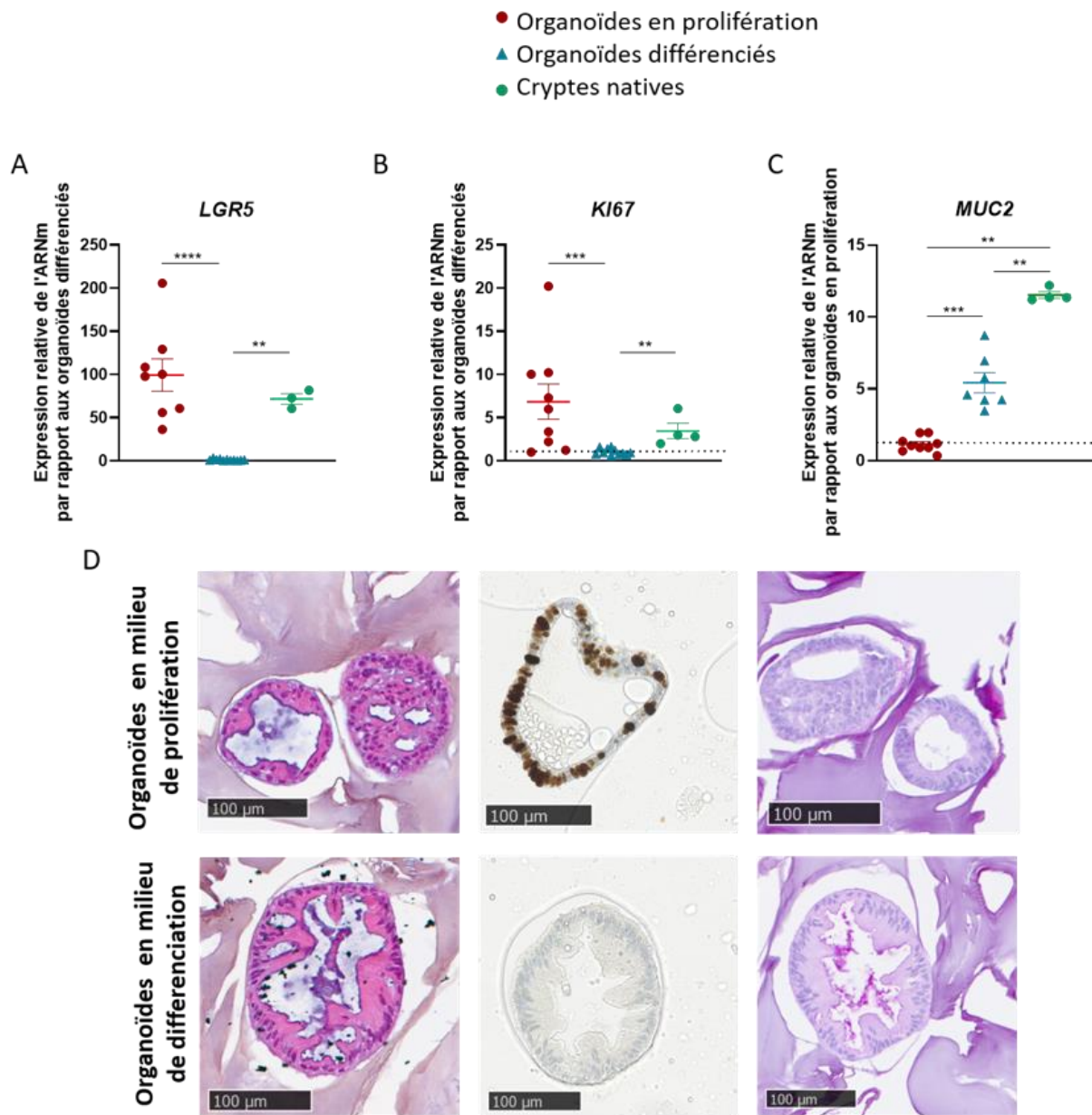
**Tableau 8. Composition du milieu MiniGut et rôle des composants.**

Milieu de culture LWRN	Produit les facteurs WNT, R-spondin et Noggin stimulant la prolifération des cellules souches.
Supplément B27	cocktail de facteurs comprenant des antioxydants, de l'insuline, de la biotine, de la progestérone, de la transferrine, du galactose, du glutathion, etc qui augmente l'efficacité de la formation des sphères
Supplément N2	Cocktail de facteurs, comprenant de la BSA (Bovin Serum Albumin), de l'insuline, de la transferrine, de la progestérone, de la putrescine, et du sélénite de sodium
A83-01 (Alk4/5/7 inhibitor) SB202190 (p38 inhibitor)	Améliore de manière significative l'efficacité de l'ensemencement. La combinaison des deux composés aide à prolonger la durée de culture (Sato et al. 2011). Le SB promeut la différenciation en inhibant MAPK/p38 et l'apoptose
Gastrine	Permet le renouvellement épithélial (Jain et Samuelson 2006).
Nicotinamide	Permet la synthèse des co-enzymes NAD <sup>+</sup> et NADP <sup>+</sup> , nécessaire aux processus métaboliques (Sato et al. 2011).
N-acétylcystéine	Antioxydant. Présente des propriétés mucolytiques.
EGF	Favorise la croissance et de la prolifération cellulaires : permet le maintien de la culture organoïde sur le long terme (Sato et al. 2009).

## 4. Différenciation des organoïdes et mise en place du traitement « Stress RCH »

Après 4 jours de prolifération, le milieu d'expansion est remplacé par du milieu de différenciation (contenant 77% ADF, 20% SVF, 1% 2mM glutamine, 1% P/S et 1 % HEPES) et 10% final de milieu MiniGut additionné de [Leu]15-Gastrin 10nM, EGF 8nM et N-acetylcystéine 1mM) pendant 48h. Le milieu de différenciation réduit la voie WNT et conserve les facteurs de croissance EGF pour le maintien des organoïdes. Les organoïdes sont ensuite traités pendant 24h par avec un cocktail de cytokines pro-inflammatoires (IL1 $\beta$  et TNF $\alpha$  à 10  $\mu$ M) ajouté au milieu de différenciation et placés en condition hypoxique à 1% d'oxygène et 5% de CO<sub>2</sub>. La combinaison de ces deux stress (inflammation et hypoxie) est dénommée « Stress RCH ».

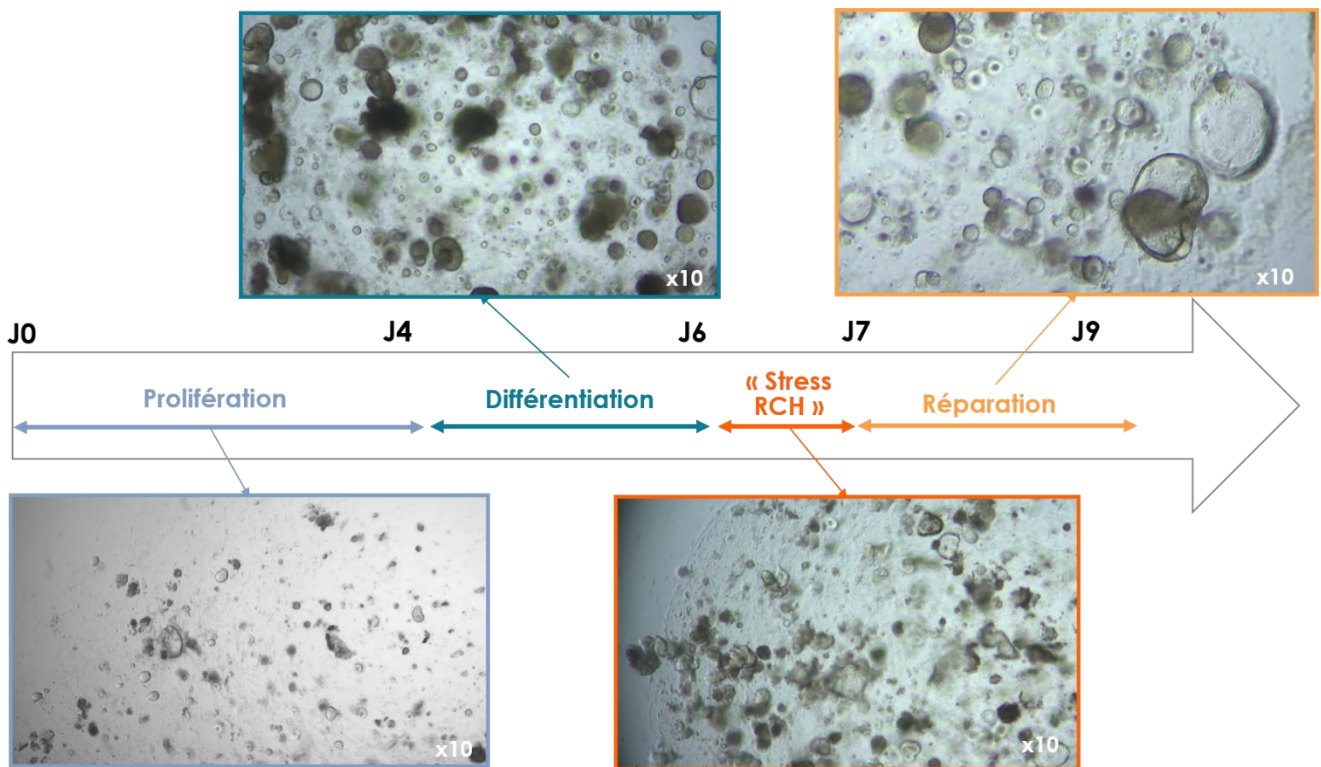
Le phénotype des organoïdes coliques humains a été caractérisé par la mesure de l'expression des gènes : *LGR5* (marqueur de cellules souches), *KI67* (marqueur de prolifération) et *Muc2* (marqueur de cellules muco-sécrétantes) en comparaison aux cryptes natives. Ces données ont été complétées par une analyse immunocytochimique des organoïdes en prolifération et en différenciation à l'aide de l'anticorps KI67 (immunomarquage des cellules proliférantes) et des colorations à l'Hématoxyline Eosine Safran (HES), un au KI67 et à l'acide périodique de Schiff (PAS) pour marquer le mucus produit par les cellules muco-sécrétantes (Figure 31).



**Figure 31. Caractérisation d'un modèle organoïde colique humain différencié.** L'expression génétique des marqueurs intestinaux épithéliaux a été mesurée dans les organoïdes prolifératifs, les organoïdes différenciés et les cryptes natives par RT-qPCR. (A) Expression du marqueur de cellules souches LGR5 par rapport aux organoïdes différenciés. (B) Expression du marqueur de cellules prolifératives KI67 par rapport aux organoïdes différenciés. (C) Expression du marqueur de cellules de gobelet MUC2 par rapport aux organoïdes prolifératifs. (D) Analyse histologique des organoïdes en prolifération et différenciés avec colorations HES, PAS et immunomarquage KI67. Les résultats sont présentés sous forme de médiane avec 95 CI. N=3 cultures d'organoïdes dérivées de patients et des triplicats pour chaque condition ont été analysés. \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$

## 5. Induction de la réparation

Après les 24h de traitement, les organoïdes sont replacés en condition de normoxie dans un incubateur à 18% d'O<sub>2</sub> et 5% de CO<sub>2</sub>. Le milieu de « Stress RCH » contenant le cocktail de cytokines pro-inflammatoires est remplacé par un milieu de réparation pendant 48h. Ce milieu de réparation est constitué à 50% de milieu de prolifération et 50% de milieu de différenciation (Tableau 9). La composition de ce milieu permet de relancer la prolifération à partir des cellules souches restantes et cellules proliférantes, et de maintenir les types cellulaires différenciés. Un retour à une répartition des différents types cellulaires présents dans la condition contrôle est observé suite aux 48h de réparation (Figure 32).



**Figure 32. Observation par microscopie optique des organoïdes aux différentes phases du protocole expérimental.** Phase de prolifération des organoïdes pendant 4 jours. Différenciation des organoïdes pendant 2 jours. Induction du « Stress RCH » pendant 24h dans milieu de différenciation contenant un cocktail de cytokines pro-inflammatoire en condition hypoxique 1%. Arrêt du traitement, retour en condition normoxie dans un milieu de réparation pendant 48h.

**Tableau 9. Composition et concentration des milieux de prolifération, différenciation et réparation.**

Milieu de prolifération		Milieu de différenciation		Milieu de réparation	
Human IntestiCult OGM	10%	ADF	90%	ADF	45%
MiniGut	90%	MiniGut	10%	Human IntestiCult OGM	5%
A8301	500nM			MiniGut	50%
SB202190	10µM			A8301	250nM
EGF	8nM	EGF	8nM	SB202190	5µM
[Leu]15-Gastrin	10nM	[Leu]15-Gastrin	10nM	EGF	8nM
Nicotinamide	10µM	Nicotinamide	10µM	[Leu]15-Gastrin	10nM
N-acetylcystéine	1mM			Nicotinamide	10µM
Y27 (24h)	10mM			N-acetylcystéine	500nM



# ARTICLE

---





## **New human organoid model to study mitochondrial function involved in epithelial repair in the context of ulcerative colitis**

Sarah Rochdi<sup>1</sup>, Eunyeong Ahn<sup>1</sup>, Martin Bordet<sup>2</sup>, Véronique Desfourneaux<sup>2</sup>, Aude Merdrignac<sup>2</sup>, Fabien Foucher<sup>1</sup>, Roselyne Viel<sup>3</sup>, Anne Corlu<sup>1</sup>, Guillaume Bouguen<sup>4</sup> and Annaïg Lan<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Institut NUMECAN (Nutrition Métabolisme et Cancer), INRAE, INSERM, Univ Rennes, F-35000 Rennes, France.

<sup>2</sup> CHU Rennes, Univ Rennes, F-35000 Rennes, France

<sup>3</sup> Plateforme H2P2, 2 avenue du Pr Léon Bernard, CS 24317, 35043 Rennes Cedex, France.

<sup>4</sup> CHU Rennes, Univ Rennes, INSERM, CIC1414, Institut NUMECAN (Nutrition Metabolisms and Cancer), F-35000 Rennes, France

<sup>5</sup> UMR PNCA, AgroParisTech, INRAE, Université Paris-Saclay, Paris, France.

### **Correspondence:**

Annaïg LAN

Université Paris-Saclay, AgroParisTech, INRAE, UMR PNCA,  
91120, Palaiseau, France.

E-mail address: [annaig.lan@agroparistech.fr](mailto:annaig.lan@agroparistech.fr)

**Short title** : organoid model of ulcerative colitis

**Source of Funding:** Association François Aupetit, Fresenius Kabi

**Conflicts of Interest:** **GB** received lecture fees from Abbvie, Ferring, MSD, Takeda and Pfizer and consultant fees from Takeda, Janssen.

**Acknowledgements:** The authors acknowledge Mireille Desille-Dugast and Florian Cabilic as well as Sylvia Alix, Muriel Gervois and Delphine Leroux from the Centre de Ressources Biologiques (CRB) Santé of Rennes BB-0033-00056 for managing patient sample and for organoid media changes, respectively. They also thank Eloïse Lucas from University of Tours, for her help during her Master 1 trainee and Jérôme Lecardonnel from @Bridge platform for microarray processing.

**Keywords:** Ulcerative colitis, epithelial repair, mitochondrial function, human organoid model

## **Abstract**

Mucosal healing during ulcerative colitis (UC) is a prerequisite to prevent disease complications but mechanisms involved in epithelial repair remain poorly described. In particular, mitochondrial function is altered during UC, but its involvement in repair is poorly described. This work aimed to develop an *in vitro* UC model to study mitochondrial function during epithelial repair after stress induction mimicking UC conditions. Differentiated colonic organoids were treated with pro-inflammatory cytokines in hypoxia conditions to simulate UC conditions (UC stress) and epithelial repair was studied 48 h after. The UC stress organoid model was validated by increased gene expression of hypoxic and inflammatory markers. UC stress induced epithelial remodeling, in terms of epithelial cell composition and organoid polarity. A significant reduction of gene expression of respiratory chain complexes, and mitochondrial respiration was observed demonstrating mitochondrial dysfunction. Under repair conditions, mitochondrial function and associated metabolism were restored, as well as cell proliferation. These data demonstrate the ability of organoids to re proliferate after stress induction mimicking UC conditions. **Conclusions:** This study proposes a UC model able to reproduce mitochondrial dysfunction during an inflammatory episode following by epithelial repair. This model will help identify the pathways involved in epithelial repair, and potential molecular targets to help to restore mitochondrial function.

## *Introduction*

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory bowel disease, which affects the colon. Unremitting inflammation and acute relapse of UC drastically alter the patients' quality of life and may lead to complications or disease progression that ultimately may require surgery (Beaugerie et al. 2013; Stidham et Higgins 2018). The development of new therapeutic strategies improved disease outcomes but none are curative (Gajendran et al. 2019). About 60% of patients remain non-responder or relapse during treatment maintenance phase, which highlights the need to develop new therapeutical targets (Ungaro et al. 2017). Mucosal healing in UC emerged as a key therapeutic target for the prevention of disease complications (Peyrin-Biroulet et al. 2015b; Torres et al. 2020; Ungaro et al. 2017). Recent studies underlined a strong association between mucosal healing and sustained clinical remission, a decrease in hospitalizations, colorectal cancer incidence and surgery (Turner et al. 2021).

The cellular and molecular mechanisms involved in the repair of the intestinal epithelium during UC remain poorly understood. The cellular energy production needed to cover the increase in anabolic processes is probably a key feature to allow epithelial healing. (Lan et al. 2015) Epithelial cell turnover and restoration of colonic functions are essential to ensure colonic homeostasis, that mainly relies on mitochondrial ATP production. However, several studies showed impaired mitochondrial function in UC intestinal mucosa, defining this pathology as energy-deficient (W. E. Roediger 1980). Mitochondrial alterations were confirmed in several models (Santhanam et al. 2012; Shekhawat et al. 2007; Sifroni et al. 2010) to ultimately describe UC as a mitochondriopathy.(Haberman et al. 2019) Hypoxia and inflammation are two concomitant factors in the active phase of UC, which may alter mitochondrial function. Indeed, the infiltration of immune cells into the intestinal epithelium contributes to hypoxia by consuming oxygen (Colgan et al. 2020).

Fundamental and preclinical research projects in gastroenterology have long been hampered by the simplicity of the models used (single-cell culture from cancer/immortalized cells) or ethical limitations (use of animal models). There is a need to develop new models of

UC closer to the patient pathophysiological conditions to understand the metabolic, morphological and functional changes associated with the different phases of UC, and in particular, to assess epithelial mitochondrial function during mucosal healing. The objective of this work was to develop a human colonic organoid model mimicking UC epithelium to study the characteristics of mitochondrial function during inflammatory stress and epithelial repair.

### *Materials and methods*

#### **Human tissue sample**

Human samples were obtained from the processing of biological samples through the Centre de Ressources Biologiques (CRB) Santé of Rennes BB-0033-00056. The research protocol was conducted under French legal guidelines and fulfilled the requirements of the local institutional ethics committee. Surgically resected colon tissue (approximately 4 cm<sup>2</sup> of healthy margin of left colon surgical specimen) was obtained from 4 patients from the University Hospital Centre Pontchaillou, Rennes, France, in collaboration with the Service des Maladies de l'Appareil Digestif (SMAD).

#### **Organoid culture**

The colon mucosa was dissected and washed several times until the medium contains no visible debris, with cold PBS containing a mixture of antifungal and antibiotics (gentamycin/amphotericin B - 50-0640 Gibco; penicillin: P, 50 Units/mL - 100X - 15070-063 Gibco; streptomycin: S, 50 µg/mL - 15070-063 Gibco). To remove the mucus, the mucosa was scraped with Dumont forceps in a solution of dithiothreitol (DTT, 3 mM) and then incubated in a solution of EDTA (9 mM), DTT (3 mM), and Y27632 (10 mM), for 30 min under agitation at 50 rpm and at 4°C. After removal of the EDTA solution, the intestinal crypts were harvested in PBS containing 10 mM Y27632 and then 200-300 isolated crypts were embedded in matrigel® (Corning 354230). Crypts were cultured for one week in IntestiCult® OGM Human Stem Cell medium (Stemcell Technologies). After the first passage, organoids were cultured in a medium

containing 90% MiniGut medium (LWRN conditioned medium diluted to half in Advanced DMEM F12 (ADF) with 1% penicillin/streptomycin (Gibco), 2 mM Glutamine and 10% of fetal calf serum (FCS) supplemented with A8301 500 nM - Biogems 9094360, SB202190 10  $\mu$ M - Biogems 1523072, EGF 8 nM - Sigma-Aldrich E9644, [Leu]15-Gastrin 10 nM - Sigma-Aldrich G9145, Nicotinamide 10  $\mu$ M - Sigma-Aldrich N0636 and N-acetylcysteine 1 mM - Sigma-Aldrich A9165) and 10% Human IntestiCult® OGM. Organoids were passaged every week to amplify the culture by a factor of 4 with the addition of Y27632 in the medium during the first 24h after passage.

### **Treatments**

After 4 days of proliferation, the expansion medium was replaced with differentiation medium containing 90% ADF+ (Advanced DMEM F12, 20% FCS, 2 mM glutamine, P/S) and 10% MiniGut medium (supplemented with 10 nM [Leu]15-Gastrin, 8 nM EGF, and 1 mM N-acetylcysteine) for 48h. Organoids were then treated for 24h with pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$ , 10  $\mu$ M each - Sigma Aldrich) in the differentiation medium and under hypoxic conditions at 1% oxygen (three-gas incubator MiniGalaxy A – RS Biotech), termed UC Stress. The repair of colon epithelium was then induced for 48h after the UC stress in a specific repair medium (mix of differentiation medium and proliferation medium, 50 : 50, v:v) (Fig. 1A). All organoids analyzed here were harvested after 7 days of culture, whether treated, differentiated, or proliferating. Phenotype of the organoids was verified by measuring gene expression of the intestinal stem cell markers *LGR5*, the proliferation ones *KI67* and the differentiation markers of absorptive cell *ATP1A1* and of muco-secretant cell *Muc2*. HES and PAS staining were performed, as well as immunohistochemical staining for KI67. Data are presented in Supp. Fig. 1.

### **Bioenergetic analysis**

Mitochondrial oxygen consumption rate (OCR) was assessed using the Seahorse XFe24 analyzer and Mito Stress Test Kit (Agilent) according to the manufacturer's instructions and

Guerbette et al. 2023 protocol. After treatment, organoids were harvested, seeded in cell culture 24 wells microplate precoated (10% matrigel and 90% XF Assay Medium (Seahorse Bioscience)). The medium used for the rest of the experiment was XF Assay Medium (Seahorse Bioscience), supplemented with 1 mM pyruvate, 2 mM glutamine, and 10 mM D-glucose. The OCR was measured at baseline to determine basal respiration and after injection of oligomycin (20  $\mu$ M), carbonyl cyanide p-trifluoromethoxy-phenylhydrazone (FCCP, 20  $\mu$ M), and antimycin A/rotenone (5  $\mu$ M) to determine non-mitochondrial respiration, maximal respiration, spare respiratory capacity, ATP production and coupling efficiency. Three measurement cycles of oxygen consumption rate (OCR) and extracellular acidification rate (ECAR) were performed at basal state before any injection. Measurements consisted of cycles of 3 min mix, 2 min wait, and 3 min measurement after each injection. At the end of the assay, cells were fixed and the OCR measurements were normalized by the number of cells in each well, following fluorescence measurement of DNA labelling with Hoescht (ThermoFisher 33258, Excitation / Emission: 352 / 461 nm, FLUOstar Omega BMGLabtech, POLARstar, plate reader). OCR and ECAR measurements were used to calculate proton efflux rate and ATP production rate according to Agilent Seahorse Real-Time ATP Rate Assay instructions (Agilent Seahorse XFp Real-Time ATP Rate AssayKit - User Guide - Kit 103591-100).

### **Cytotoxicity analysis, IL-8 and ROS measurements**

After treatment, supernatants of organoid cultures were harvested and the cytotoxicity evaluated by measuring lactate dehydrogenase (LDH) activity with LDH-Glo<sup>TM</sup> Cytotoxicity Assay (Promega, REF: J2380 and J2381), according to the manufacturer's instructions. The luminescence was measured with a plate reader (POLARstar, Gain: 3600, Emission filter: 540 nm). The concentration of CXCL8/IL-8, in the culture supernatant of the different conditions was measured using DuoSet<sup>®</sup> ELISA kit (R&D Systems, Abingdon, UK), according to the manufacturer's instructions. ROS were detected using 10 $\mu$ M H<sub>2</sub>DCFDA (ThermoFisher scientific, D399). Organoids were harvested and incubated for 30 min at 37°C and protected from light. Then, organoids were centrifugated at 290 g for 5 min and resuspended in PBS.

Measurement of DCF fluorescence intensity at ex485/em590 using the POLARstar Omega microplate reader (BMG Labtech) allowed ROS detection. Results were normalized by fluorescence intensity measurement after Hoechst staining.

### **RNA, DNA extraction**

Total RNA and DNA were extracted using NucleoSpin® Tri Prep kit (Macherey-Nagel, REF: 740966.250) according to the manufacturer's instructions. RNA and DNA quantity and purity were assessed with a spectrophotometer (ND-1000 Spectrophotometer, ThermoFisher).

### **Quantitative reverse transcription PCR analysis**

Total RNA (500ng) was reverse-transcribed using High Capacity cDNA kit (ThermoFisher, REF: 4368813), according to the manufacturer's instructions. Quantitative real-time PCR (RT-qPCRs) was then performed using the fluorescent dye SYBR Green method, with Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied biosystem, REF: 4367659) in 384-well plates on qPCR QuantStudio 7 flex (ThermoFisher).

The gene expression fold change relative to the control condition was calculated with the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. The housekeeping gene used was human Hypoxanthine Guanine Phosphoribosyl Transferase (*HPRT*). Primer sequences are available on request.

Mitochondrial mass was determined by calculating the DNA relative level of mitochondrial / nuclear genes (*COX1* / *Actin b*).

### **RNA labeling and microarray processing**

All conditions (Ctrl, UC stress, Ctrl repair and UC repair) was processed in triplicate. All steps were performed by the @BRIDGE facility (INRAE Jouy-en-Josas, France, <http://abridge.inra.fr/>). Cyanine-3 (Cy3) labeled cRNA were prepared using 100 ng of total RNA using the One-Color Low Input Quick Amp Labeling kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) following the recommended protocol. Specific activities and cRNA yields were determined using the NanoDrop ND-2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). For



each sample, 600 ng of Cy3-labeled cRNA (specific activity > 6.0 pmol Cy3/μg of cRNA) were fragmented at 60°C for 30 min in a reaction volume of 25 μL containing 25x Agilent Fragmentation Buffer and 10x Agilent Blocking Agent, following the manufacturer's instructions. Subsequently, 25 μL of 2x Agilent Hybridization Buffer were added to the fragmentation mixture and hybridized to the SurePrint G3 Human Gene Expression v3 8x60K Microarrays (Agilent Technologies, AMADID: 072363) for 17 h at 65°C in a rotating Agilent hybridization oven (Agilent Technologies). After hybridization, microarrays were washed 1 min at room temperature with the GE Wash Buffer 1 (Agilent Technologies) and 1 min at 37°C using the GE Wash Buffer 2 (Agilent Technologies), then dried immediately. Immediately after washing, the slides were scanned using a G2565CA Scanner System (Agilent Technologies), which used a scan protocol with a resolution of 3 μm and a dynamic range of 20 bit. The resulting .tiff images were analyzed with the Feature Extraction Software v12.0.3.2 (Agilent Technologies), using the GE1\_1200\_Jun14 protocol. Differential analysis of transcriptomic data was performed with the Bioconductor R package Limma. Data were normalized with a log<sub>2</sub> transformation, centered by array and replicate spots were averaged. Correction for multiple testing was done with the Benjamini-Hochberg procedure. Principal component analysis and hierarchical clustering confirmed that sample 5 (Ctrl Repair) is an outlier, due to technical problem during hybridization (Supp. Fig. 2). It has been removed from further analysis. Differentially expressed genes selected with the adjusted p-value cut-off < 0.05 were used for pathway analysis using Ingenuity Pathway Analysis Software (Qiagen). A flow diagram of the transcriptome analysis is presented in Supp. Fig. 3. Results are considered as significantly expressed with  $-1.5 < \text{Log Fold Change (FC)} > +1.5$  and a p-value cut off < 0.05.

#### **Protein extraction and western blot**

Organoids were harvested in RIPA lysis buffer and sonicated 3 times for 10 s. After centrifugation, the supernatant was recovered for protein concentration assay with the Thermo Scientific™ Pierce™ BCA™ Protein Assay Kit. Fifteen μg of proteins were diluted with Laemmli buffer and heated at 56 °C for 20 min before being separated by SDS-PAGE using NuPAGE™

4-12% Bis tris Gel (Invitrogen, REF: NP0321BOX). Proteins were transferred to nitrocellulose membrane (Bio Rad, REF: 1704271) and blocked in 3% milk in TBST (10 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 0.03% Tween 20) for 1h at room temperature and thereafter incubated at 4 °C overnight with primary antibodies solutions in TBST with BSA 1%: total OXPHOS Human Cocktail - Abcam ab110411 (1/1000<sup>e</sup>) and HSC70 - Santa Cruz sc-7298 (1/1000<sup>e</sup>). Membranes were washed with TBST, incubated for 1h with appropriate secondary antibodies, washed with TBST, and then visualized by enhanced chemiluminescence (SuperSignal™ West Dura Extended Duration Substrate – ThermoScientific).

### **Immunocytochemistry and imaging**

For imaging, organoids were fixed in 4% formaldehyde (Thermo Scientific, REF: 28908) for 1h30 at room temperature. Organoids were then centrifugated, washed three times with PBS with 0.1% Triton X-100 (Eurobio, REF: GAUTTR00-01), and stored in 70% ethanol at 4°C. Primary ( $\beta$ -catenin - BD Bioscience, 610154, 1/200<sup>e</sup>) and secondary (Alexa 488 mouse) antibodies were diluted in PBS with 0.2% Triton and 10% FCS solution. DNA and actin were labeled together with 10 $\mu$ g/mL of Hoechst (ThermoFisher 33258, Excitation / Emission: 352 / 461 nm) and Rhodamin-Phalloidin (Invitrogen A12381, Excitation / Emission: 581 / 609 nm), respectively. Image acquisition was performed using 365nm, 470nm and 590nm lasers controlled by Colibri 2 Control Unit (Carl Zeiss), and Axiocam MRm camera (Carl Zeiss). The images were processed on Fiji / ImageJ. The images of organoids were acquired by confocal microscopy with Inverted Leica DMI8 microscope driven by Inscoper Imaging Suite with Spinning-disk CSU-X1 (YOKOGAWA) EmCCD camera after staining with NucBlue™ Live ReadyProbes™ (Hoechst 33342) and 50nM MitoTracker Invitrogen™ Deep Red FM. To evaluate epithelial barrier function, organoids were incubated with 100 mg/mL of Na-fluorescein (Sigma Aldrich F6377) for 2h30 at 37°C, and images were analyzed on a CellCyteX with a X4 lense.

For immunocytochemistry, organoid pellets were recovered by centrifugation, then reagents (Cytoblock shandon) were added before embedding. Paraffin-embedded samples

were sectioned at 4  $\mu\text{m}$  using a microtome. For HES staining, rehydrated sections were stained with Gill 2 hematoxylin (2 min), cytoplasm with aqueous eosin (2 min) and connective tissue with alcoholic saffron (1 min), for nuclei, cytoplasm and connective tissue, respectively. For immunostaining paraffin-embedded tissue was cut at 4  $\mu\text{m}$ , mounted on positively charged slides and dried at 58°C for 60 min. Immunohistochemical staining for KI67 (ab16667 - Abcam - dilution at 1/200), ZO-1 (Invitrogen 402200 - dilution at 1/100), TOMM20 (ab186735- Abcam - dilution at 1/5000) or Occludin (Thermofisher 710192 - dilution at 1/100) was performed on the Discovery ULTRA Automated IHC stainer (ROCHE) using the Ventana ne detection kit (Ventana Medical Systems). Following deparaffination with Discovery wash solution (Ventana) at 75 °C for 8 min, antigen retrieval was performed using Ventana proprietary, Tris-based buffer solution pH8, at 95°C to 100°C for 40 min. Endogen peroxidase was blocked with 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 12 min. After rinsing, slides were incubated at 37°C for 60 min with primary antibody. Signal enhancement was performed secondary antibody at 37°C for 16 min and DISCOVERY Rhodamine Kit (542-568nm) for 8 min. To visualize the nucleus DAPI staining was added and coverslipped.

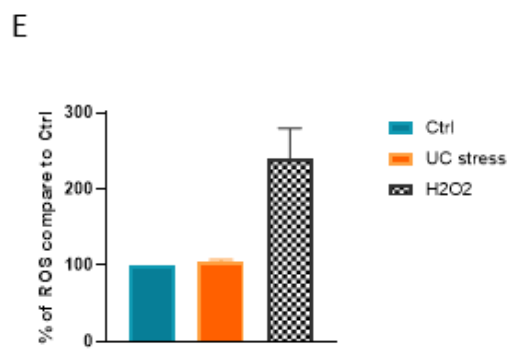
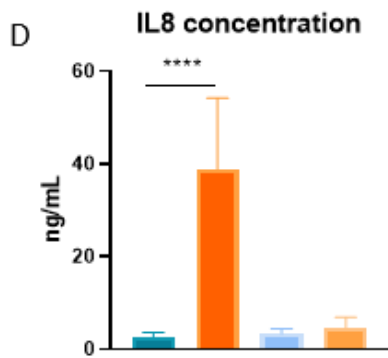
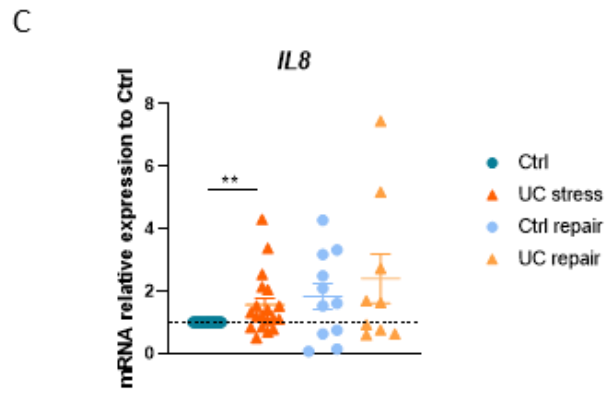
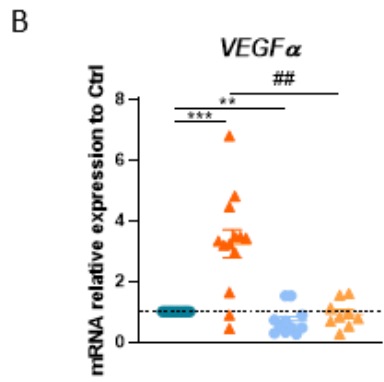
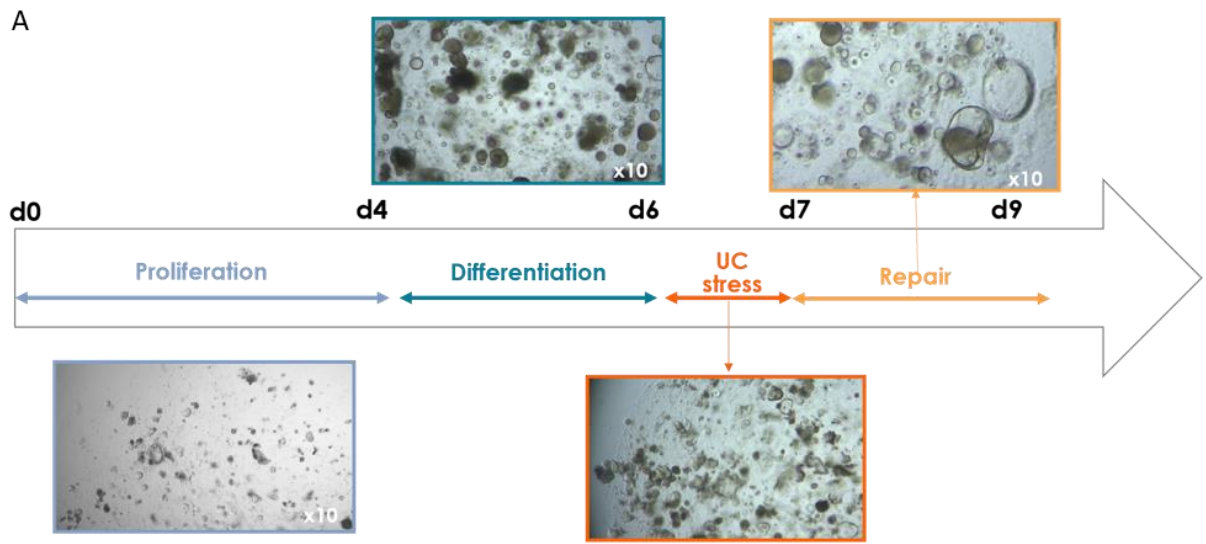
### **Statistical analysis**

Data are expressed as the median  $\pm$  95 confidence interval (CI). Analyses were performed using GraphPad Prism 8. Treatment interactions were compared using a Kruskal-Wallis test. Statistical significance was determined by Mann and Whitney test. A p-value less than 0.05 is considered statistically significant.

## Results

### ***Differentiated human colon organoids reversibly respond to hypoxia and inflammatory concomitant stresses used to reproduce UC conditions***

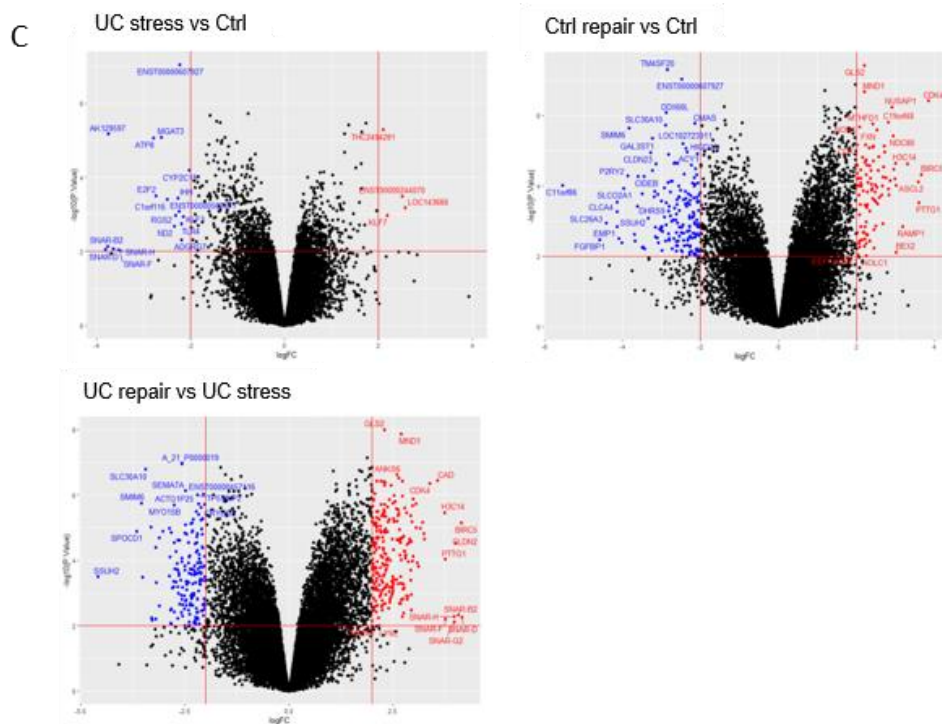
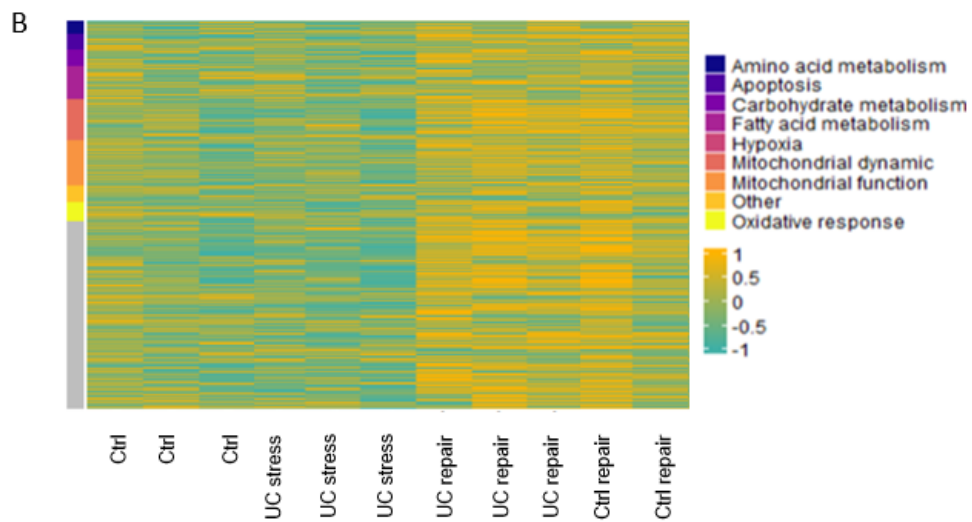
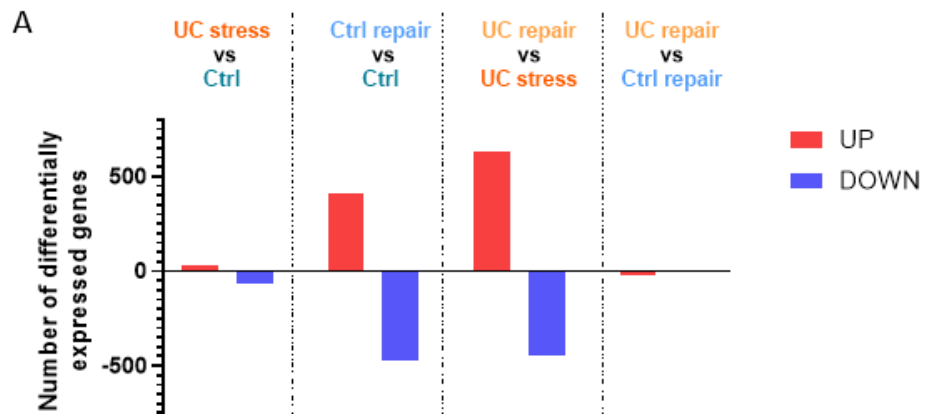
UC stress induction was first assessed by gene expression of hypoxia and inflammatory markers (Fig.1B-C). Gene expression of vascular endothelial growth factor  $\alpha$  (*VEGF $\alpha$* ) was 4-fold higher in the UC stress condition compared to Ctrl indicating effective hypoxia induction after 24h of stress (Fig.1A-B). *VEGF $\alpha$*  expression returned to its initial level in Ctrl repair and Stress repair conditions after treatment with repair medium in normoxia conditions for 48h. Treatment with pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  increased *IL-8* gene expression and its concentration in culture supernatant as compared to Ctrl (Fig.1C-D). IL-8 supernatant concentration returned to its basal value after 48h in repair medium. This pro-inflammatory response was not associated with oxidative burst since ROS production remained unchanged under UC stress condition (Fig. 1E).



**Fig. 1: Confirmation of UC stress induction in differentiated human colon organoids.**

(A) Experimental protocol (B) Gene expression of hypoxia marker vascular endothelial growth factor  $\alpha$  (*VEGF $\alpha$* ) and (C) Inflammatory marker Interleukin 8 (*IL8*) expression, measured by RT-qPCR after 24h of UC stress and expressed as relative mRNA expression to untreated differentiated organoids (Ctrl). (D) Interleukin 8 concentrations in organoid culture supernatant after 24h of UC stress. (E) Measurement of ROS as a percentage of Ctrl condition compare to a positive control hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ). Results are shown as a median with 95 CI with \* vs Ctrl and # vs UC stress and \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  \*\*\*\* $P < 0.0001$ . N=4 patient-derived organoid cultures and triplicates for each condition were analyzed.

These responses coincided with a massive transcriptomic response in UC organoid model during stress and repair (Fig. 2) with 90, 832, 1002 and 2 differentially expressed genes ( $-1.5 < \log \text{Fold Change} < +1.5$  ; adjusted p-val  $< 0.05$ ) in UC stress vs Ctrl, Ctrl Repair vs Ctrl, UC Repair vs UC Stress and UC Repair vs Ctrl Repair conditions, respectively (Fig. 2A). Top genes up- and down-regulated for each comparison is shown in Fig. 2C and Tables 1-5. These genes were notably involved in metabolism, response to hypoxia and mitochondrial function (Fig. 2B).



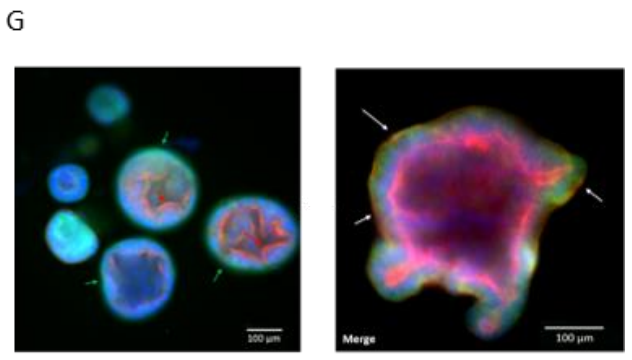
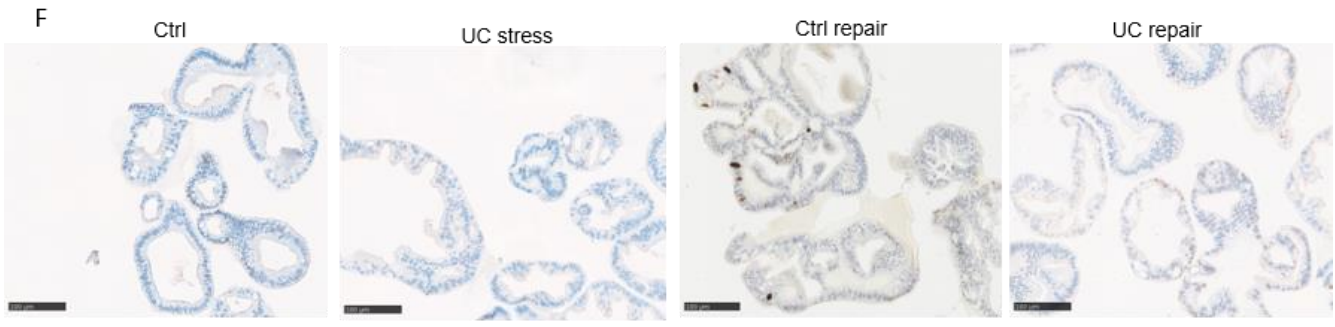
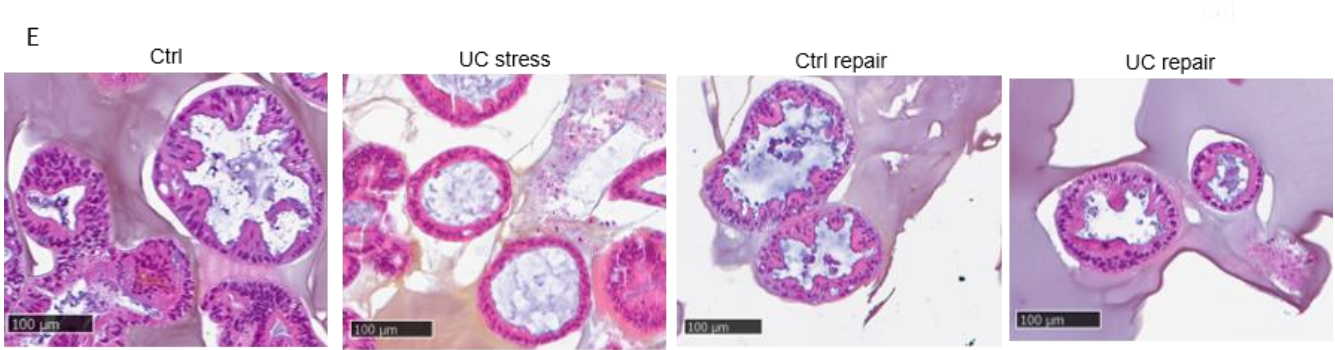
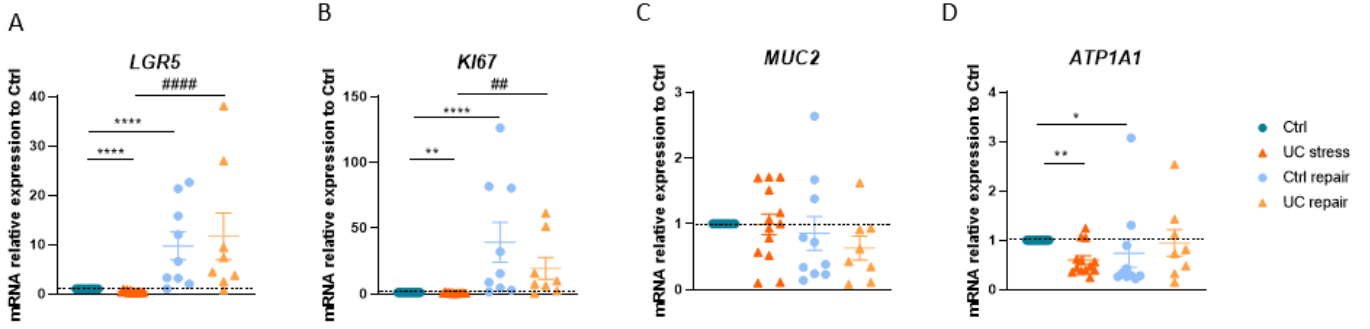
**Fig. 2: Transcriptomic signatures of human colon organoids after UC stress and repair.** (A) Number of differentially expressed genes and heatmap representation of genes related to mitochondria and metabolism ( $-1.5 < \text{Log Fold Change} < +1.5$  and adjusted p-val  $< 0.05$ ). (B) Heat map of mitochondria-related up and down genes regulated with cut-off values of  $1.5 < \text{FC} < -1.5$  and p-val  $< 0.05$ . (C) Representation of differentially expressed genes by volcano plot ( $-2 < \text{Log Fold Change} < +2$ , adjusted p-val  $< 0.01$ ). UC Rep vs CTRL Rep is not presented since only one gene (TNS4) was significant with such cut-off. N=3 patient-derived organoid cultures were analyzed.



### ***UC stress induces epithelial changes that are restored during repair***

Gene expression of stem, proliferative and absorptive differentiated cells (*LGR5*, *KI67* and *APT1A1*, respectively) were decreased by 25 to 50% in the UC stress condition compared to Ctrl, whereas the muco-secretant cell marker *Muc2* was not modified (Fig. 3A-D). Lactate dehydrogenase (LDH) activity measurement did not reveal cytotoxicity under UC stress conditions (data not shown) indicating that UC stress effects on the cell populations was not related to cell death induction. In repair conditions, *LGR5* and *KI67* gene expression were increased compared to UC stress condition, indicating the ability of organoids to proliferate again (Fig.3A-B). Interestingly, transcriptomic analysis between Ctrl repair and UC repair conditions showed only 2 genes differentially regulated (*IL-33* and *TNS4*) (Table 5), suggesting the *ad integrum* restitution of organoid features following stress. Numerous genes involved in cell cycle progression were indeed up-regulated in both UC and CTRL repair conditions, in accordance with the composition of the repair medium (Supp Fig. 4).

Histological analysis by HES staining showed little difference in organoid morphology under UC stress conditions compared to Ctrl (Fig. 3E). KI67 positive immunostaining was observed only in repair conditions contrary to control and UC Stress condition, suggesting the persistence of proliferative cells in differentiated organoids (Fig. 3F). Polarity inversion was observed in 32 of 124 organoids in response to UC stress, suggesting epithelial remodeling of organoids (Fig. 3G). Indeed, immunocytochemical labeling of  $\beta$ -catenin expressed at the basal pole in the Ctrl condition and of phalloidin which is expressed at the apical pole in Ctrl, was inverted in one quarter of UC stressed organoids.



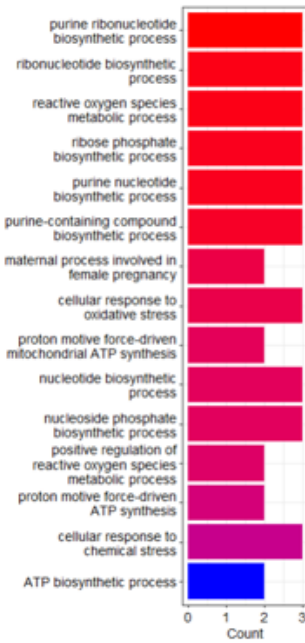
**Fig. 3: UC stress and repair effects on epithelial populations of human colon organoids.** (A-D) Relative gene expression of epithelial intestinal markers in Ctrl, UC stress, Ctrl repair and UC repair conditions of differentiated organoids by RT-qPCR analysis: (A) stem cell marker *LGR5*, (B) proliferative cell marker *KI67*, (C) goblet cell marker *Muc2* and (D) absorbant cell marker *ATP1A1* expression. Results are shown as median with 95 CI. (E) HES staining and (F) KI67 immunostaining representative histological images for each group conditions. (G) Representative images of organoid polarity after cytoskeleton staining with phalloidin to visualize apical F-actin (red), immunostaining of basolateral  $\beta$ -catenin (green) and nuclear counterstaining with Hoechst (blue) on colon organoid sections in Ctrl and UC stress conditions. Inverted organoid is shown by white arrow with overlay staining of red and green. Independent triplicates for each condition of N=4 patient-derived organoid cultures were analyzed. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ . \*Compare to Ctrl #Compare to UC stress.

### ***UC stress targets mitochondria and induced mitochondrial dysfunction***

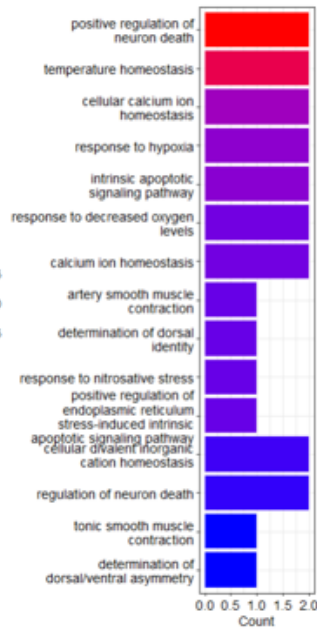
Functional analysis on significant upregulated genes revealed that the most enriched GO terms were response to hypoxia, response to oxygen levels and stress response (Fig. 4A). Inversely, cellular functions related to biosynthetic processes and ATP synthesis were particularly down-regulated (Fig.4A). A focus on mitochondrial genes revealed a down-regulation of genes involved in mitochondrial function and dynamics in the UC stress condition compared to Ctrl (Fig. 4B).

To confirm these data on mitochondrial function, the expression of genes involved in OXPHOS were measured (Fig. 4C). Gene expression measurement of mitochondrial ETC subunits revealed a significant reduction ranging from 20% to 65% of complexes (*NDUFS1*, *SDHD*, *UQCRB*, and *COX1*) in the UC stress condition compared to Ctrl, that was also confirmed by western blot (Fig. 4D). Gene expression of the master regulator of mitochondrial biogenesis PPAR  $\gamma$  coactivator 1 alpha (*PGC1 $\alpha$* ) measured by RT-qPCR was also twice lower in the UC stress condition (median: 0.5 [0.3 ; 0.7]<sub>C195</sub>) compared to Ctrl ( $p < 0.0001$ ).

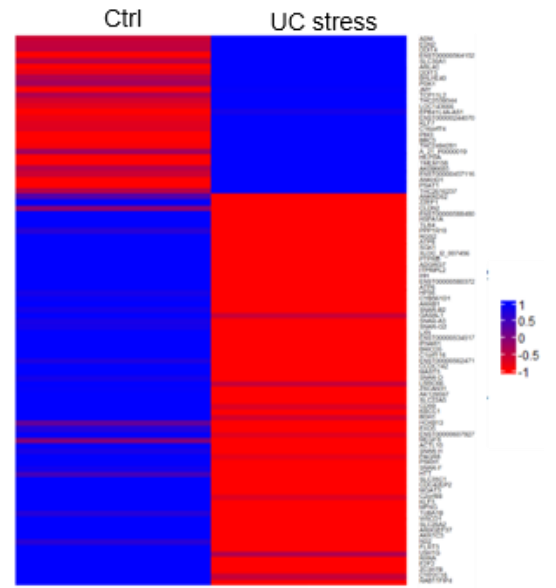
**A Down regulated**



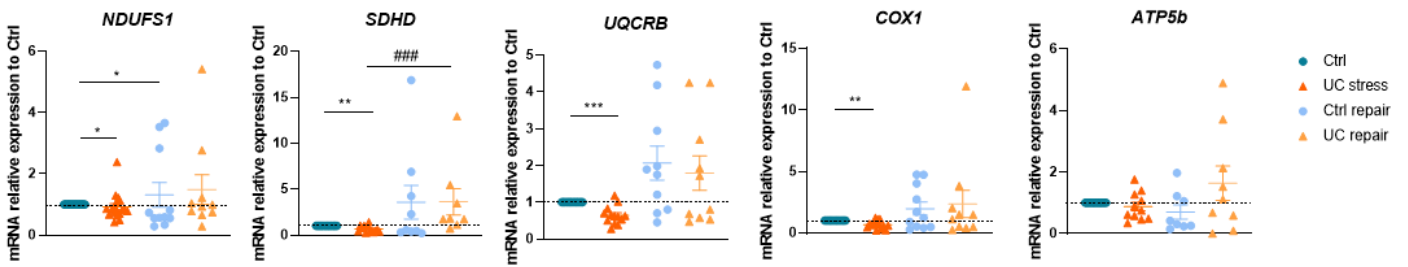
**Up regulated**



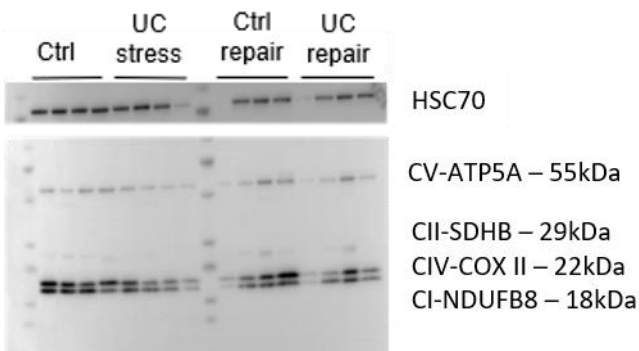
**B**



**C**



**D**

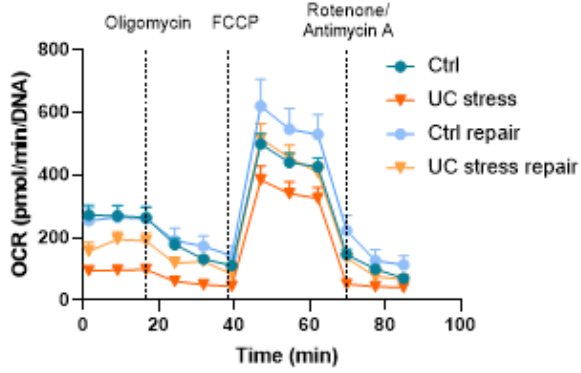


**Fig. 4: UC stress induction on related markers of mitochondrial function.** (A) Top enriched down- and up- regulated GO biological process terms in UC stress vs Ctrl comparison. (B) Heat map of mitochondria-related up and down genes regulated in UC stress compared to Ctrl conditions. (C) Relative gene expression of mitochondrial OXPHOS subunits in Ctrl, UC stress, Ctrl repair and UC repair conditions with complex I: NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit (*NDUFS1*), complex II: Succinate dehydrogenase complex D (*SDHD*), complex III: Ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein (*UQCRB*), complex IV: Cytochrome c oxidase (*COX1*) and complex V: ATP synthase F1  $\beta$  (*ATP5b*). Relative mRNA expression are shown as median with 95 CI with \* vs Ctrl and # vs UC stress and \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ . Independent triplicates for each condition of N=4 patient-derived organoid cultures were analyzed (D) Representative images of Western Blot analysis expression of mitochondrial OXPHOS subunits performed on Ctrl, UC stress, Ctrl repair and UC repair.

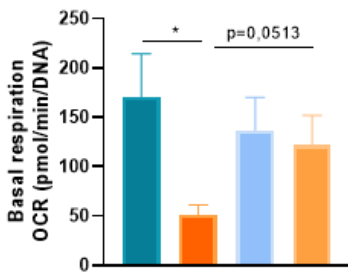
Bioenergetic analysis by Seahorse® revealed UC stress-induced impairment of mitochondrial function. A significant reduction of basal and maximal respirations was observed, indicating mitochondrial dysfunction (Fig. 5 A-C). Although respiration linked to ATP production, tended to be lower in UC stress conditions, the coupling efficiency was increased (Fig. 5E) allowing similar level of ATP production in UC stress condition (Fig. 5F). The energetic map (Fig. 5G) revealed a slightly more quiescent and glycolytic phenotype under UC stress conditions than Ctrl. Interestingly, transcriptomic analysis showed that PDK1 expression was increased by a 4-fold factor (Table 1) in UC stress conditions compared to Ctrl.

Although mitochondrial respiration was impaired, no difference in mitochondrial mass was observed (Fig. 5H). These results are illustrated by MitoTracker (red) labelling of mitochondria by confocal microscopy (Fig. 5I) and TOMM20 immunostaining, showing no difference between Ctrl and UC stress conditions (Fig. 5J). In addition, mitochondrial dysfunction induced by UC stress did not impact localization of the tight junction proteins Occludin and Zonula Occludens-1 (Fig. 6A), nor affect epithelial permeability as evidenced by, a FD4 permeability test performed on the Ctrl and UC stress conditions (Fig. 6B).

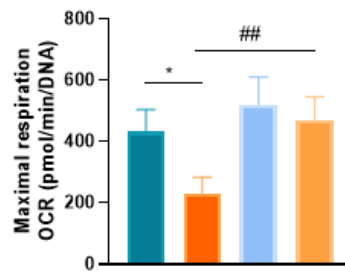
A



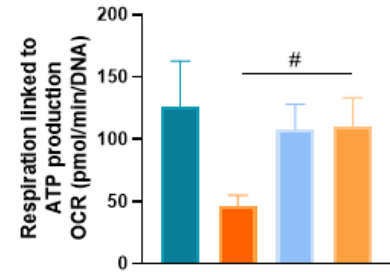
B



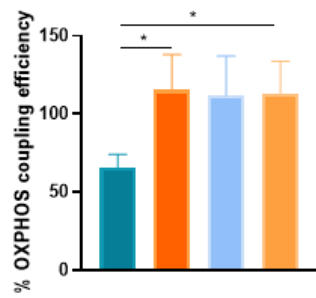
C



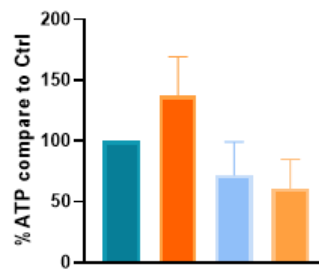
D



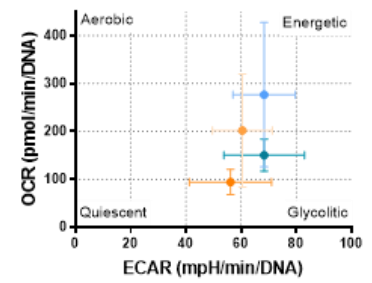
E



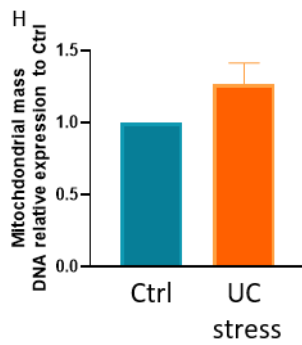
F



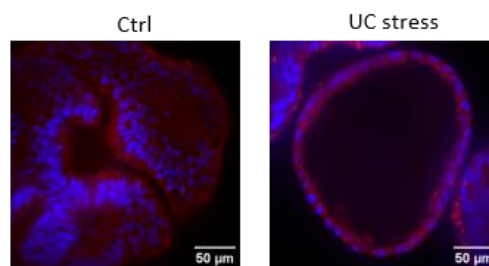
G



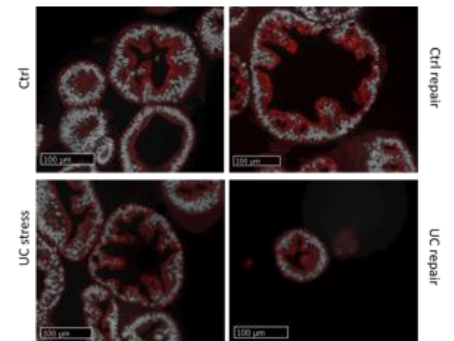
H



I



J



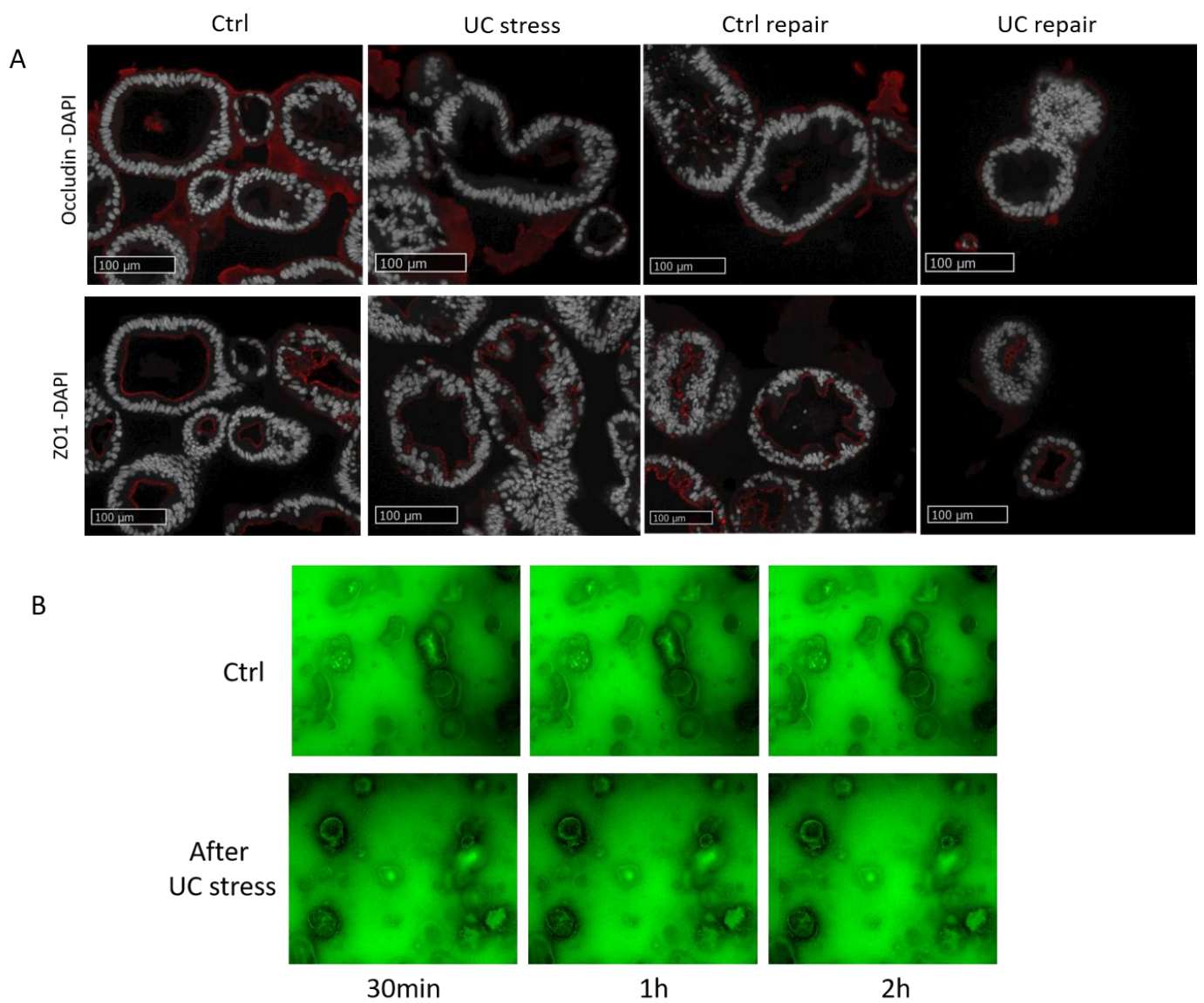


**Fig. 5: Mitochondrial function analysis of human colon organoids after UC stress induction and repair.** (A-E) : Bioenergetic analysis with Cell Mito Stress Protocol: (A) Oxygen consumption rate (OCR) profile organoids after sequential injection of oligomycin (20 $\mu$ M), carbonyl cyanide p-trifluoromethoxy-phenyldydrazone (FCCP, 20 $\mu$ M), and antimycin A/rotenone (5 $\mu$ M) with Seahorse® XF24; (B) Basal respiration; (C) Maximal respiration; (D) Respiration linked to ATP production and (E) Coupling efficiency. (F) Measurement of ATP level as a percentage of Ctrl. (G) Energy map of organoids in Ctrl, UC stress, Ctrl repair and UC repair conditions obtained from OCR and ECAR measurements by Seahorse®. (H) Mitochondrial mass related to DNA *COX1/actin* b expression. Results are shown as median with 95 CI with \* vs Ctrl and # vs UC stress and \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ . Independent triplicates for each condition of N=4 patient-derived organoid cultures were analyzed. (I) Organoids in Ctrl and UC stress conditions imaged by confocal microscopy with Nucblue (blue) and Mitotracker™ (red) dyes for nucleus and mitochondria staining, respectively. (J) Histological analysis with TOMM20 immunostaining (red) and counterstained with DAPI (white) in each condition.

### ***Epithelial repair is induced after UC stress***

Despite a severe impairment of mitochondrial respiration during UC stress, mitochondrial parameters related to oxygen consumption were restored in repair conditions and similar to Ctrl repair. A trend towards an increased basal respiration was observed ( $p=0.0513$ ), and maximal respiration as well as respiration linked to ATP production were doubled in UC repair condition compare to UC stress (Fig. 5A-D). This restoration of mitochondrial function is in line with an increase of *PGC1 $\alpha$*  by a 3-fold factor in the UC repair condition (median 1.5 [0.6 ; 8.3]<sub>IC95</sub>) compared to UC stress (median 0.5 [0.3 ; 0.7]<sub>IC95</sub>). Similarly, gene expression measurement of mitochondrial ETC subunits tended to increase in the repair condition after UC stress, but only *SDHD expression* (complex II) was significantly changed increased (Fig. 4C). Altogether, these data showed restoration of mitochondrial function in repair condition

after stress. Transcriptomic analysis accordingly showed a few differentially expressed genes between UC repair and Ctrl repair condition (Supp Fig. 5). However, when UC Repair vs Ctrl list of significant genes was compared Ctrl Repair vs Ctrl, different transcriptional signatures appeared, including mitochondrial function, lipid metabolism and immunity (Table 6). Among them, several genes related to mitochondria (*MRPL4*, *UQCC2*, *TIMM 9 and 21*, *NDUFAF4*, *NT5M*, *TOP1MT*, *MRPL24*) were upregulated UC Repair vs Ctrl comparison compared to Ctrl Repair vs Ctrl, indicating that mitochondria was effectively impacted by UC condition and suggesting the need of an increase in mitochondrial processes during repair after UC stress. In addition, IL-33, the Rho GTPase CDC42 effector protein 1, some genes involved in lipid metabolism such as *FABP5* and *EBPL*, as well as spermidine synthase and metallothionein encoding genes (Table 6) were only differentially regulated in UC Repair vs Ctrl comparison when compared to Ctrl Repair vs Ctrl ones.



**Fig 6. Impact of UC stress on epithelial barrier of human colon organoids after UC stress and repair.** (A) Immunostaining of occludin and Zonula occludens 1 (ZO1) counterstained with DAPI on histological sections. (B) Permeability assay following incubation with Na-fluorescein by CellCyte microscopy.

## Discussion

The model developed in the current study on human colonic organoids allowed to assess epithelial gene expression changes and mitochondrial related events following a stress mimicking UC condition. Indeed, by concomitantly treating differentiated organoids with hypoxia and inflammatory stresses, this model reproduced UC physiopathological conditions as observed in the mucosa of flaring UC patients (Dengler et al. 2021) and induced a mitochondrial dysfunction specific to UC (Sifroni et al. 2010; Santhanam et al. 2012).

The differentiated colon organoid model allowed to reproduce mature epithelium with the different cell phenotypes that are present in the colonic crypts. UC stress appeared to reduce stem cell population, proliferative pool and the differentiation of cells with an absorptive phenotype in organoids. In contrast after UC stress, a return to healthy epithelium was histologically observed in UC repair compared to Ctrl repair and confirmed by transcriptomic analysis. In repair condition, only the markers *LGR5* and *KI67* were increased in accordance with the medium used, indicating the ability of organoids to re proliferate. Massive induction of pathways related to cell cycle and mitosis was indeed observed, indicating high level of colon epithelial cell proliferation, allowing repair.

A clear mitochondrial dysfunction was observed following UC stress as observed by gene expression and seahorse analysis. UC has been described as a disease of mitochondrial-related energy deficiency (W. E. Roediger 1980). In our study, gene expression of some subunits of the mitochondrial respiratory chain was decreased in response to UC stress for all complexes and transcriptomic analysis showed a down regulation of *ATP6* and *ATP8* gene expression. These results are in line with mitochondrial alterations in colon mucosa of UC patients. Indeed, Sifroni et al. showed a 50-60% decrease in complex II, III, and IV activities in biopsy samples (Sifroni et al. 2010) as well as Santhaman et al. who also confirmed a decrease in complex II gene expression.(Santhanam et al. 2012) In addition to gene expression, bioenergetic analysis revealed the impairment of mitochondrial function, that might be directly related to the hypoxic stress. However, ATP production was not significantly impacted,

indicating induction of alternative pathway to fulfill energy requirement such as glycolysis (as evidenced by PDK1 increased expression and slight glycolytic energetic state). Increased carbohydrate metabolism could be a logical response to hypoxia to compensate the lack of energetic supply by OXPHOS in this condition. In fact, hypoxia activates inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), which activates the transcription of genes coding for proteins in oxygen-independent energy production pathways such as glycolysis (Semenza 2017). We indeed recently showed that such adaptation occurred in a chemically-induced colitis mouse model (Lan et al, 2023). Nevertheless, additional experiments in this model assessing glycolysis would help to clarify this point, as well as the ability to use other energetic substrates. Interestingly, spermidine synthase was downregulated by UC stress and its expression was restored in UC repair group. Previous studies demonstrated the importance of polyamine for proliferation and wound healing in the intestinal epithelium (Lux, Marton, et Baylin 1980). Polyamine metabolism has also been recently shown to regulate epithelial proliferation (Nakamura et al. 2021).

This work also demonstrated that mitochondrial alterations appeared reversible in our model since all the bioenergetic parameters were backed to baseline values in the repair condition. These results are in line with the expression of mitochondrial related proteins, including respiratory chain subunit complexes and functional transcriptomic analysis. Interestingly, OXPHOS was not decreased in repair condition compared to Ctrl ones whereas cell state was different. Indeed, metabolism of proliferative cells mainly relies on glycolysis while differentiated cells use OXPHOS (Rodríguez, Ruigómez, et Panés 2006). Further mitochondrial analysis, at both energetic and ultrastructural levels, will be needed to fully characterize changes that allow mitochondrial function restoration.

The change of IEC environment and the modification of cell substrates may be a way to optimize repair through an improve of mitochondrial metabolism that remains to be tested. Of note, organoids subjected to UC`stress (hypoxic conditions) were placed in normoxic conditions during the repair phase. Limitation of hypoxia may also play a role in the epithelial repair process, by limiting mitochondrial dysfunction and conversely enables mitochondrial

energy production *via* OXPHOS. Sildenafil was tested for this purpose related to its anti-inflammatory and antioxidant properties. However it is first a vasodilator which increase vascular flow, and consequently oxygen tissue level (El-Tanbouly et Abdelrahman 2022).

Several other potential targets for repair were identified such as IL-33, the Rho GTPase CDC42 effector protein 1, and genes involved in lipid metabolism (FABP5, EBPL). IL-33 might be a promising therapeutic target in the mucosal healing process. IL-33 has been shown to alleviate colitis and to favor colon repair in mice by promotion of M2 macrophage development, stimulation of goblet cell differentiation (Seo et al. 2017) and the induction expression of miR-320 which increase epithelial restitution and repair (Lopetuso et al. 2018).

A polarity inversion and cellular rearrangement in our model in response to stress was observed. These results were also found in another model of organoids treated without hypoxia with inflammation alone on organoids generated from IBD patients (d'Aldebert et al. 2020a). Polarity inversion did not seem to alter organoid permeability. In fact, the absence of permeability loss in UC stress condition may be explained by permissive tight junction claudin-2 expression, 4-fold less compared to Ctrl. Although organoid polarity was not studied under repair conditions, restoration of organoid polarity might be related to CD42 effector protein 1. The gene expression of this member of the Rho GTPases, which plays a crucial role in regulating multiple cell functions including cell shape, polarity, proliferation, invasion, migration and differentiation (Melendez, Grogg, et Zheng 2011), in particular, apical-basal polarity control of stem cell and transit amplifying cell (Zhang et al. 2022), was indeed increased in UC repair conditions.

In conclusion, this UC organoids model allows to assess events involved in mucosal healing at the epithelial level. Bioenergetic mechanism including mitochondrial function seems to play a key role in repair conditions. This suggest the need for further studies that focus on boosting mitochondrial function to improve and maintain epithelial healing.

## Tables

**Table 1: Top 10 list of up- and down-regulated genes between UC stress and CTRL comparison (-1.5 < log Fold Change < +1.5 ; adjusted p-val < 0.05)**

Gene symbol	Gene Name	logFC	Pvalue
<i>DDIT4</i>	DNA damage inducible transcript 4	2.865	3.36E-03
<i>ANKRD37</i>	ankyrin repeat domain 37	2.753	3.50E-02
<i>HILPDA</i>	hypoxia inducible lipid droplet associated	2.691	3.39E-03
<i>LOC143666</i>	long non-coding RNA	2.484	7.01E-05
<i>ENST00000244070</i>	protein phosphatase 4 regulatory subunit 1 like	2.382	3.84E-05
<i>DDIT3</i>	DNA damage inducible transcript 3	2.350	3.20E-03
<i>EDN2</i>	endothelin 2	2.104	8.44E-03
<i>KLF7</i>	Kruppel-Like Factor 7	2.099	1.38E-04
<i>THC2494281</i>	MPP8 M-phase phosphoprotein 8	1.999	9.48E-06
<i>PDK1</i>	pyruvate dehydrogenase kinase 1	1.956	1.46E-04
<i>MGAT3</i>	beta-1,4-mannosyl-glycoprotein 4-beta-N-acetylglucosaminyltransferase	-2.532	1.35E-04
<i>SLC26A2</i>	solute carrier family 26 member 2	-2.584	5.75E-03
<i>E2F2</i>	E2F transcription factor 2	-2.613	3.37E-04
<i>ATP8</i>	ATPase phospholipid transporting 8B3	-2.823	6.73E-07
<i>SNAR-F</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA F	-3.390	1.48E-02
<i>SNAR-H</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA H	-3.550	1.29E-02
<i>AK129597</i>	cDNA FLJ26086 fis, clone RCT05358	-3.579	9.97E-07
<i>SNAR-G2</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA G2	-3.581	1.43E-02
<i>SNAR-B2</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA B2	-3.711	9.28E-03
<i>SNAR-D</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA D	-3.742	1.17E-02

**Table 2: Top 10 list of up- and down-regulated genes between UC Repair and UC stress comparison (-1.5 < log Fold Change < +1.5 ; adjusted p-val < 0.05)**

<b>Gene symbol</b>	<b>Gene Name</b>	<b>log FC</b>	<b>Pvalue</b>
<i>SNAR-D</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA D	4.086	7.06E-03
<i>SNAR-B2</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA B2	4.013	5.81E-03
<i>BIRC5</i>	baculoviral IAP repeat containing 5	3.972	4.56E-07
<i>SNAR-H</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA H	3.877	7.82E-03
<i>SNAR-G2</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA G2	3.876	9.25E-03
<i>CLDN2</i>	Claudin 2	3.872	4.59E-06
<i>PTTG1</i>	PTTG1 interacting protein	3.643	6.96E-06
<i>SNAR-F</i>	small NF90 (ILF3) associated RNA F	3.633	1.01E-02
<i>H3C14</i>	H3 clustered histone 14	3.584	6.89E-06
<i>CAD</i>	carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase, and dihydroorotase	3.414	7.98E-08
<i>ABHD11-AS1</i>	BHD11 antisense RNA 1	-3.214	1.23E-06
<i>DUSP5</i>	dual specificity phosphatase 5	-3.228	1.75E-03
<i>ANGPTL4</i>	angiopoietin like 4	-3.237	9.59E-03
<i>DDIT4</i>	DNA damage inductible transcript 4	-3.246	1.39E-03
<i>SLC30A10</i>	solute carrier family 30 member 10	-3.287	2.23E-06
<i>EMP1</i>	EGF containing fibulin extracellular matrix protein 1	-3.322	3.49E-03
<i>FAM25A</i>	family with sequence similarity 25 member A	-3.376	1.47E-04
<i>SMIM6</i>	small integral membrane protein 6	-3.413	1.28E-06
<i>SPOCD1</i>	SPOC domain containing 1	-3.518	4.61E-07
<i>SSUH2</i>	ssu-2 homolog	-4.459	1.49E-04



**Table 3: Top 10 list of up- and down-regulated genes between CTRL Repair and CTRL comparison (-1.5 < log Fold Change < +1.5 ; adjusted p-val < 0.05)**

<b>Gene symbol</b>	<b>Gene Name</b>	<b>log FC</b>	<b>Pvalue</b>
<i>CDK4</i>	cyclin dependent kinase 4	3.718	2.65E-07
<i>BIRC5</i>	baculoviral IAP repeat containing 5	3.516	5.43E-06
<i>PTTG1</i>	PTTG1 regulator of sister chromatid separation	3.478	3.32E-05
<i>ASCL2</i>	achaete-scute family bHLH transcription factor 2	3.449	1.13E-05
<i>H3C14</i>	H3 clustered histone 14	3.163	6.93E-05
<i>RAMP1</i>	cramped chromatin regulator homolog 1	3.162	2.56E-04
<i>BEX2</i>	brain expressed X-linked 2	2.952	2.48E-03
<i>PLEKHB1</i>	pleckstrin homology domain containing B1	2.883	3.73E-05
<i>MCM6</i>	minichromosome maintenance complex component 6	2.866	5.27E-05
<i>MCM2</i>	minichromosome maintenance complex component 2	2.855	1.30E-04
<i>CLCA4</i>	CLCA4 antisense RNA 1	-3.965	7.58E-04
<i>SSUH2</i>	ssu-2 homolog	-4.000	9.31E-04
<i>A_33_P3258561</i>		-4.002	1.06E-04
<i>KRT20</i>	keratin 20	-4.057	1.11E-03
<i>EMP1</i>	epithelial membrane protein 1	-4.123	1.68E-03
<i>LYPD8</i>	LY6/PLAUR domain containing 8	-4.295	6.10E-03
<i>SLC26A3</i>	solute carrier family 26 member 3	-4.306	2.10E-04
<i>FGFBP1</i>	fibroblast growth factor binding protein 1	-4.472	8.34E-04
<i>PSCA</i>	epithelial membrane protein 1	-4.708	2.04E-02
<i>C11orf86</i>	chromosome 11 open reading frame 86	-5.373	1.99E-05

**Table 4: Top 10 list of up- and down-regulated genes between UC Repair and CTRL comparison (-1.5 < log Fold Change < +1.5 ; adjusted p-val < 0.05)**

Gene symbol	Gene Name	log FC	Pvalue
<i>CDK4</i>	cyclin dependent kinase 4	3.760	6.72E-08
<i>MT2A</i>	metallothionein 2A	3.738	3.66E-02
<i>PTTG1</i>	PTTG1 regulator of sister chromatid separation	3.737	5.36E-06
<i>BIRC5</i>	baculoviral IAP repeat containing 5	3.727	9.08E-07
<i>MT1M</i>	metallothionein 1M	3.376	1.53E-02
<i>H3C14</i>	H3 clustered histone 14	3.358	1.33E-05
<i>MT1L</i>	tRNA methyltransferase 1 like	3.354	3.45E-02
<i>MCM6</i>	minichromosome maintenance complex component 6	3.122	7.65E-06
<i>ALKBH2</i>	alkB homolog 2, alpha-ketoglutarate dependent dioxygenase	3.027	6.41E-07
<i>UBE2C</i>	ubiquitin conjugating enzyme E2 C	3.000	1.29E-06
<i>TM4SF4</i>	transmembrane 4 L six family member 4	-3.582	3.37E-04
<i>EMP1</i>	transmembrane 4 L six family member 4	-3.586	2.05E-03
<i>PSCA</i>	epithelial membrane protein 1	-3.623	4.05E-02
<i>ACE2</i>	angiotensin converting enzyme 2	-3.645	9.86E-07
<i>LYPD8</i>	LY6/PLAUR domain containing 8	-3.786	6.68E-03
<i>A_33_P3258561</i>		-3.851	5.39E-05
<i>SSUH2</i>	ssu-2 homolog	-3.853	5.17E-04
<i>CIDEB</i>	cell death inducing DFFA like effector b	-3.905	3.11E-07
<i>SLC26A3</i>	solute carrier family 26 member 3	-4.199	9.73E-05
<i>C11orf86</i>	chromosome 11 open reading frame 86	-4.600	3.05E-05

**Table 5: Toplist of up- and down-regulated genes between UC Repair and CTRL Repair comparison (-1.5 < log Fold Change < +1.5 ; adjusted p-val < 0.05)**

Gene symbol	Gene Name	log FC	Pvalue
<i>IL33</i>	interleukin 33	1.893	0.014
<i>TNS4</i>	tensin 4	1.630	0.005

**Table 6: List of differentially regulated genes between UC Repair vs CTRL and CTRL**

**Repair vs CTRL** (-1.5 < log Fold Change < +1.5 ; adjusted p-val < 0.05)

<b>Gene Symbol</b>	<b>Gene Name</b>	<b>log FC</b>	<b>P-value</b>	<b>Function</b>
<i>MUC17</i>	Mucin 17	-2.956	0.034	Cell surface associated. Membrane-bound mucin that provides protection to gut epithelial cells.
<i>GUCA2A</i>	Guanylate cyclase activator 2A	-2.944	0.02	Predicted to be involved in positive regulation of guanylate cyclase activity and signal transduction.
<i>CHP2</i>	Calcineurin like EF-hand protein 2 [Homo sapiens]	-2.618	0.027	Small calcium-binding protein that regulates cell pH by controlling plasma membrane-type Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> exchange activity.
<i>LOC388242</i>	SAGA complex associated factor 29 pseudogene	-2.481	<0.0001	Pseudogene predicted to be a transcriptional coactivator complex with acetyltransferase and deubiquitinase activities
<i>FAM3B</i>	FAM3 metabolism regulating signaling molecule B	-2.438	0.005	Involved in insulin secretion
<i>FAXDC2</i>	Fatty acid hydroxylase domain containing 2	-2.408	0.003	Predicted to enable C-4 methylsterol oxidase activity.
<i>XDH</i>	Xanthine dehydrogenase	-2.408	0.028	Group of molybdenum-containing hydroxylases involved in the oxidative metabolism of purines.
<i>IL22RA1</i>	Interleukin 22 receptor subunit alpha 1	-2.405	<0.0001	Receptor for interleukin 22.
<i>TP53INP2</i>	Tumor protein p53 inducible nuclear protein 2	-2.32	<0.0001	Tumor protein p53 inducible nuclear protein 2.
<i>SMPD1</i>	Sphingomyelin phosphodiesterase 1	-2.319	<0.0001	Lysosomal acid sphingomyelinase that converts sphingomyelin to ceramide.
<i>CDHR2</i>	Cadherin related family member 2	-2.289	0.001	Involved in cell-cell adhesion: member of the protocadherin family.
<i>HHLA2</i>	HERV-H LTR-associating 2	-2.268	<0.0001	Predicted to regulate cell-mediated immunity by binding to a receptor on T lymphocytes and inhibiting the proliferation of these cells.
<i>MROH5</i>	Maestro heat like repeat family member 5	-2.234	0.02	
<i>DUSP1</i>	Dual specificity phosphatase 1	-2.118	0.019	Important role in the human cellular response to environmental stress as well as in the negative

				regulation of cellular proliferation
<i>PDZK1</i>	PDZ domain containing 1	-2.047	<0.0001	The encoded protein mediates the localization of cell surface proteins and plays a critical role in cholesterol metabolism.
<i>MISP</i>	Mitotic spindle positioning	-2.036	0.001	Mitotic spindle positioning.
<i>DAPK2</i>	Death associated protein kinase 2	-2.018	<0.0001	Recent studies support a role for DRAK1 in inflammation-mediated tumor growth and metastasis. A commentary is provided on the potential importance of DAPK3 in facilitating epithelial restitution and wound healing during the resolution of colitis.
<i>CYP2B6</i>	Cytochrome P450 family 2 subfamily B member 6	-2.015	<0.0001	A cytochrome P450 monooxygenase involved in the metabolism of endocannabinoids and steroids.
<i>CDHR5</i>	Cadherin related family member 5	-2.002	0.001	Mesalazine increased mRNA levels of MUCDHL (CDHR5) and of other genes involved in the intestinal barrier function in most intestinal cell lines.
<i>VIPR1</i>	Vasoactive intestinal peptide receptor 1	-2	<0.0001	Encodes a receptor for vasoactive intestinal peptide involved in smooth muscle relaxation, exocrine and endocrine secretion, and water and ion flux in lung and intestinal epithelia.
<i>UNG</i>	Uracil DNA glycosylase	2.005	<0.0001	One important function of uracil-DNA glycosylases is to prevent mutagenesis by eliminating uracil from DNA molecules by cleaving the N-glycosylic bond and initiating the base-excision repair (BER) pathway.
<i>C9orf152</i>	Chromosome 9 open reading frame 152	2.007	0.002	
<i>EXOSC5</i>	Exosome component 5	2.01	<0.0001	Involved in DNA deamination and exonucleolytic catabolism of deadenylated mRNA.
<i>MRPL4</i>	Mitochondrial ribosomal protein L4	2.011	<0.0001	Mitochondrial ribosomal protein.
<i>POLR3K</i>	RNA polymerase III subunit K	2.013	0.001	Responsible for synthesizing transfer and small ribosomal RNAs.
<i>IVD</i>	Isovaleryl-coa dehydrogenase	2.013	<0.0001	Mitochondrial matrix enzyme that catalyzes the third step in leucine catabolism.
<i>PKMYT1</i>	Protein kinase, membrane associated	2.019	<0.0001	Membrane-associated kinase that negatively regulates the G2/M transition of the cell cycle by

	tyrosine/threonine 1			phosphorylating and inactivating cyclin-dependent kinase 1.
<i>EEF1AKMT1</i>	EEF1A lysine methyltransferase 1	2.02	0.001	Involved in peptidyl-lysine methylation.
<i>ENST00000549457</i>	NOP56 ribonucleoprotein pseudogene 3	2.021	0.003	Required for assembly of the 60S ribosomal subunit and is involved in pre-rRNA processing.
<i>EBPL</i>	EBP like	2.027	<0.0001	Predicted to be involved in sterol metabolic process.
<i>NOP56</i>	Ribonucleoprotein	2.034	0.007	Required for assembly of the 60S ribosomal subunit and is involved in pre-rRNA processing.
<i>PPAT</i>	Phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase	2.034	<0.0001	Catalyzes the first step of de novo purine nucleotide biosynthetic pathway.
<i>NCAPD3</i>	Non-SMC condensin II complex subunit D3	2.034	<0.0001	Condensin complexes I and II play essential roles in mitotic chromosome assembly and segregation.
<i>ENST00000433054</i>	Ribosomal protein S2 pseudogene 18	2.036	<0.0001	Involved in ribosomal synthesis.
<i>UQCC2</i>	Ubiquinol-cytochrome c reductase complex assembly factor 2	2.039	<0.0001	Ubiquinol-cytochrome c reductase complex assembly factor 2.
<i>TIMM21</i>	Translocase of inner mitochondrial membrane 21	2.042	<0.0001	Translocase of inner mitochondrial membrane 21.
<i>MAD2L1</i>	Mitotic arrest deficient 2 like 1	2.05	<0.0001	Component of the mitotic spindle assembly checkpoint that prevents the onset of anaphase until all chromosomes are properly aligned at the metaphase plate.
<i>CDCA7</i>	Cell division cycle associated 7	2.054	<0.0001	Enhances the transformation of lymphoblastoid cells, and it complements a transformation-defective Myc Box II mutant, suggesting its involvement in c-Myc-mediated cell transformation.
<i>FBXO16</i>	F-box protein 16	2.063	<0.0001	Constitutes one of the four subunits of ubiquitin protein ligase complex called SCFs (SKP1-cullin-F-box), which function in phosphorylation-dependent ubiquitination.
<i>CDC42EP1</i>	CDC42 effector protein 1	2.072	0.004	Involved in regulation of multiple cellular activities, including actin polymerization.

<i>IMPDH2</i>	Inosine monophosphate dehydrogenase 2	2.075	<0.0001	De novo guanine nucleotide biosynthesis.
<i>TIMM9</i>	Translocase of inner mitochondrial membrane 9	2.077	<0.0001	Translocase of inner mitochondrial membrane 9.
<i>MYC</i>	MYC proto-oncogene, bhlh transcription factor	2.08	<0.0001	Nuclear phosphoprotein that plays a role in cell cycle progression, apoptosis and cellular transformation.
<i>NDUFA4</i>	Ubiquinone oxidoreductase complex assembly factor 4	2.094	0.001	NADH:ubiquinone oxidoreductase complex assembly factor 4.
<i>IFITM2</i>	Interferon induced transmembrane protein 2	2.098	0.002	Involved in immune response or antiviral activity.
<i>GNL3</i>	G protein nucleolar 3	2.103	<0.0001	The protein encoded by this gene may interact with p53, appears also to be important for stem cell proliferation.
<i>NT5M</i>	5',3'-nucleotidase, mitochondrial	2.112	<0.0001	5' nucleotidase that localizes to the mitochondrial matrix.
<i>TEDC2</i>	Tubulin epsilon and delta complex 2	2.114	0.001	Predicted to be involved in positive regulation of smoothed signaling pathway.
<i>SRM</i>	Spermidine synthase	2.129	<0.0001	The polyamines putrescine, spermine, and spermidine are ubiquitous polycationic mediators of cell growth and differentiation.
<i>DMKN</i>	Dermokine	2.144	<0.0001	Involved in inflammatory disease, first observed as expressed in the differentiated layers of skin.
<i>CDK1</i>	Cyclin dependent kinase 1	2.16	<0.0001	Catalytic subunit of the highly conserved protein kinase complex known as M-phase promoting factor (MPF), which is essential for G2/M phase transitions.
<i>GINS1</i>	GINS complex subunit 1	2.172	<0.0001	Involved in DNA replication.
<i>BCS1L</i>	BCS1 homolog, ubiquinol-cytochrome c reductase complex chaperone	2.185	<0.0001	Involved in the assembly of complex III of the mitochondrial respiratory chain.
<i>DKC1</i>	Dyskerin pseudouridine synthase 1	2.203	0.016	Plays an active role in telomerase stabilization and maintenance.
<i>PUS7</i>	Pseudouridine synthase 7	2.216	<0.0001	Involved in pseudouridine synthesis; regulation of hematopoietic stem cell differentiation; and regulation of mesoderm development.
<i>MARVELD1</i>	MARVEL domain containing 1	2.235	<0.0001	Involved in myelination.
<i>TOP1MT</i>	Topoisomerase I	2.265	<0.0001	DNA topoisomerase I mitochondrial.

	mitochondrial			
<i>PAICS</i>	Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase and phosphoribosylaminoimidazolesuccinocarboxamide	2.272	<0.0001	Catalyzes steps 6 and 7 of purine biosynthesis.
<i>MRPL24</i>	Ribosomal protein L24	2.282	<0.0001	Mitochondrial ribosomal protein.
<i>DPH5</i>	Diphthamide biosynthesis 5	2.283	<0.0001	Post-translationally modified histidine residue found only on translation elongation factor 2
2.30.001 <i>NKD2</i>	NKD inhibitor of WNT signaling pathway 2	2.315	<0.0001	Negative regulators of Wnt receptor signaling through interaction with Dishevelled family members
<i>LDHB</i>	Lactate dehydrogenase B	2.34	<0.0001	B subunit of lactate dehydrogenase enzyme, which catalyzes the interconversion of pyruvate and lactate with concomitant interconversion of NADH and NAD <sup>+</sup> in a post-glycolysis process.
<i>HMBS</i>		2.364	<0.0001	Heme biosynthetic pathway.
<i>CCDC85B</i>	Coiled-coil domain containing 85B	2.377	<0.0001	Coiled-coil domain containing 85B suppresses the beta-catenin activity in a p53-dependent manner.
<i>FABP5</i>	Fatty acid binding protein 5	2.505	<0.0001	Roles in fatty acid uptake, transport, and metabolism.
<i>PCYOX1L</i>	Prenylcysteine oxidase 1 like	2.595	0.041	Predicted to be involved in prenylated protein catabolic process.
<i>MT1HL1</i>	Hydroxymethylbilane synthase	3.354	0.035	Metallothionein 1H like 1.
<i>MT1L</i>	Metallothionein 1L	3.376	0.015	Metallothionein 1L, pseudogene.
<i>MT1M</i>	Metallothionein 1M	3.738	0.037	Metallothionein 1M.
<i>MT2A</i>	Metallothionein 2A	3.738	0.037	Metallothionein 2A.

## References

## References

Ahmad, M., S. Krishnan, B. Ramakrishna, M. Mathan, A. Pulimood, et S. Murthy. 2000. « Butyrate and glucose metabolism by colonocytes in experimental colitis in mice ». *Gut* 46(4):493-99. doi: 10.1136/gut.46.4.493.

d'Aldebert, Emilie, Muriel Quaranta, Morgane Sébert, Delphine Bonnet, Sylvain Kirzin, Guillaume Portier, Jean-Pierre Duffas, Sophie Chabot, Philippe Lluel, Sophie Allart, Audrey Ferrand, Laurent Alric, Claire Racaud-Sultan, Emmanuel Mas, Céline Deraison, et Nathalie Vergnolle. 2020a. « Characterization of Human Colon Organoids From Inflammatory Bowel Disease Patients ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8:363. doi: 10.3389/fcell.2020.00363.

d'Aldebert, Emilie, Muriel Quaranta, Morgane Sébert, Delphine Bonnet, Sylvain Kirzin, Guillaume Portier, Jean-Pierre Duffas, Sophie Chabot, Philippe Lluel, Sophie Allart, Audrey Ferrand, Laurent Alric, Claire Racaud-Sultan, Emmanuel Mas, Céline Deraison, et Nathalie Vergnolle. 2020b. « Characterization of Human Colon Organoids From Inflammatory Bowel Disease Patients ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 0. doi: 10.3389/fcell.2020.00363.

Aoki, K., M. Aoki, M. Sugai, N. Harada, H. Miyoshi, T. Tsukamoto, T. Mizoshita, M. Tatematsu, H. Seno, T. Chiba, M. Oshima, C. L. Hsieh, et M. M. Taketo. 2007. « Chromosomal Instability by  $\beta$ -Catenin/TCF Transcription in APC or  $\beta$ -Catenin Mutant Cells ». *Oncogene* 26(24):3511-20. doi: 10.1038/sj.onc.1210141.

Arias, Maria Theresa, Niels Vande Casteele, Séverine Vermeire, Anthony de Buck van Overstraeten, Thomas Billiet, Filip Baert, Albert Wolthuis, Gert Van Assche, Maja Noman, Ilse Hoffman, Andre D'Hoore, Ann Gils, Paul Rutgeerts, et Marc Ferrante. 2015. « A Panel to Predict Long-Term Outcome of Infliximab Therapy for Patients With Ulcerative Colitis ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 13(3):531-38. doi: 10.1016/j.cgh.2014.07.055.

Babidge, W., S. Millard, et W. Roediger. 1998. « Sulfides Impair Short Chain Fatty Acid Beta-Oxidation at Acyl-CoA Dehydrogenase Level in Colonocytes: Implications for Ulcerative Colitis ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 181(1-2):117-24. doi: 10.1023/a:1006838231432.



Babitha, S., K. Bindu, Taj Nageena, et V. P. Veerapur. 2019. « Fresh Fruit Juice of *Opuntia dillenii* Haw. Attenuates Acetic Acid–Induced Ulcerative Colitis in Rats ». *Journal of Dietary Supplements* 16(4):431-42. doi: 10.1080/19390211.2018.1470128.

Baker, Kathryn T., Daniela Nachmanson, Shilpa Kumar, Mary J. Emond, Cigdem Ussakli, Teresa A. Brentnall, Scott R. Kennedy, et Rosa Ana Risques. 2019. « Mitochondrial DNA Mutations Are Associated with Ulcerative Colitis Preneoplasia but Tend to Be Negatively Selected in Cancer ». *Molecular Cancer Research: MCR* 17(2):488-98. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-18-0520.

Bär, Florian, Wiebke Bochmann, Andrea Widok, Kilian von Medem, Rene Pagel, Misa Hirose, Xinhua Yu, Kathrin Kalies, Peter König, Ruwen Böhm, Thomas Herdegen, Anna T. Reinicke, Jürgen Büning, Hendrik Lehnert, Klaus Fellermann, Saleh Ibrahim, et Christian Sina. 2013. « Mitochondrial Gene Polymorphisms That Protect Mice from Colitis ». *Gastroenterology* 145(5):1055-1063.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2013.07.015.

Barbara, Giovanni, Maria Raffaella Barbaro, Daniele Fuschi, Marta Palombo, Francesca Falangone, Cesare Cremon, Giovanni Marasco, et Vincenzo Stanghellini. 2021. « Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier ». *Frontiers in Nutrition* 8.

Barbi, Joseph, Drew Pardoll, et Fan Pan. 2013. « Metabolic Control of the Treg/Th17 Axis ». *Immunological Reviews* 252(1):52-77. doi: 10.1111/imr.12029.

Barker, Nick. 2014. « Adult Intestinal Stem Cells: Critical Drivers of Epithelial Homeostasis and Regeneration ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15(1):19-33. doi: 10.1038/nrm3721.

Barker, Nick, Johan H. van Es, Jeroen Kuipers, Pekka Kujala, Maaïke van den Born, Miranda Cozijnsen, Andrea Haegebarth, Jeroen Korving, Harry Begthel, Peter J. Peters, et Hans Clevers. 2007. « Identification of Stem Cells in Small Intestine and Colon by Marker Gene *Lgr5* ». *Nature* 449(7165):1003-7. doi: 10.1038/nature06196.

Bean, R. H. 1962. « The Treatment of Chronic Ulcerative Colitis with 6-Mercaptopurine ». *The Medical Journal of Australia* 49(2):592-93.

Beaudry, Michèle, Magdalena Hidalgo, Thierry Launay, Valérie Bello, et Thierry Darribère. 2016. « Regulation of Myogenesis by Environmental Hypoxia ». *Journal of Cell Science* 129(15):2887-96. doi: 10.1242/jcs.188904.

Beaugerie, Laurent, Magali Svrcek, Philippe Seksik, Anne–Marie Bouvier, Tabassome Simon, Matthieu Allez, Hedia Brix, Jean–Marc Gornet, Romain Altwegg, Philippe Beau,

Bernard Duclos, Arnaud Bourreille, Jean Faivre, Laurent Peyrin–Biroulet, Jean–François Fléjou, et Fabrice Carrat. 2013. « Risk of Colorectal High-Grade Dysplasia and Cancer in a Prospective Observational Cohort of Patients With Inflammatory Bowel Disease ». *Gastroenterology* 145(1):166-175.e8. doi: 10.1053/j.gastro.2013.03.044.

Blachier, François, Martin Beaumont, Mireille Andriamihaja, Anne-Marie Davila, Annaïg Lan, Marta Grauso, Lucie Armand, Robert Benamouzig, et Daniel Tomé. 2017. « Changes in the Luminal Environment of the Colonic Epithelial Cells and Physiopathological Consequences ». *The American Journal of Pathology* 187(3):476-86. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.11.015.

Blachier, François, Martin Beaumont, et Eunjung Kim. 2019. « Cysteine-Derived Hydrogen Sulfide and Gut Health: A Matter of Endogenous or Bacterial Origin ». *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 22(1):68-75. doi: 10.1097/MCO.0000000000000526.

Blachier, François, Claire Boutry, Cécile Bos, et Daniel Tomé. 2009. « Metabolism and functions of l-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 90(3):814S-821S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462S.

Blachier, Francois, Anne Marie Davila, Robert Benamouzig, et Daniel Tome. 2011. « Channelling of Arginine in NO and Polyamine Pathways in Colonocytes and Consequences ». *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)* 16(4):1331-43. doi: 10.2741/3792.

Boschetti, Gilles, Stéphane Nancey, et Bernard Flourié. 2011. « Les différentes formulations de l'acide 5-aminosalicylique ».

Bouguen, Guillaume, Audrey Langlois, Madjid Djouina, Julien Branche, Dine Koriche, Edmone Dewaeles, Alice Mongy, Johan Auwerx, Jean-Frederic Colombel, Pierre Desreumaux, Laurent Dubuquoy, et Benjamin Bertin. 2015. « Intestinal Steroidogenesis Controls PPAR $\gamma$  Expression in the Colon and Is Impaired during Ulcerative Colitis ». *Gut* 64(6):901-10. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307618.

Bril, Laura. 2016. « La colite aiguë grave au cours des maladies inflammatoires chroniques intestinales à début tardif : étude en population générale ». 83.

Brown, Eric, et Cormac T. Taylor. 2018. « Hypoxia-Sensitive Pathways in Intestinal Inflammation ». *The Journal of Physiology* 596(15):2985-89. doi: 10.1113/JP274350.

Brown, G. C. 1992. « Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells ». *Biochemical Journal* 284(1):1-13. doi: 10.1042/bj2840001.

Cardinale, Christopher J., Zhi Wei, Jin Li, Junfei Zhu, Mengnan Gu, Robert N. Baldassano, Struan F. A. Grant, et Hakon Hakonarson. 2014. « Transcriptome Profiling of Human Ulcerative Colitis Mucosa Reveals Altered Expression of Pathways Enriched in Genetic Susceptibility Loci ». *PLOS ONE* 9(5):e96153. doi: 10.1371/journal.pone.0096153.

Castro-Dopico, Tomas, Thomas W. Dennison, John R. Ferdinand, Rebeccah J. Mathews, Aaron Fleming, Dean Clift, Benjamin J. Stewart, Chenzhi Jing, Konstantina Strongili, Larisa I. Labzin, Edward J. M. Monk, Kouros Saeb-Parsy, Clare E. Bryant, Simon Clare, Miles Parkes, et Menna R. Clatworthy. 2019. « Anti-Commensal IgG Drives Intestinal Inflammation and Type 17 Immunity in Ulcerative Colitis ». *Immunity* 50(4):1099-1114.e10. doi: 10.1016/j.immuni.2019.02.006.

Chakraborty, Krishnendu, Mahesh Raundhal, Bill B. Chen, Christina Morse, Yulia Y. Tyurina, Anupriya Khare, Timothy B. Oriss, Rachael Huff, Janet S. Lee, Claudette M. St. Croix, Simon Watkins, Rama K. Mallampalli, Valerian E. Kagan, Anuradha Ray, et Prabir Ray. 2017. « The mito-DAMP cardiolipin blocks IL-10 production causing persistent inflammation during bacterial pneumonia ». *Nature Communications* 8:13944. doi: 10.1038/ncomms13944.

Chamaillard, Mathias, Jean-Baptiste Chevaux, et Laurent Peyrin-Biroulet. 2013. « Looking beyond Histological Healing in Ulcerative Colitis: Towards the Establishment of a Molecular Signature for Quiescent but Progressive Disease ». *Gut* 62(7):959-60. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303765.

Chapman, M. A., M. F. Grahn, M. A. Boyle, M. Hutton, J. Rogers, et N. S. Williams. 1994. « Butyrate Oxidation Is Impaired in the Colonic Mucosa of Sufferers of Quiescent Ulcerative Colitis. » *Gut* 35(1):73-76. doi: 10.1136/gut.35.1.73.

Chassaing, Benoit, Jesse D. Aitken, Madhu Malleshappa, et Matam Vijay-Kumar. 2014. « Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice ». *Current Protocols in Immunology* 104(1):15.25.1-15.25.14. doi: 10.1002/0471142735.im1525s104.

Cho, Young Min, Sujin Kwon, Youngmi Kim Pak, Hye Won Seol, Young Min Choi, Do Joon Park, Kyong Soo Park, et Hong Kyu Lee. 2006. « Dynamic Changes in Mitochondrial Biogenesis and Antioxidant Enzymes during the Spontaneous Differentiation of Human Embryonic Stem Cells ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 348(4):1472-78. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.08.020.

Clevers, Hans, Kyle M. Loh, et Roel Nusse. 2014. « Stem Cell Signaling. An Integral Program for Tissue Renewal and Regeneration: Wnt Signaling and Stem Cell Control ». *Science (New York, N.Y.)* 346(6205):1248012. doi: 10.1126/science.1248012.

Co, Julia Y., Mar Margalef-Català, Denise M. Monack, et Manuel R. Amieva. 2021. « Controlling the Polarity of Human Gastrointestinal Organoids to Investigate Epithelial Biology and Infectious Diseases ». *Nature Protocols* 16(11):5171-92. doi: 10.1038/s41596-021-00607-0.

Colgan, Sean P., Glenn T. Furuta, et Cormac T. Taylor. 2020. « Hypoxia and Innate Immunity: Keeping Up with the HIFsters ». *Annual Review of Immunology* 38:341-63. doi: 10.1146/annurev-immunol-100819-121537.

Cosnes, Jacques, Corinne Gower-Rousseau, Philippe Seksik, et Antoine Cortot. 2011. « Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases ». *Gastroenterology* 140(6):1785-94. doi: 10.1053/j.gastro.2011.01.055.

Coussens, Lisa M., et Zena Werb. 2002. « Inflammation and cancer ». *Nature* 420(6917):860-67. doi: 10.1038/nature01322.

Cummings, J. H., E. W. Pomare, W. J. Branch, C. P. Naylor, et G. T. Macfarlane. 1987. « Short Chain Fatty Acids in Human Large Intestine, Portal, Hepatic and Venous Blood ». *Gut* 28(10):1221-27. doi: 10.1136/gut.28.10.1221.

Cunningham, Kellie E., Garret Vincent, Chhinder P. Sodhi, Elizabeth A. Novak, Sarangarajan Ranganathan, Charlotte E. Egan, Donna Beer Stolz, Matthew B. Rogers, Brian Firek, Michael J. Morowitz, George K. Gittes, Brian S. Zuckerbraun, David J. Hackam, et Kevin P. Mollen. 2016. « Peroxisome Proliferator-activated Receptor- $\gamma$  Coactivator 1- $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ) Protects against Experimental Murine Colitis ». *The Journal of Biological Chemistry* 291(19):10184-200. doi: 10.1074/jbc.M115.688812.

Damiani, Carlos R., César A. F. Benetton, Cristhopher Stoffel, Katrine C. Bardini, Vilson H. Cardoso, Gabriela Di Giunta, Ricardo A. Pinho, Felipe Dal-Pizzol, et Emilio L. Streck. 2007. « Oxidative Stress and Metabolism in Animal Model of Colitis Induced by Dextran Sulfate Sodium ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 22(11):1846-51. doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.04890.x.

De Preter, Vicky, Ingrid Arijs, Karen Windey, Wiebe Vanhove, Severine Vermeire, Frans Schuit, Paul Rutgeerts, et Kristin Verbeke. 2012. « Impaired Butyrate Oxidation in Ulcerative Colitis Is Due to Decreased Butyrate Uptake and a Defect in the Oxidation Pathway ». *Inflammatory Bowel Diseases* 18(6):1127-36. doi: 10.1002/ibd.21894.

Dengler, Franziska, Anika Kraetzig, et Gotthold Gäbel. 2021. « Butyrate Protects Porcine Colon Epithelium from Hypoxia-Induced Damage on a Functional Level ». *Nutrients* 13(2):305. doi: 10.3390/nu13020305.

D'incà, R., V. Annese, V. Di Leo, A. Latiano, V. Quaino, C. Abazia, M. G. Vettorato, et G. C. Sturniolo. 2006. « Increased Intestinal Permeability and NOD2 Variants in Familial and Sporadic Crohn's Disease ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 23(10):1455-61. doi: 10.1111/j.1365-2036.2006.02916.x.

Donohoe, Dallas R., Nikhil Garge, Xinxin Zhang, Wei Sun, Thomas M. O'Connell, Maureen K. Bunger, et Scott J. Bultman. 2011. « The Microbiome and Butyrate Regulate Energy Metabolism and Autophagy in the Mammalian Colon ». *Cell metabolism* 13(5):517-26. doi: 10.1016/j.cmet.2011.02.018.

Dotti, Isabella, Rut Mora-Buch, Elena Ferrer-Picón, Núria Planell, Peter Jung, M. Carme Masamunt, Raquel Franco Leal, Javier Martín de Carpi, Josep Llach, Ingrid Ordás, Eduard Batlle, Julián Panés, et Azucena Salas. 2017. « Alterations in the Epithelial Stem Cell Compartment Could Contribute to Permanent Changes in the Mucosa of Patients with Ulcerative Colitis ». *Gut* 66(12):2069-79. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312609.

Dutta, Devanjali, Inha Heo, et Hans Clevers. 2017. « Disease Modeling in Stem Cell-Derived 3D Organoid Systems ». *Trends in Molecular Medicine* 23(5):393-410. doi: 10.1016/j.molmed.2017.02.007.

Dutton, Johanna S., Samuel S. Hinman, Raehyun Kim, Yuli Wang, et Nancy L. Allbritton. 2019. « Primary Cell-Derived Intestinal Models: Recapitulating Physiology ». *Trends in Biotechnology* 37(7):744-60. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.12.001.

Dvornikova, Kristina A., Olga N. Platonova, et Elena Y. Bystrova. 2023. « Hypoxia and Intestinal Inflammation: Common Molecular Mechanisms and Signaling Pathways ». *International Journal of Molecular Sciences* 24(3):2425. doi: 10.3390/ijms24032425.

Eaden, J. A., K. R. Abrams, et J. F. Mayberry. 2001. « The Risk of Colorectal Cancer in Ulcerative Colitis: A Meta-Analysis ». *Gut* 48(4):526-35. doi: 10.1136/gut.48.4.526.

El-Tanbouly, Ghada S., et Rehab S. Abdelrahman. 2022. « The Emerging Coloprotective Effect of Sildenafil against Ulcerative Colitis in Rats via Exerting Counterbalance between NF- $\kappa$ B Signaling and Nrf-2/HO-1 Pathway ». *Inflammopharmacology* 30(4):1351-62. doi: 10.1007/s10787-022-01016-9.

Encyclopédie Medillus. 2013. « Histologie, organisation des cellules au sein du colon. » *MEDILLUS*.

Fakhoury, Marc, Rebecca Negrulj, Armin Mooranian, et Hani Al-Salami. 2014. « Inflammatory Bowel Disease: Clinical Aspects and Treatments ». *Journal of Inflammation Research* 7:113-20. doi: 10.2147/JIR.S65979.

Fan, Yang-Yi, Laurie A. Davidson, Evelyn S. Callaway, Gus A. Wright, Stephen Safe, et Robert S. Chapkin. 2015. « A bioassay to measure energy metabolism in mouse colonic crypts, organoids, and sorted stem cells ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 309(1):G1-9. doi: 10.1152/ajpgi.00052.2015.

Farhadi, Ashkan, Ali Keshavarzian, Louis D. Van de Kar, Shriram Jakate, Aaron Domm, Lei Zhang, Maliha Shaikh, Ali Banan, et Jeremy Z. Fields. 2005. « Heightened Responses to Stressors in Patients with Inflammatory Bowel Disease ». *The American Journal of Gastroenterology* 100(8):1796-1804. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.50071.x.

Faubion, William A., Edward V. Loftus, William S. Harmsen, Alan R. Zinsmeister, et William J. Sandborn. 2001. « The Natural History of Corticosteroid Therapy for Inflammatory Bowel Disease: A Population-Based Study ». *Gastroenterology* 121(2):255-60. doi: 10.1053/gast.2001.26279.

Fedorov, Artem V., Maria A. Chelombitko, Daniil A. Chernyavskij, Ivan I. Galkin, Olga Yu Pletjushkina, Tamara V. Vasilieva, Roman A. Zinovkin, et Boris V. Chernyak. 2022. « Mitochondria-Targeted Antioxidant SkQ1 Prevents the Development of Experimental Colitis in Mice and Impairment of the Barrier Function of the Intestinal Epithelium ». *Cells* 11(21):3441. doi: 10.3390/cells11213441.

Ferrante, Marc, et João Sabino. 2020. « Efficacy of JAK inhibitors in Ulcerative Colitis ». *Journal of Crohn's & Colitis* 14(Suppl 2):S737-45. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjz202.

Ferrer-Picón, Elena, Isabella Dotti, Ana M. Corraliza, Aida Mayorgas, Miriam Esteller, José Carlos Perales, Elena Ricart, Maria C. Masamunt, Anna Carrasco, Eva Tristán, Maria Esteve, et Azucena Salas. 2020. « Intestinal Inflammation Modulates the Epithelial Response to Butyrate in Patients With Inflammatory Bowel Disease ». *Inflammatory Bowel Diseases* 26(1):43-55. doi: 10.1093/ibd/izz119.

Finnie, I. A., B. A. Taylor, et J. M. Rhodes. 1993. « Ileal and Colonic Epithelial Metabolism in Quiescent Ulcerative Colitis: Increased Glutamine Metabolism in Distal Colon but No Defect in Butyrate Metabolism ». *Gut* 34(11):1552-58. doi: 10.1136/gut.34.11.1552.

Flück, Katharina, et Joachim Fandrey. 2016. « Oxygen Sensing in Intestinal Mucosal Inflammation ». *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 468(1):77-84. doi: 10.1007/s00424-015-1722-4.

Fratila, Ovidiu C., et Constantin Craciun. 2010. « Ultrastructural Evidence of Mucosal Healing after Infliximab in Patients with Ulcerative Colitis ». *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases: JGLD* 19(2):147-53.

Frey, Mark R., Anastasia Golovin, et D. Brent Polk. 2004. « Epidermal Growth Factor-Stimulated Intestinal Epithelial Cell Migration Requires Src Family Kinase-Dependent P38 MAPK Signaling\* ». *Journal of Biological Chemistry* 279(43):44513-21. doi: 10.1074/jbc.M406253200.

Fuhrmann, Dominik C., et Bernhard Brüne. 2017. « Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia ». *Redox Biology* 12:208-15. doi: 10.1016/j.redox.2017.02.012.

Fujii, Masayuki, Hans Clevers, et Toshiro Sato. 2019. « Modeling Human Digestive Diseases With CRISPR-Cas9-Modified Organoids ». *Gastroenterology* 156(3):562-76. doi: 10.1053/j.gastro.2018.11.048.

Fumery, Mathurin, Siddharth Singh, Parambir S. Dulai, Corinne Gower-Rousseau, Laurent Peyrin-Biroulet, et William J. Sandborn. 2018. « Natural History of Adult Ulcerative Colitis in Population-Based Cohorts: A Systematic Review ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 16(3):343-356.e3. doi: 10.1016/j.cgh.2017.06.016.

Furuta, Glenn T., Jerrold R. Turner, Cormac T. Taylor, Robert M. Hershberg, Katrina Comerford, Sailaja Narravula, Daniel K. Podolsky, et Sean P. Colgan. 2001. « Hypoxia-Inducible Factor 1–Dependent Induction of Intestinal Trefoil Factor Protects Barrier Function during Hypoxia ». *The Journal of Experimental Medicine* 193(9):1027-34.

Gajendran, Mahesh, Priyadarshini Loganathan, Guillermo Jimenez, Anthony P. Catinella, Nathaniel Ng, Chandraprakash Umapathy, Nathalie Ziade, et Jana G. Hashash. 2019. « A Comprehensive Review and Update on Ulcerative Colitis », *Disease-a-Month* 65(12):100851. doi: 10.1016/j.disamonth.2019.02.004.

Gamah, Mohammed, Murad Alahdal, Yu Zhang, Yiling Zhou, Qiaorong Ji, Zhouyang Yuan, Ying Han, Xiangqun Shen, Yanming Ren, et Wei Zhang. s. d. « High-altitude hypoxia exacerbates dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis by upregulating Th1 and Th17 lymphocytes ». *Bioengineered* 12(1):7985-94. doi: 10.1080/21655979.2021.1975017.

Gautier, Thomas, Nelly Fahet, Zohreh Tamanai-Shacoori, Nolwenn Oliviero, Marielle Blot, Aurélie Sauvager, Agnes Burel, Sandrine David-Le Gall, Sophie Tomasi, Sophie Blat, et Latifa Bousarghin. 2022. « Roseburia intestinalis Modulates PYY Expression in a New a Multicellular Model including Enteroendocrine Cells ». *Microorganisms* 10(11):2263. doi: 10.3390/microorganisms10112263.

Gerbe, François, Catherine Legraverend, et Philippe Jay. 2012. « The Intestinal Epithelium Tuft Cells: Specification and Function ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 69(17):2907-17. doi: 10.1007/s00018-012-0984-7.

Giatromanolaki, A., E. Sivridis, E. Maltezos, D. Papazoglou, C. Simopoulos, K. C. Gatter, A. L. Harris, et M. I. Koukourakis. 2003. « Hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and 2 $\alpha$  overexpression in inflammatory bowel disease ». *Journal of Clinical Pathology* 56(3):209-13.

Glover, Louise E., Brittelle E. Bowers, Bejan Saeedi, Stefan F. Ehrentraut, Eric L. Campbell, Amanda J. Bayless, Evgenia Dobrinskikh, Agnieszka A. Kendrick, Caleb J. Kelly, Adrienne Burgess, Lauren Miller, Douglas J. Kominsky, Paul Jedlicka, et Sean P. Colgan. 2013. « Control of creatine metabolism by HIF is an endogenous mechanism of barrier regulation in colitis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(49):19820-25. doi: 10.1073/pnas.1302840110.

Goggins, Bridie J., Ciaran Chaney, Graham L. Radford-Smith, Jay C. Horvat, et Simon Keely. 2013. « Hypoxia and Integrin-Mediated Epithelial Restitution during Mucosal Inflammation ». *Frontiers in Immunology* 4:272. doi: 10.3389/fimmu.2013.00272.

Gonzalez, Frank J., Cen Xie, et Changtao Jiang. 2018. « The Role of Hypoxia-Inducible Factors in Metabolic Diseases ». *Nature Reviews. Endocrinology* 15(1):21-32. doi: 10.1038/s41574-018-0096-z.

Gothié, Emmanuel, et Jacques Pouysségur. 2002. « HIF-1 : régulateur central de l'hypoxie ». *médecine/sciences* 18(1):70-78. doi: 10.1051/medsci/200218170.

Grube, D. 1976. « [The endocrine cells of the gastrointestinal epithelium and the metabolism of biogenic amines in the gastrointestinal tract (author's transl)] ». *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 8(3):1-128.

Guerbette, Thomas, Gaëlle Boudry, et Annaïg Lan. 2022. « Mitochondrial Function in Intestinal Epithelium Homeostasis and Modulation in Diet-Induced Obesity ». *Molecular Metabolism* 63:101546. doi: 10.1016/j.molmet.2022.101546.

Guillo, Lucas, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, et Laurent Peyrin-Biroulet. 2021. « Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review ». *Journal of Crohn's and Colitis* 15(7):1236-43. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjaa260.

Haberman, Yael, Rebekah Karns, Phillip J. Dexheimer, Melanie Schirmer, Judith Somekh, Ingrid Jurickova, Tzipi Braun, Elizabeth Novak, Laura Bauman, Margaret H. Collins, Angela Mo, Michael J. Rosen, Erin Bonkowski, Nathan Gotman, Alison Marquis, Mason Nistel, Paul A. Rufo, Susan S. Baker, Cary G. Sauer, James Markowitz, Marian D. Pfefferkorn, Joel R. Rosh, Brendan M. Boyle, David R. Mack, Robert N. Baldassano, Sapana Shah, Neal S. Leleiko, Melvin B. Heyman, Anne M. Griffiths, Ashish S. Patel, Joshua D. Noe, Bruce J. Aronow,



Subra Kugathasan, Thomas D. Walters, Greg Gibson, Sonia Davis Thomas, Kevin Mollen, Shai Shen-Orr, Curtis Huttenhower, Ramnik J. Xavier, Jeffrey S. Hyams, et Lee A. Denson. 2019. « Ulcerative Colitis Mucosal Transcriptomes Reveal Mitochondriopathy and Personalized Mechanisms Underlying Disease Severity and Treatment Response ». *Nature Communications* 10(1):38. doi: 10.1038/s41467-018-07841-3.

Hackenbrock, C. R. 1966. « Ultrastructural Bases for Metabolically Linked Mechanical Activity in Mitochondria. I. Reversible Ultrastructural Changes with Change in Metabolic Steady State in Isolated Liver Mitochondria ». *The Journal of Cell Biology* 30(2):269-97. doi: 10.1083/jcb.30.2.269.

Hageman, Joris H., Maria C. Heinz, Kai Kretzschmar, Jelte van der Vaart, Hans Clevers, et Hugo J. G. Snippert. 2020. « Intestinal Regeneration: Regulation by the Microenvironment ». *Developmental Cell* 54(4):435-46. doi: 10.1016/j.devcel.2020.07.009.

Hall, P. A., P. J. Coates, B. Ansari, et D. Hopwood. 1994. « Regulation of cell number in the mammalian gastrointestinal tract: the importance of apoptosis ». *Journal of Cell Science* 107(12):3569-77. doi: 10.1242/jcs.107.12.3569.

Handa, O., A. Majima, Y. Onozawa, H. Horie, Y. Uehara, A. Fukui, T. Omatsu, Y. Naito, et T. Yoshikawa. 2014. « The Role of Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species in the Pathogenesis of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Small Intestinal Injury ». *Free Radical Research* 48(9):1095-99. doi: 10.3109/10715762.2014.928411.

Helander, Herbert F., et Lars Fändriks. 2014. « Surface area of the digestive tract – revisited ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 49(6):681-89. doi: 10.3109/00365521.2014.898326.

Hendriksen, C., S. Kreiner, et V. Binder. 1985. « Long Term Prognosis in Ulcerative Colitis-Based on Results from a Regional Patient Group from the County of Copenhagen ». *Gut* 26(2):158-63. doi: 10.1136/gut.26.2.158.

Heo, Mi Jeong, Ji Ho Suh, Sung Ho Lee, Kyle L. Poulsen, Yu A. An, Bhagavatula Moorthy, Sean M. Hartig, David D. Moore, et Kang Ho Kim. 2023. « Aryl Hydrocarbon Receptor Maintains Hepatic Mitochondrial Homeostasis in Mice ». *Molecular Metabolism* 72:101717. doi: 10.1016/j.molmet.2023.101717.

Hering, Nina A., Michael Fromm, et Jörg-Dieter Schulzke. 2012. « Determinants of colonic barrier function in inflammatory bowel disease and potential therapeutics ». *The Journal of Physiology* 590(Pt 5):1035-44. doi: 10.1113/jphysiol.2011.224568.

Hibiya, Shuji, Kiichiro Tsuchiya, Ryohei Hayashi, Keita Fukushima, Nobukatsu Horita, Sho Watanabe, Tomoaki Shirasaki, Ryu Nishimura, Natsuko Kimura, Tatsunori Nishimura, Noriko Gotoh, Shigeru Oshima, Ryuichi Okamoto, Tetsuya Nakamura, et Mamoru Watanabe. 2017. « Long-Term Inflammation Transforms Intestinal Epithelial Cells of Colonic Organoids ». *Journal of Crohn's & Colitis* 11(5):621-30. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjw186.

Howell, Kate Joanne, Judith Kraiczy, Komal M. Nayak, Marco Gasparetto, Alexander Ross, Claire Lee, Tim N. Mak, Bon-Kyoung Koo, Nitin Kumar, Trevor Lawley, Anupam Sinha, Philip Rosenstiel, Robert Heuschkel, Oliver Stegle, et Matthias Zilbauer. 2018. « DNA Methylation and Transcription Patterns in Intestinal Epithelial Cells From Pediatric Patients With Inflammatory Bowel Diseases Differentiate Disease Subtypes and Associate With Outcome ». *Gastroenterology* 154(3):585-98. doi: 10.1053/j.gastro.2017.10.007.

Hsieh, Sen-Yung, Tsung-Chieh Shih, Chien-Yuh Yeh, Chun-Jung Lin, Yun-Ying Chou, et Ying-Shiung Lee. 2006. « Comparative Proteomic Studies on the Pathogenesis of Human Ulcerative Colitis ». *Proteomics* 6(19):5322-31. doi: 10.1002/pmic.200500541.

Iizuka, Masahiro, et Shiho Konno. 2011. « Wound Healing of Intestinal Epithelial Cells ». *World Journal of Gastroenterology* 17(17):2161-71. doi: 10.3748/wjg.v17.i17.2161.

Islam, Hashim, Brittany A. Edgett, et Brendon J. Gurd. 2018. « Coordination of mitochondrial biogenesis by PGC-1 $\alpha$  in human skeletal muscle: A re-evaluation ». *Metabolism* 79:42-51. doi: 10.1016/j.metabol.2017.11.001.

Ivanov, Andrei I., Asma Nusrat, et Charles A. Parkos. 2005. « Endocytosis of the Apical Junctional Complex: Mechanisms and Possible Roles in Regulation of Epithelial Barriers ». *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* 27(4):356-65. doi: 10.1002/bies.20203.

Jain, Renu N., et Linda C. Samuelson. 2006. « Differentiation of the Gastric Mucosa II. Role of gastrin in gastric epithelial cell proliferation and maturation ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 291(5):G762-65. doi: 10.1152/ajpgi.00172.2006.

Jess, Tine, Lene Riis, Ida Vind, Karen Vanessa Winther, Sixten Borg, Vibeke Binder, Ebbe Langholz, Ole Østergaard Thomsen, et Pia Munkholm. 2007. « Changes in Clinical Characteristics, Course, and Prognosis of Inflammatory Bowel Disease during the Last 5 Decades: A Population-Based Study from Copenhagen, Denmark ». *Inflammatory Bowel Diseases* 13(4):481-89. doi: 10.1002/ibd.20036.

Jiang, B. H., E. Rue, G. L. Wang, R. Roe, et G. L. Semenza. 1996. « Dimerization, DNA Binding, and Transactivation Properties of Hypoxia-Inducible Factor 1 ». *The Journal of Biological Chemistry* 271(30):17771-78. doi: 10.1074/jbc.271.30.17771.

Jiang, B. H., J. Z. Zheng, S. W. Leung, R. Roe, et G. L. Semenza. 1997. « Transactivation and Inhibitory Domains of Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$ . Modulation of Transcriptional Activity by Oxygen Tension ». *The Journal of Biological Chemistry* 272(31):19253-60. doi: 10.1074/jbc.272.31.19253.

Johansson, M. E. V., J. M. H. Larsson, et G. C. Hansson. 2011. « The Two Mucus Layers of Colon Are Organized by the MUC2 Mucin, Whereas the Outer Layer Is a Legislator of Host-Microbial Interactions ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(Supplement\_1):4659-65. doi: 10.1073/pnas.1006451107.

Johnson, Martha Sharisha, et Jeanette Gowen Cook. 2023. « Cell cycle exits and U-turns: Quiescence as multiple reversible forms of arrest ». *Faculty Reviews* 12:5. doi: 10.12703/r/12-5.

Kałużna, Aleksandra, Paweł Olczyk, et Katarzyna Komosińska-Vassev. 2022. « The Role of Innate and Adaptive Immune Cells in the Pathogenesis and Development of the Inflammatory Response in Ulcerative Colitis ». *Journal of Clinical Medicine* 11(2):400. doi: 10.3390/jcm11020400.

Kaplan, Gilaad G. 2015. « The Global Burden of IBD: From 2015 to 2025 ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 12(12):720-27. doi: 10.1038/nrgastro.2015.150.

Karhausen, Jörn, Glenn T. Furuta, John E. Tomaszewski, Randall S. Johnson, Sean P. Colgan, et Volker H. Haase. 2004. « Epithelial Hypoxia-Inducible Factor-1 Is Protective in Murine Experimental Colitis ». *The Journal of Clinical Investigation* 114(8):1098-1106. doi: 10.1172/JCI21086.

Kelly, Caleb J., Leon Zheng, Eric L. Campbell, Bejan Saeedi, Carsten C. Scholz, Amanda J. Bayless, Kelly E. Wilson, Louise E. Glove, Douglas J. Kominsky, Aaron Magnuson, Tiffany L. Weir, Stefan F. Ehrentraut, Christina Pickel, Kristine A. Kuhn, Jordi M. Lanis, Vu Nguyen, Cormac T. Taylor, et Sean P. Colgan. 2015. « Crosstalk between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and Intestinal Epithelial HIF Augments Tissue Barrier Function ». *Cell host & microbe* 17(5):662-71. doi: 10.1016/j.chom.2015.03.005.

Kerber, Evelyn L., Claudia Padberg, Nora Koll, Vera Schuetzhold, Joachim Fandrey, et Sandra Winning. 2020. « The Importance of Hypoxia-Inducible Factors (HIF-1 and HIF-2) for

the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 21(22):8551. doi: 10.3390/ijms21228551.

Khalili, Hamed, Simon S. M. Chan, Paul Lochhead, Ashwin N. Ananthakrishnan, Andrew R. Hart, et Andrew T. Chan. 2018. « The Role of Diet in the Aetiopathogenesis of Inflammatory Bowel Disease ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 15(9):525-35. doi: 10.1038/s41575-018-0022-9.

Kobayashi, Taku, Britta Siegmund, Catherine Le Berre, Shu Chen Wei, Marc Ferrante, Bo Shen, Charles N. Bernstein, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet, et Toshifumi Hibi. 2020. « Ulcerative Colitis ». *Nature Reviews Disease Primers* 6(1):1-20. doi: 10.1038/s41572-020-0205-x.

Krause, Gerd, Lars Winkler, Christian Piehl, Ingolf Blasig, Jörg Piontek, et Sebastian L. Müller. 2009. « Structure and Function of Extracellular Claudin Domains ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1165(1):34-43. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04057.x.

Kurihara, Yusuke, Tomotake Kanki, Yoshimasa Aoki, Yuko Hirota, Tetsu Saigusa, Takeshi Uchiumi, et Dongchon Kang. 2012. « Mitophagy Plays an Essential Role in Reducing Mitochondrial Production of Reactive Oxygen Species and Mutation of Mitochondrial DNA by Maintaining Mitochondrial Quantity and Quality in Yeast ». *The Journal of Biological Chemistry* 287(5):3265-72. doi: 10.1074/jbc.M111.280156.

Lagdali, Nawal, Ajana Fatima Zahra, Benelbarhdadi Imane, et Afifi Rajae. 2023. « Impact des MICI sur la qualite de vie ». Présenté à JFHOD | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive.

Laharie, D., J. Filippi, X. Roblin, S. Nancey, J. B. Chevaux, X. Hébuterne, B. Flourié, M. Capdepon, et L. Peyrin-Biroulet. 2013. « Impact of Mucosal Healing on Long-Term Outcomes in Ulcerative Colitis Treated with Infliximab: A Multicenter Experience ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 37(10):998-1004. doi: 10.1111/apt.12289.

Lan, Annaïg, François Blachier, Robert Benamouzig, Martin Beaumont, Christophe Barrat, Desire Coelho, Antonio Lancha, Xiangfeng Kong, Yulong Yin, Jean-Claude Marie, et Daniel Tomé. 2015. « Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Diseases: Is There a Place for Nutritional Supplementation? » *Inflammatory Bowel Diseases* 21(1):198-207. doi: 10.1097/MIB.000000000000177.

Lan, Annaïg, Anne Blais, Desire Coelho, Juliette Capron, Manar Maarouf, Robert Benamouzig, Antonio H. Lancha, Francine Walker, Daniel Tomé, et François Blachier. 2016. « Dual effects of a high-protein diet on DSS-treated mice during colitis resolution phase ».

*American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 311(4):G624-33. doi: 10.1152/ajpgi.00433.2015.

Lan, Annaïg, Thomas Guerbette, Mireille Andriamihaja, Benjamin Magnin, Martin Bordet, Pierre-Jean Ferron, Agnès Burel, Roselyne Viel, Bernard Fromenty, Anne Corlu, François Blachier, et Guillaume Bouguen. 2023. « Mitochondrial Remodeling and Energy Metabolism Adaptations in Colonic Crypts during Spontaneous Epithelial Repair after Colitis Induction in Mice ». *Free Radical Biology and Medicine* 205:224-33. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.06.007.

Larson, Shawn D., Jing Li, Dai H. Chung, et B. Mark Evers. 2007. « Molecular Mechanisms Contributing to Glutamine-Mediated Intestinal Cell Survival ». *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 293(6):G1262-71. doi: 10.1152/ajpgi.00254.2007.

Laukoetter, Mike G., Matthias Bruewer, et Asma Nusrat. 2006. « Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier by the Apical Junctional Complex ». *Current Opinion in Gastroenterology* 22(2):85-89. doi: 10.1097/01.mog.0000203864.48255.4f.

Li, Hongyan, Hongxia Che, Jingwen Xie, Xiufang Dong, Lin Song, Wancui Xie, et Jinyuan Sun. 2022. « Supplementary Selenium in the Form of Selenylation  $\alpha$ -D-1,6-Glucan Ameliorates Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis in Vivo ». *International Journal of Biological Macromolecules* 195:67-74. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.11.189.

Linden, David R. 2014. « Hydrogen Sulfide Signaling in the Gastrointestinal Tract ». *Antioxidants & Redox Signaling* 20(5):818-30. doi: 10.1089/ars.2013.5312.

Liu, Cambrian, D. Polk, et Mark Frey. 2018. « Mucosal Restitution and Repair ». P. 683-708 in *Physiology of the Gastrointestinal Tract (Sixth Edition)*.

Loftus, Edward V., Brian G. Feagan, Remo Panaccione, Jean-Frédéric Colombel, William J. Sandborn, Bruce E. Sands, Silvio Danese, Geert D'Haens, David T. Rubin, Ira Shafran, Andrejus Parfionovas, Raquel Rogers, Richard A. Lirio, et Séverine Vermeire. 2020. « Long-term safety of vedolizumab for inflammatory bowel disease ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 52(8):1353-65. doi: 10.1111/apt.16060.

Lopetuso, Loris R., Carlo De Salvo, Luca Pastorelli, Nitish Rana, Henry N. Senkfor, Valentina Petito, Luca Di Martino, Franco Scaldaferrì, Antonio Gasbarrini, Fabio Cominelli, Derek W. Abbott, Wendy A. Goodman, et Theresa T. Pizarro. 2018. « IL-33 promotes recovery from acute colitis by inducing miR-320 to stimulate epithelial restitution and repair ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(40):E9362-70. doi: 10.1073/pnas.1803613115.

Lukovac, Sabina, Clara Belzer, Linette Pellis, Bart J. Keijser, Willem M. de Vos, Roy C. Montijn, et Guus Roeselers. 2014. « Differential Modulation by Akkermansia Muciniphila and Faecalibacterium Prausnitzii of Host Peripheral Lipid Metabolism and Histone Acetylation in Mouse Gut Organoids ». *mBio* 5(4):e01438-14. doi: 10.1128/mBio.01438-14.

Lux, G. D., L. J. Marton, et S. B. Baylin. 1980. « Ornithine Decarboxylase Is Important in Intestinal Mucosal Maturation and Recovery from Injury in Rats ». *Science (New York, N.Y.)* 210(4466):195-98. doi: 10.1126/science.6774420.

Macé, Vincent, Amrita Ahluwalia, Emmanuel Coron, Marc Le Rhun, Arnaud Boureille, Céline Bossard, Jean-François Mosnier, Tamara Matysiak-Budnik, et Andrzej S. Tarnawski. 2015. « Confocal Laser Endomicroscopy: A New Gold Standard for the Assessment of Mucosal Healing in Ulcerative Colitis ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 30(S1):85-92. doi: <https://doi.org/10.1111/jgh.12748>.

Machiels, Kathleen, Marie Joossens, João Sabino, Vicky De Preter, Ingrid Arijs, Venessa Eeckhaut, Vera Ballet, Karolien Claes, Filip Van Immerseel, Kristin Verbeke, Marc Ferrante, Jan Verhaegen, Paul Rutgeerts, et Séverine Vermeire. 2014. « A Decrease of the Butyrate-Producing Species Roseburia Hominis and Faecalibacterium Prausnitzii Defines Dysbiosis in Patients with Ulcerative Colitis ». *Gut* 63(8):1275-83. doi: 10.1136/gutjnl-2013-304833.

Magee, E. A., C. J. Richardson, R. Hughes, et J. H. Cummings. 2000. « Contribution of Dietary Protein to Sulfide Production in the Large Intestine: An in Vitro and a Controlled Feeding Study in Humans ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(6):1488-94. doi: 10.1093/ajcn/72.6.1488.

Magnusson, Maria K., Stefan Isaksson, et Lena Öhman. 2020. « The Anti-Inflammatory Immune Regulation Induced by Butyrate Is Impaired in Inflamed Intestinal Mucosa from Patients with Ulcerative Colitis ». *Inflammation* 43(2):507-17. doi: 10.1007/s10753-019-01133-8.

de Mattos, Bruno Rafael Ramos, Maellin Pereira Gracindo Garcia, Julia Bier Nogueira, Lisiery Negrini Paiatto, Cassia Galdino Albuquerque, Caique Lopes Souza, Luís Gustavo Romani Fernandes, Wirla Maria da Silva Cunha Tamashiro, et Patricia Ucelli Simioni. 2015. « Inflammatory Bowel Disease: An Overview of Immune Mechanisms and Biological Treatments ». *Mediators of Inflammation* 2015:e493012. doi: 10.1155/2015/493012.

Maxwell, P. H., C. W. Pugh, et P. J. Ratcliffe. 2001. « Activation of the HIF Pathway in Cancer ». *Current Opinion in Genetics & Development* 11(3):293-99. doi: 10.1016/s0959-437x(00)00193-3.

McQueen, Peter, Kathleen Busman-Sahay, Florian Rieder, Laura Noël-Romas, Stuart McCorrister, Garrett Westmacott, Jacob D. Estes, et Adam Burgener. 2019. « Intestinal Proteomic Analysis of a Novel Non-Human Primate Model of Experimental Colitis Reveals Signatures of Mitochondrial and Metabolic Dysfunction ». *Mucosal Immunology* 12(6):1327-35. doi: 10.1038/s41385-019-0200-2.

Medema, Jan Paul, et Louis Vermeulen. 2011. « Microenvironmental Regulation of Stem Cells in Intestinal Homeostasis and Cancer ». *Nature* 474(7351):318-26. doi: 10.1038/nature10212.

Melendez, Jaime, Matthew Grogg, et Yi Zheng. 2011. « Signaling Role of Cdc42 in Regulating Mammalian Physiology ». *The Journal of Biological Chemistry* 286(4):2375-81. doi: 10.1074/jbc.R110.200329.

Miki, Kazunori, David J. Moore, Ross N. Butler, Emma Southcott, Richard T. L. Couper, et Geoffrey P. Davidson. 1998. « The Sugar Permeability Test Reflects Disease Activity in Children and Adolescents with Inflammatory Bowel Disease ». *The Journal of Pediatrics* 133(6):750-54. doi: 10.1016/S0022-3476(98)70145-3.

Mittal, Manish, Mohammad Rizwan Siddiqui, Khiem Tran, Sekhar P. Reddy, et Asrar B. Malik. 2014. « Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury ». *Antioxidants & Redox Signaling* 20(7):1126-67. doi: 10.1089/ars.2012.5149.

Miyamoto, Yuji, Koichi Suyama, et Hideo Baba. 2017. « Recent Advances in Targeting the EGFR Signaling Pathway for the Treatment of Metastatic Colorectal Cancer ». *International Journal of Molecular Sciences* 18(4):752. doi: 10.3390/ijms18040752.

Mojtahed, Amirkaveh, Reena Khanna, William J. Sandborn, Geert R. D'Haens, Brian G. Feagan, Lisa M. Shackelton, Kenneth A. Baker, Elena Dubcenco, Mark A. Valasek, Karel Geboes, et Barrett G. Levesque. 2014. « Assessment of Histologic Disease Activity in Crohn's Disease: A Systematic Review ». *Inflammatory Bowel Diseases* 20(11):2092-2103. doi: 10.1097/MIB.000000000000155.

Moriggi, Manuela, Luca Pastorelli, Enrica Torretta, Gian Eugenio Tontini, Daniele Capitanio, Stefano Ferrero Bogetto, Maurizio Vecchi, et Cecilia Gelfi. 2017. « Contribution of Extracellular Matrix and Signal Mechanotransduction to Epithelial Cell Damage in Inflammatory Bowel Disease Patients: A Proteomic Study ». *Proteomics* 17(23-24). doi: 10.1002/pmic.201700164.

Nakamura, Atsuo, Shin Kurihara, Daisuke Takahashi, Wakana Ohashi, Yutaka Nakamura, Shunsuke Kimura, Masayoshi Onuki, Aiko Kume, Yukiko Sasazawa, Yukihiko Furusawa, Yuuki

Obata, Shinji Fukuda, Shinji Saiki, Mitsuharu Matsumoto, et Koji Hase. 2021. « Symbiotic Polyamine Metabolism Regulates Epithelial Proliferation and Macrophage Differentiation in the Colon ». *Nature Communications* 12(1):2105. doi: 10.1038/s41467-021-22212-1.

Nakase, Hiroshi, Noriko Sato, Naomi Mizuno, et Yoshiko Ikawa. 2022. « The Influence of Cytokines on the Complex Pathology of Ulcerative Colitis ». *Autoimmunity Reviews* 21(3):103017. doi: 10.1016/j.autrev.2021.103017.

Neurath, Markus F. 2014. « Cytokines in Inflammatory Bowel Disease ». *Nature Reviews Immunology* 14(5):329-42. doi: 10.1038/nri3661.

Neurath, Markus F., et Simon P. L. Travis. 2012. « Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review ». *Gut* 61(11):1619-35. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302830.

Neurath, Markus, Ivan Fuss, et Warren Strober. 2000. « TNBS-Colitis ». *International Reviews of Immunology* 19(1):51-62. doi: 10.3109/08830180009048389.

Nicholls, David G. 2004. « Mitochondrial Membrane Potential and Aging ». *Aging Cell* 3(1):35-40. doi: 10.1111/j.1474-9728.2003.00079.x.

Noben, Manuel, Bram Verstockt, Magali de Bruyn, Nikolai Hendriks, Gert Van Assche, Séverine Vermeire, Catherine Verfaillie, et Marc Ferrante. 2017. « Epithelial Organoid Cultures from Patients with Ulcerative Colitis and Crohn's Disease: A Truly Long-Term Model to Study the Molecular Basis for Inflammatory Bowel Disease? ». *Gut* 66(12):2193-95. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313667.

Norton, Christine, Lesley B. Dibley, et Paul Bassett. 2013. « Faecal Incontinence in Inflammatory Bowel Disease: Associations and Effect on Quality of Life ». *Journal of Crohn's & Colitis* 7(8):e302-311. doi: 10.1016/j.crohns.2012.11.004.

Nozaki, Kengo, Wakana Mochizuki, Yuka Matsumoto, Taichi Matsumoto, Masayoshi Fukuda, Tomohiro Mizutani, Mamoru Watanabe, et Tetsuya Nakamura. 2016. « Co-Culture with Intestinal Epithelial Organoids Allows Efficient Expansion and Motility Analysis of Intraepithelial Lymphocytes ». *Journal of Gastroenterology* 51(3):206-13. doi: 10.1007/s00535-016-1170-8.

O'Hara, Ryan, Enzo Tedone, Andrew Ludlow, Ejun Huang, Beatrice Arosio, Daniela Mari, et Jerry W. Shay. 2019. « Quantitative Mitochondrial DNA Copy Number Determination Using Droplet Digital PCR with Single-Cell Resolution ». *Genome Research* 29(11):1878-88. doi: 10.1101/gr.250480.119.



Okada, Tomoyuki, Tsutomu Kanda, Naoki Ueda, Yuichiro Ikebuchi, Keiichi Hashiguchi, Kazuhiko Nakao, et Hajime Isomoto. 2020. « IL-8 and LYPD8 Expression Levels Are Associated with the Inflammatory Response in the Colon of Patients with Ulcerative Colitis ». *Biomedical Reports* 12(4):193-98. doi: 10.3892/br.2020.1280.

Okamoto, Ryuichi, Hiromichi Shimizu, Kohei Suzuki, Ami Kawamoto, Junichi Takahashi, Mao Kawai, Sayaka Nagata, Yui Hiraguri, Sayaka Takeoka, Hady Yuki Sugihara, Shiro Yui, et Mamoru Watanabe. 2020a. « Organoid-based regenerative medicine for inflammatory bowel disease ». *Regenerative Therapy* 13:1-6. doi: 10.1016/j.reth.2019.11.004.

Okamoto, Ryuichi, Hiromichi Shimizu, Kohei Suzuki, Ami Kawamoto, Junichi Takahashi, Mao Kawai, Sayaka Nagata, Yui Hiraguri, Sayaka Takeoka, Hady Yuki Sugihara, Shiro Yui, et Mamoru Watanabe. 2020b. « Organoid-Based Regenerative Medicine for Inflammatory Bowel Disease ». *Regenerative Therapy* 13:1-6. doi: 10.1016/j.reth.2019.11.004.

Ordás, Ingrid, Lars Eckmann, Mark Talamini, Daniel C. Baumgart, et William J. Sandborn. 2012. « Ulcerative Colitis ». *The Lancet* 380(9853):1606-19. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0.

O'Rourke, J. F., Y. M. Tian, P. J. Ratcliffe, et C. W. Pugh. 1999. « Oxygen-Regulated and Transactivating Domains in Endothelial PAS Protein 1: Comparison with Hypoxia-Inducible Factor-1alpha ». *The Journal of Biological Chemistry* 274(4):2060-71. doi: 10.1074/jbc.274.4.2060.

Park, Jung-Ha, Takenori Kotani, Tasuku Konno, Jajar Setiawan, Yasuaki Kitamura, Shinya Imada, Yutaro Usui, Naoya Hatano, Masakazu Shinohara, Yasuyuki Saito, Yoji Murata, et Takashi Matozaki. 2016. « Promotion of Intestinal Epithelial Cell Turnover by Commensal Bacteria: Role of Short-Chain Fatty Acids ». *PloS One* 11(5):e0156334. doi: 10.1371/journal.pone.0156334.

Pascual-Itoiz, Miguel Angel, Ainize Peña-Cearra, Itziar Martín-Ruiz, José Luis Lavín, Carolina Simó, Héctor Rodríguez, Estibaliz Atondo, Juana María Flores, Ana Carreras-González, Julen Tomás-Cortázar, Diego Barriales, Ainhoa Palacios, Virginia García-Cañas, Aize Pellón, Asier Fullaondo, Ana M<sup>a</sup> Aransay, Rafael Prados-Rosales, Rebeca Martín, Juan Anguita, et Leticia Abecia. 2020. « The Mitochondrial Negative Regulator MCJ Modulates the Interplay between Microbiota and the Host during Ulcerative Colitis ». *Scientific Reports* 10(1):572. doi: 10.1038/s41598-019-57348-0.

Penrose, Harrison M., Rida Iftikhar, Morgan E. Collins, Eman Toraih, Emmanuelle Ruiz, Nathan Ungerleider, Hani Nakhoul, Erik F. Flemington, Emad Kandil, Shamita B. Shah, et Suzana D. Savkovic. 2021. « Ulcerative Colitis Immune Cell Landscapes and Differentially

Expressed Gene Signatures Determine Novel Regulators and Predict Clinical Response to Biologic Therapy ». *Scientific Reports* 11(1):9010. doi: 10.1038/s41598-021-88489-w.

Peyrin-Biroulet, L., W. Sandborn, B. E. Sands, W. Reinisch, W. Bemelman, R. V. Bryant, G. D'Haens, I. Dotan, M. Dubinsky, B. Feagan, G. Fiorino, R. Geary, S. Krishnareddy, P. L. Lakatos, E. V. Jr Loftus, P. Marteau, P. Munkholm, T. B. Murdoch, I. Ordás, R. Panaccione, R. H. Riddell, J. Ruel, D. T. Rubin, M. Samaan, C. A. Siegel, M. S. Silverberg, J. Stoker, S. Schreiber, S. Travis, G. Van Assche, S. Danese, J. Panes, G. Bouguen, S. O'Donnell, B. Pariente, S. Winer, S. Hanauer, et J. F. Colombel. 2015a. « Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target ». *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 110(9):1324. doi: 10.1038/ajg.2015.233.

Peyrin-Biroulet, L., W. Sandborn, B. E. Sands, W. Reinisch, W. Bemelman, R. V. Bryant, G. D'Haens, I. Dotan, M. Dubinsky, B. Feagan, G. Fiorino, R. Geary, S. Krishnareddy, P. L. Lakatos, E. V. Jr Loftus, P. Marteau, P. Munkholm, T. B. Murdoch, I. Ordás, R. Panaccione, R. H. Riddell, J. Ruel, D. T. Rubin, M. Samaan, C. A. Siegel, M. S. Silverberg, J. Stoker, S. Schreiber, S. Travis, G. Van Assche, S. Danese, J. Panes, G. Bouguen, S. O'Donnell, B. Pariente, S. Winer, S. Hanauer, et J. F. Colombel. 2015b. « Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target ». *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 110(9):1324-38. doi: 10.1038/ajg.2015.233.

Pfleger, Jessica. 2022. « Measurements of Mitochondrial Respiration in Intact Cells, Permeabilized Cells, and Isolated Tissue Mitochondria Using the Seahorse XF Analyzer ». P. 185-206 in *Mitochondria: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, édité par N. Tomar. New York, NY: Springer US.

Pineton de Chambrun, Guillaume, Pierre Blanc, et Laurent Peyrin-Biroulet. 2016. « Current evidence supporting mucosal healing and deep remission as important treatment goals for inflammatory bowel disease ». *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology* 10(8):915-27. doi: 10.1586/17474124.2016.1174064.

Potten, Christopher S., Catherine Booth, et D. Mark Pritchard. 1997. « The Intestinal Epithelial Stem Cell: The Mucosal Governor ». *International Journal of Experimental Pathology* 78(4):219-43. doi: 10.1046/j.1365-2613.1997.280362.x.

Preter, V. De, K. P. Geboes, V. Bulteel, G. Vandermeulen, P. Suenart, P. Rutgeerts, et K. Verbeke. 2011. « Kinetics of Butyrate Metabolism in the Normal Colon and in Ulcerative Colitis: The Effects of Substrate Concentration and Carnitine on the B-oxidation Pathway ».

*Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 34(5):526-32. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04757.x.

Qi, Zhen, et Ye-Guang Chen. 2015. « Regulation of Intestinal Stem Cell Fate Specification ». *Science China Life Sciences* 58(6):570-78. doi: 10.1007/s11427-015-4859-7.

Ramakrishnan, Sadeesh K., et Yatrik M. Shah. 2016. « Role of Intestinal HIF-2 $\alpha$  in Health and Disease ». *Annual Review of Physiology* 78:301-25. doi: 10.1146/annurev-physiol-021115-105202.

Rawat, Manmeet, Meghali Nighot, Rana Al-Sadi, Yash Gupta, Dharmaprakash Viszwapriya, Gregory Yochum, Walter Koltun, et Thomas Y. Ma. 2020. « IL1B Increases Intestinal Tight Junction Permeability by Up-Regulation of MIR200C-3p, Which Degrades Occludin mRNA ». *Gastroenterology* 159(4):1375-89. doi: 10.1053/j.gastro.2020.06.038.

Reinisch, Walter, William J. Sandborn, Mohan Bala, Songkai Yan, Brian G. Feagan, Paul Rutgeerts, Graham Radford-Smith, Stephen Xu, Debra Eisenberg, Allan Olson, et Jean Frédéric Colombel. 2007. « Response and Remission Are Associated with Improved Quality of Life, Employment and Disability Status, Hours Worked, and Productivity of Patients with Ulcerative Colitis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 13(9):1135-40. doi: 10.1002/ibd.20165.

Rocafull, Miguel A., Luz E. Thomas, Girolamo J. Barrera, et Jesús R. del Castillo. 2010. « Differential Expression of P-Type ATPases in Intestinal Epithelial Cells: Identification of Putative New Atp1a1 Splice-Variant ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 391(1):152-58. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.11.023.

Rodríguez, Luis Alberto García, Ana Ruigómez, et Julián Panés. 2006. « Acute Gastroenteritis Is Followed by an Increased Risk of Inflammatory Bowel Disease ». *Gastroenterology* 130(6):1588-94. doi: 10.1053/j.gastro.2006.02.004.

Roediger, W E. 1980. « Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. » *Gut* 21(9):793-98.

Roediger, W. E. 1980. « The Colonic Epithelium in Ulcerative Colitis: An Energy-Deficiency Disease? » *Lancet (London, England)* 2(8197):712-15. doi: 10.1016/s0140-6736(80)91934-0.

Roediger, W. E. 1982. « Utilization of Nutrients by Isolated Epithelial Cells of the Rat Colon ». *Gastroenterology* 83(2):424-29.

Rogoz, Aneta, Bernardo S. Reis, Roos A. Karssemeijer, et Daniel Mucida. 2015. « A 3-D Enteroid-Based Model to Study T-Cell and Epithelial Cell Interaction ». *Journal of Immunological Methods* 421:89-95. doi: 10.1016/j.jim.2015.03.014.

Rosa, Alexandra, Patrícia Abrantes, Inês Sousa, Vânia Francisco, Patrícia Santos, David Francisco, Joana M. Xavier, et Sofia A. Oliveira. 2016. « Ulcerative Colitis Is Under Dual (Mitochondrial and Nuclear) Genetic Control ». *Inflammatory Bowel Diseases* 22(4):774-81. doi: 10.1097/MIB.0000000000000694.

Rubin, David T., Marla C. Dubinsky, Remo Panaccione, Corey A. Siegel, David G. Binion, Sunanda V. Kane, et Joseph Hopper. 2010. « The Impact of Ulcerative Colitis on Patients' Lives Compared to Other Chronic Diseases: A Patient Survey ». *Digestive Diseases and Sciences* 55(4):1044-52. doi: 10.1007/s10620-009-0953-7.

Rutgeerts, Paul, William J. Sandborn, Brian G. Feagan, Walter Reinisch, Allan Olson, Jewel Johanns, Suzanne Travers, Daniel Rachmilewitz, Stephen B. Hanauer, Gary R. Lichtenstein, Willem J. S. de Villiers, Daniel Present, Bruce E. Sands, et Jean Frédéric Colombel. 2005. « Infliximab for Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis ». *The New England Journal of Medicine* 353(23):2462-76. doi: 10.1056/NEJMoa050516.

S, Sultan, El-Mowafy M, Elgaml A, Ahmed Tae, Hassan H, et Mottawea W. 2021. « Metabolic Influences of Gut Microbiota Dysbiosis on Inflammatory Bowel Disease ». *Frontiers in Physiology* 12. doi: 10.3389/fphys.2021.715506.

Saeedi, Bejan J., Daniel J. Kao, David A. Kitzenberg, Evgenia Dobrinskikh, Kayla D. Schwisow, Joanne C. Masterson, Agnieszka A. Kendrick, Caleb J. Kelly, Amanda J. Bayless, Douglas J. Kominsky, Eric L. Campbell, Kristine A. Kuhn, Glenn T. Furuta, Sean P. Colgan, et Louise E. Glover. 2015. « HIF-Dependent Regulation of Claudin-1 Is Central to Intestinal Epithelial Tight Junction Integrity ». *Molecular Biology of the Cell* 26(12):2252-62. doi: 10.1091/mbc.E14-07-1194.

Santhanam, Srikanth, Subapriya Rajamanickam, Anjan Motamarri, Balakrishnan S. Ramakrishna, Jayakumar G. Amirtharaj, Anup Ramachandran, Anna Pulimood, et Aparna Venkatraman. 2012. « Mitochondrial Electron Transport Chain Complex Dysfunction in the Colonic Mucosa in Ulcerative Colitis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 18(11):2158-68. doi: 10.1002/ibd.22926.

Sasaki, Nobuo, Norman Sachs, Kay Wiebrands, Saskia I. J. Ellenbroek, Arianna Fumagalli, Anna Lyubimova, Harry Begthel, Maaïke van den Born, Johan H. van Es, Wouter R. Karthaus, Vivian S. W. Li, Carmen López-Iglesias, Peter J. Peters, Jacco van Rheenen, Alexander van Oudenaarden, et Hans Clevers. 2016. « Reg4+ Deep Crypt Secretory Cells Function as Epithelial Niche for Lgr5+ Stem Cells in Colon ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(37):E5399-5407. doi: 10.1073/pnas.1607327113.

Sato, Toshiro, Daniel E. Stange, Marc Ferrante, Robert G. J. Vries, Johan H. van Es, Stieneke van den Brink, Winan J. van Houdt, Apollo Pronk, Joost van Gorp, Peter D. Siersema, et Hans Clevers. 2011. « Long-Term Expansion of Epithelial Organoids From Human Colon, Adenoma, Adenocarcinoma, and Barrett's Epithelium ». *Gastroenterology* 141(5):1762-72. doi: 10.1053/j.gastro.2011.07.050.

Sato, Toshiro, Robert G. Vries, Hugo J. Snippert, Marc van de Wetering, Nick Barker, Daniel E. Stange, Johan H. van Es, Arie Abo, Pekka Kujala, Peter J. Peters, et Hans Clevers. 2009. « Single Lgr5 Stem Cells Build Crypt-Villus Structures in Vitro without a Mesenchymal Niche ». *Nature* 459(7244):262-65. doi: 10.1038/nature07935.

Satsangi, J., M. S. Silverberg, S. Vermeire, et J-F Colombel. 2006. « The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications ». *Gut* 55(6):749-53. doi: 10.1136/gut.2005.082909.

Scholz, Carsten C., Miguel A. S. Cavadas, Murtaza M. Tambuwala, Emily Hams, Javier Rodríguez, Alex von Kriegsheim, Philip Cotter, Ulrike Bruning, Padraic G. Fallon, Alex Cheong, Eoin P. Cummins, et Cormac T. Taylor. 2013. « Regulation of IL-1 $\beta$ -Induced NF- $\kappa$ B by Hydroxylases Links Key Hypoxic and Inflammatory Signaling Pathways ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(46):18490-95. doi: 10.1073/pnas.1309718110.

Scorrano, L., V. Petronilli, R. Colonna, F. Di Lisa, et P. Bernardi. 1999. « Chloromethyltetramethylrosamine (Mitotracker Orange) Induces the Mitochondrial Permeability Transition and Inhibits Respiratory Complex I. Implications for the Mechanism of Cytochrome c Release ». *The Journal of Biological Chemistry* 274(35):24657-63. doi: 10.1074/jbc.274.35.24657.

Scorrano, Luca. 2013. « Keeping Mitochondria in Shape: A Matter of Life and Death ». *European Journal of Clinical Investigation* 43(8):886-93. doi: 10.1111/eci.12135.

Seifert, Erin L., Carmen Estey, Jian Y. Xuan, et Mary-Ellen Harper. 2010. « Electron Transport Chain-dependent and -independent Mechanisms of Mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Emission during Long-chain Fatty Acid Oxidation ». *The Journal of Biological Chemistry* 285(8):5748-58. doi: 10.1074/jbc.M109.026203.

Semenza, Gregg L. 2017. « Hypoxia-inducible factors: coupling glucose metabolism and redox regulation with induction of the breast cancer stem cell phenotype ». *The EMBO Journal* 36(3):252-59. doi: 10.15252/emj.201695204.

Seo, Dong Hyuk, Xiumei Che, Min Seob Kwak, Soochan Kim, Jae Hyeon Kim, Hyun Woo Ma, Da Hye Kim, Tae Il Kim, Won Ho Kim, Seung Won Kim, et Jae Hee Cheon. 2017. « Interleukin-33 regulates intestinal inflammation by modulating macrophages in inflammatory bowel disease ». *Scientific Reports* 7:851. doi: 10.1038/s41598-017-00840-2.

Shekhawat, Prem S., Sonne R. Srinivas, Dietrich Matern, Michael J. Bennett, Richard Boriack, Varghese George, Hongyan Xu, Puttur D. Prasad, Penny Roon, et Vadivel Ganapathy. 2007. « Spontaneous Development of Intestinal and Colonic Atrophy and Inflammation in the Carnitine-Deficient *Jvs* (OCTN2<sup>-/-</sup>) Mice ». *Molecular Genetics and Metabolism* 92(4):315-24. doi: 10.1016/j.ymgme.2007.08.002.

Siebert, Uwe, Johannes Wurm, Raffaella Matteucci Gothe, Marjan Arvandi, Stephan R. Vavricka, Roland von Känel, Stefan Bégré, Michael C. Sulz, Christa Meyenberger, Markus Sagmeister, et Swiss IBD Cohort Study Group. 2013. « Predictors of Temporary and Permanent Work Disability in Patients with Inflammatory Bowel Disease: Results of the Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort Study ». *Inflammatory Bowel Diseases* 19(4):847-55. doi: 10.1097/MIB.0b013e31827f278e.

Sifroni, Karla G., Carlos R. Damiani, Cristhopher Stoffel, Mariane R. Cardoso, Gabriela K. Ferreira, Isabela C. Jeremias, Gislaine T. Rezin, Giselli Scaini, Patricia F. Schuck, Felipe Dal-Pizzol, et Emilio L. Streck. 2010. « Mitochondrial Respiratory Chain in the Colonic Mucosal of Patients with Ulcerative Colitis ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 342(1-2):111-15. doi: 10.1007/s11010-010-0474-x.

Singhal, Rashi, et Yatrik M. Shah. 2020. « Oxygen Battle in the Gut: Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factors in Metabolic and Inflammatory Responses in the Intestine ». *Journal of Biological Chemistry* 295(30):10493-505. doi: 10.1074/jbc.REV120.011188.

Smillie, Christopher S., Moshe Biton, Jose Ordoñas-Montanes, Keri M. Sullivan, Grace Burgin, Daniel B. Graham, Rebecca H. Herbst, Noga Rogel, Michal Slyper, Julia Waldman, Malika Sud, Elizabeth Andrews, Gabriella Velonias, Adam L. Haber, Karthik Jagadeesh, Sanja Vickovic, Junmei Yao, Christine Stevens, Danielle Dionne, Lan T. Nguyen, Alexandra-Chloé Villani, Matan Hofree, Elizabeth A. Creasey, Hailiang Huang, Orit Rozenblatt-Rosen, John J. Garber, Hamed Khalili, A. Nicole Desch, Mark J. Daly, Ashwin N. Ananthakrishnan, Alex K. Shalek, Ramnik J. Xavier, et Aviv Regev. 2019. « Intra- and Inter-Cellular Rewiring of the Human Colon during Ulcerative Colitis ». *Cell* 178(3):714-730.e22. doi: 10.1016/j.cell.2019.06.029.

Solberg, Inger Camilla, Idar Lygren, Jørgen Jahnsen, Erling Aadland, Ole Høie, Milada Cvancarova, Tomm Bernklev, Magne Henriksen, Jostein Sauar, Morten H. Vatn, Bjørn Moum,

et And the IBSEN Study Group. 2009. « Clinical course during the first 10 years of ulcerative colitis: results from a population-based inception cohort (IBSEN Study) ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 44(4):431-40. doi: 10.1080/00365520802600961.

Sormendi, Sunday, et Ben Wielockx. 2018. « Hypoxia Pathway Proteins As Central Mediators of Metabolism in the Tumor Cells and Their Microenvironment ». *Frontiers in Immunology* 9:40. doi: 10.3389/fimmu.2018.00040.

Starkov, Anatoly A., Gary Fiskum, Christos Chinopoulos, Beverly J. Lorenzo, Susan E. Browne, Mulchand S. Patel, et M. Flint Beal. 2004a. « Mitochondrial Alpha-Ketoglutarate Dehydrogenase Complex Generates Reactive Oxygen Species ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 24(36):7779-88. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1899-04.2004.

Starkov, Anatoly A., Gary Fiskum, Christos Chinopoulos, Beverly J. Lorenzo, Susan E. Browne, Mulchand S. Patel, et M. Flint Beal. 2004b. « Mitochondrial  $\alpha$ -Ketoglutarate Dehydrogenase Complex Generates Reactive Oxygen Species ». *The Journal of Neuroscience* 24(36):7779-88. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1899-04.2004.

Stidham, Ryan W., et Peter D. R. Higgins. 2018. « Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease ». *Clinics in Colon and Rectal Surgery* 31(3):168-78. doi: 10.1055/s-0037-1602237.

Sturm, Andreas, et Axel U. Dignass. 2008. « Epithelial restitution and wound healing in inflammatory bowel disease ». *World Journal of Gastroenterology: WJG* 14(3):348-53. doi: 10.3748/wjg.14.348.

Sugimoto, Shinya, et Toshiro Sato. 2021. « Organoid vs In Vivo Mouse Model: Which is Better Research Tool to Understand the Biologic Mechanisms of Intestinal Epithelium? ». *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 13(1):195-97. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.06.027.

Sun, Huadong, Edwin CY Chow, Shanjun Liu, Yimin Du, et K. Sandy Pang. 2008. « The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations ». *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 4(4):395-411. doi: 10.1517/17425255.4.4.395.

Sun, Lihua, Teming Li, Hanlin Tang, Kun Yu, Yuanhang Ma, Min Yu, Yuan Qiu, Pengyuan Xu, Weidong Xiao, et Hua Yang. 2019. « Intestinal Epithelial Cells-Derived Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$  Is Essential for the Homeostasis of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes ». *Frontiers in Immunology* 10:806. doi: 10.3389/fimmu.2019.00806.

Sun, M., C. He, W. Wu, G. Zhou, F. Liu, Y. Cong, et Z. Liu. 2017. « Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ -induced interleukin-33 expression in intestinal epithelia contributes to mucosal

homeostasis in inflammatory bowel disease ». *Clinical and Experimental Immunology* 187(3):428-40. doi: 10.1111/cei.12896.

Thibault, Ronan, Pierre De Coppet, Kristian Daly, Arnaud Bourreille, Mark Cuff, Christian Bonnet, Jean-François Mosnier, Jean-Paul Galmiche, Soraya Shirazi-Beechey, et Jean-Pierre Segain. 2007. « Down-Regulation of the Monocarboxylate Transporter 1 Is Involved in Butyrate Deficiency during Intestinal Inflammation ». *Gastroenterology* 133(6):1916-27. doi: 10.1053/j.gastro.2007.08.041.

Thompson, A. A. Roger, Philip M. Elks, Helen M. Marriott, Suttida Eamsamrng, Kathryn R. Higgins, Amy Lewis, Lynne Williams, Selina Parmar, Gary Shaw, Emmet E. McGrath, Federico Formenti, Fredericus J. Van Eeden, Vuokko L. Kinnula, Christopher W. Pugh, Ian Sabroe, David H. Dockrell, Edwin R. Chilvers, Peter A. Robbins, Melanie J. Percy, M. Celeste Simon, Randall S. Johnson, Stephen A. Renshaw, Moira K. B. Whyte, et Sarah R. Walmsley. 2014. « Hypoxia-Inducible Factor 2 $\alpha$  Regulates Key Neutrophil Functions in Humans, Mice, and Zebrafish ». *Blood* 123(3):366-76. doi: 10.1182/blood-2013-05-500207.

Tian, Hua, Brian Biehs, Cecilia Chiu, Christian W. Siebel, Yan Wu, Mike Costa, Frederic J. de Sauvage, et Ophir D. Klein. 2015. « Opposing Activities of Notch and Wnt Signaling Regulate Intestinal Stem Cells and Gut Homeostasis ». *Cell Reports* 11(1):33-42. doi: 10.1016/j.celrep.2015.03.007.

Tian, Yang, Yongfei Li, Wen-Xin Wang, Wen-Li Jiang, Junjie Fei, et Chun-Yan Li. 2020. « Novel Strategy for Validating the Existence and Mechanism of the “Gut–Liver Axis” in Vivo by a Hypoxia-Sensitive NIR Fluorescent Probe ». *Analytical Chemistry* 92(6):4244-50. doi: 10.1021/acs.analchem.9b04578.

Torres, Joana, Stefanos Bonovas, Glen Doherty, Torsten Kucharzik, Javier P. Gisbert, Tim Raine, Michel Adamina, Alessandro Armuzzi, Oliver Bachmann, Palle Bager, Livia Biancone, Bernd Bokemeyer, Peter Bossuyt, Johan Burisch, Paul Collins, Alaa El-Hussuna, Pierre Ellul, Cornelia Frei-Lanter, Federica Furfaro, Christian Gingert, Paolo Gionchetti, Fernando Gomollon, Marien González-Lorenzo, Hannah Gordon, Tibor Hlavaty, Pascal Juillerat, Konstantinos Katsanos, Uri Kopylov, Eduards Krustins, Theodore Lytras, Christian Maaser, Fernando Magro, John Kenneth Marshall, Pär Myrelid, Gianluca Pellino, Isadora Rosa, Joao Sabino, Edoardo Savarino, Antonino Spinelli, Laurents Stassen, Mathieu Uzzan, Stephan Vavricka, Bram Verstockt, Janindra Warusavitarne, Oded Zmora, Gionata Fiorino, et on behalf of the European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO]. 2020. « ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment ». *Journal of Crohn's and Colitis* 14(1):4-22. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjz180.



Triner, Daniel, Xiang Xue, Andrew J. Schwartz, Inkyung Jung, Justin A. Colacino, et Yatrik M. Shah. 2017. « Epithelial Hypoxia-Inducible Factor 2 $\alpha$  Facilitates the Progression of Colon Tumors through Recruiting Neutrophils ». *Molecular and Cellular Biology* 37(5):e00481-16. doi: 10.1128/MCB.00481-16.

Truelove, S. C., et L. J. Witts. 1954. « Cortisone in Ulcerative Colitis ». *British Medical Journal* 2(4884):375-78.

Turner, Dan, Anne M. Griffiths, Gigi Veerman, Jewel Johanns, Lakshmi Damaraju, Marion Blank, et Jeffrey Hyams. 2013. « Endoscopic and Clinical Variables That Predict Sustained Remission in Children With Ulcerative Colitis Treated With Infliximab ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 11(11):1460-65. doi: 10.1016/j.cgh.2013.04.049.

Turner, Dan, Amanda Ricciuto, Ayanna Lewis, Ferdinando D'Amico, Jasbir Dhaliwal, Anne M. Griffiths, Dominik Bettenworth, William J. Sandborn, Bruce E. Sands, Walter Reinisch, Jürgen Schölmerich, Willem Bemelman, Silvio Danese, Jean Yves Mary, David Rubin, Jean-Frederic Colombel, Laurent Peyrin-Biroulet, Iris Dotan, Maria T. Abreu, et Axel Dignass. 2021. « STRIDE-II: An Update on the Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE) Initiative of the International Organization for the Study of IBD (IOIBD): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target Strategies in IBD ». *Gastroenterology* 160(5):1570-83. doi: 10.1053/j.gastro.2020.12.031.

Ungaro, Ryan, Saurabh Mehandru, Patrick B. Allen, Laurent Peyrin-Biroulet, et Jean-Frédéric Colombel. 2017. « Ulcerative colitis ». *Lancet (London, England)* 389(10080):1756-70. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32126-2.

Ussakli, Cigdem Himmetoglu, Anoosheh Ebaee, Jennifer Binkley, Teresa A. Brentnall, Mary J. Emond, Peter S. Rabinovitch, et Rosa Ana Risques. 2013. « Mitochondria and Tumor Progression in Ulcerative Colitis ». *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 105(16):1239-48. doi: 10.1093/jnci/djt167.

Van der Flier, Laurens G., et Hans Clevers. 2009. « Stem Cells, Self-Renewal, and Differentiation in the Intestinal Epithelium ». *Annual Review of Physiology* 71:241-60. doi: 10.1146/annurev.physiol.010908.163145.

Van Welden, Sophie, Andrew C. Selfridge, et Pieter Hindryckx. 2017. « Intestinal Hypoxia and Hypoxia-Induced Signalling as Therapeutic Targets for IBD ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 14(10):596-611. doi: 10.1038/nrgastro.2017.101.

VanDussen, Kelli L., Naomi M. Sonnek, et Thaddeus S. Stappenbeck. 2019a. « L-WRN conditioned medium for gastrointestinal epithelial stem cell culture shows replicable batch-to-

batch activity levels across multiple research teams ». *Stem cell research* 37:101430. doi: 10.1016/j.scr.2019.101430.

VanDussen, Kelli L., Naomi M. Sonnek, et Thaddeus S. Stappenbeck. 2019b. « L-WRN Conditioned Medium for Gastrointestinal Epithelial Stem Cell Culture Shows Replicable Batch-to-Batch Activity Levels across Multiple Research Teams ». *Stem Cell Research* 37:101430. doi: 10.1016/j.scr.2019.101430.

Ventura-Clapier, Renée, Anne Garnier, et Vladimir Veksler. 2008. « Transcriptional Control of Mitochondrial Biogenesis: The Central Role of PGC-1alpha ». *Cardiovascular Research* 79(2):208-17. doi: 10.1093/cvr/cvn098.

Vidal-Lletjós, Sandra, Mireille Andriamihaja, Anne Blais, Marta Grauso, Patricia Lepage, Anne-Marie Davila, Claire Gaudichon, Marion Leclerc, François Blachier, et Annaïg Lan. 2019. « Mucosal healing progression after acute colitis in mice ». *World Journal of Gastroenterology* 25(27):3572-89. doi: 10.3748/wjg.v25.i27.3572.

Vidal-Lletjós, Sandra, Mireille Andriamihaja, Anne Blais, Marta Grauso, Patricia Lepage, Anne-Marie Davila, Roselyne Viel, Claire Gaudichon, Marion Leclerc, François Blachier, et Annaïg Lan. 2019. « Dietary Protein Intake Level Modulates Mucosal Healing and Mucosa-Adherent Microbiota in Mouse Model of Colitis ». *Nutrients* 11(3). doi: 10.3390/nu11030514.

Vojdani, Aristo, Elroy Vojdani, et Datis Kharrazian. 2017. « Fluctuation of Zonulin Levels in Blood vs Stability of Antibodies ». *World Journal of Gastroenterology* 23(31):5669-79. doi: 10.3748/wjg.v23.i31.5669.

Wallimann, Theo, Caroline H. T. Hall, Sean P. Colgan, et Louise E. Glover. 2021. « Creatine Supplementation for Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Scientific Rationale for a Clinical Trial ». *Nutrients* 13(5):1429. doi: 10.3390/nu13051429.

Wang, Rui, Zhaoqi Li, Shaojun Liu, et Decai Zhang. 2023. « Global, Regional and National Burden of Inflammatory Bowel Disease in 204 Countries and Territories from 1990 to 2019: A Systematic Analysis Based on the Global Burden of Disease Study 2019 ». *BMJ Open* 13(3):e065186. doi: 10.1136/bmjopen-2022-065186.

Warburg, Otto, Franz Wind, et Erwin Negelein. 1927. « THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY ». *The Journal of General Physiology* 8(6):519-30.

Watanabe, Satoshi, Sakurako Kobayashi, Nobuhiko Ogasawara, Ryuichi Okamoto, Tetsuya Nakamura, Mamoru Watanabe, Kim B. Jensen, et Shiro Yui. 2022. « Transplantation of Intestinal Organoids into a Mouse Model of Colitis ». *Nature Protocols* 17(3):649-71. doi: 10.1038/s41596-021-00658-3.

Watkinson, Geoffrey. 1986. « Sulphasalazine: A Review of 40 Years' Experience ». *Drugs* 32(1):1-11. doi: 10.2165/00003495-198600321-00003.

Wegh, C. a. M., N. M. de Roos, R. Hovenier, J. Meijerink, I. Besseling-van der Vaart, S. van Hemert, et B. J. M. Witteman. 2019. « Intestinal Permeability Measured by Urinary Sucrose Excretion Correlates with Serum Zonulin and Faecal Calprotectin Concentrations in UC Patients in Remission ». *Journal of Nutrition and Metabolism* 2019:e2472754. doi: 10.1155/2019/2472754.

van Wijck, Kim, Thomas J. M. Verlinden, Hans M. H. van Eijk, Jan Dekker, Wim A. Buurman, Cornelis H. C. Dejong, et Kaatje Lenaerts. 2013. « Novel Multi-Sugar Assay for Site-Specific Gastrointestinal Permeability Analysis: A Randomized Controlled Crossover Trial ». *Clinical Nutrition* 32(2):245-51. doi: 10.1016/j.clnu.2012.06.014.

Wobben, Regina, Yvonne Hüsecken, Claudia Lodewick, Kathrin Gibbert, Joachim Fandrey, et Sandra Winning. 2013. « Role of Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  for Interferon Synthesis in Mouse Dendritic Cells ». *Biological Chemistry* 394(4):495-505. doi: 10.1515/hsz-2012-0320.

Xu, Binyue, Lu Chen, Yu Zhan, Karl Nelson S. Marquez, Lvjia Zhuo, Shasha Qi, Jinyu Zhu, Ying He, Xudong Chen, Hao Zhang, Yingying Shen, Gongxing Chen, Jianzhong Gu, Yong Guo, Shuiping Liu, et Tian Xie. 2022. « The Biological Functions and Regulatory Mechanisms of Fatty Acid Binding Protein 5 in Various Diseases ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10.

XU, CHUNMEI, et WEIGUO DONG. 2016. « Role of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in pathogenesis and disease evaluation of ulcerative colitis ». *Experimental and Therapeutic Medicine* 11(4):1330-34. doi: 10.3892/etm.2016.3030.

Xue, Xiang, Sadeesh Ramakrishnan, Erik Anderson, Matthew Taylor, Ellen M. Zimmermann, Jason R. Spence, Sha Huang, Joel K. Greenson, et Yatrik M. Shah. 2013. « Endothelial PAS Domain Protein 1 Activates the Inflammatory Response in the Intestinal Epithelium to Promote Colitis in Mice ». *Gastroenterology* 145(4):831-41. doi: 10.1053/j.gastro.2013.07.010.

Yamamoto, Takayuki, Abbi R. Saniabadi, Satoru Umegae, et Koichi Matsumoto. 2006. « Impact of Selective Leukocytapheresis on Mucosal Inflammation and Ulcerative Colitis: Cytokine Profiles and Endoscopic Findings ». *Inflammatory Bowel Diseases* 12(8):719-26. doi: 10.1097/00054725-200608000-00008.

Yeganeh, Pantea Rahmani, Jade Leahy, Schohraya Spahis, Natalie Patey, Yves Desjardins, Denis Roy, Edgard Delvin, Carole Garofalo, Jean-Philippe Leduc-Gaudet, David

St-Pierre, Jean-François Beaulieu, André Marette, Gilles Gouspillou, et Emile Levy. 2018. « Apple Peel Polyphenols Reduce Mitochondrial Dysfunction in Mice with DSS-Induced Ulcerative Colitis ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 57:56-66. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.03.008.

Yoo, Jun-Hwan, et Mark Donowitz. 2019. « Intestinal Enteroids/Organoids: A Novel Platform for Drug Discovery in Inflammatory Bowel Diseases ». *World Journal of Gastroenterology* 25(30):4125-47. doi: 10.3748/wjg.v25.i30.4125.

Yu, Shuiliang, Liraz Levi, Gemma Casadesus, George Kunos, et Noa Noy. 2014. « Fatty Acid-Binding Protein 5 (FABP5) Regulates Cognitive Function Both by Decreasing Anandamide Levels and by Activating the Nuclear Receptor Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\beta/\delta$  (PPAR $\beta/\delta$ ) in the Brain \*♦ ». *Journal of Biological Chemistry* 289(18):12748-58. doi: 10.1074/jbc.M114.559062.

Zamponi, Nahuel, Emiliano Zamponi, Sergio A. Cannas, Orlando V. Billoni, Pablo R. Helguera, et Dante R. Chialvo. 2018. « Mitochondrial Network Complexity Emerges from Fission/Fusion Dynamics ». *Scientific Reports* 8(1):363. doi: 10.1038/s41598-017-18351-5.

Zeitouni, Nathalie E., Sucheera Chotikatum, Maren von Köckritz-Blickwede, et Hassan Y. Naim. 2016. « The Impact of Hypoxia on Intestinal Epithelial Cell Functions: Consequences for Invasion by Bacterial Pathogens ». *Molecular and Cellular Pediatrics* 3(1):14. doi: 10.1186/s40348-016-0041-y.

Zhang, Hongjie, Xiao-Yi Kuai, Pengli Yu, Lin Lin, et Ruihua Shi. 2012. « Protective Role of Uncoupling Protein-2 against Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 27(3):603-8. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06879.x.

Zhang, Jintao, Man Yi, Longying Zha, Siqiang Chen, Zhijia Li, Cheng Li, Mingxing Gong, Hong Deng, Xinwei Chu, Jiehua Chen, Zheqing Zhang, Limei Mao, et Suxia Sun. 2016. « Sodium Butyrate Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy in Colorectal Cells: Implications for Apoptosis ». *PLOS ONE* 11(1):e0147218. doi: 10.1371/journal.pone.0147218.

Zhang, Zheng, Feng Zhang, Ashley Kuenzi Davis, Mei Xin, Gerd Walz, Weidong Tian, et Yi Zheng. 2022. « CDC42 controlled apical-basal polarity regulates intestinal stem cell to transit amplifying cell fate transition via YAP-EGF-mTOR signaling ». *Cell reports* 38(2):110009. doi: 10.1016/j.celrep.2021.110009.

Zhao, Yajin, Xiang Wang, Milody Noviana, et Man Hou. 2018. « Nitric Oxide in Red Blood Cell Adaptation to Hypoxia ». *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica* 50(7):621-34. doi: 10.1093/abbs/gmy055.

Zheng, Leon, Caleb J. Kelly, Kayla D. Battista, Rachel Schaefer, Jordi M. Lanis, Erica E. Alexeev, Ruth X. Wang, Joseph C. Onyiah, Douglas J. Kominsky, et Sean P. Colgan. 2017. « Microbial-derived Butyrate Promotes Epithelial Barrier Function Through IL-10 Receptor-dependent Repression of Claudin-2 ». *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 199(8):2976-84. doi: 10.4049/jimmunol.1700105.

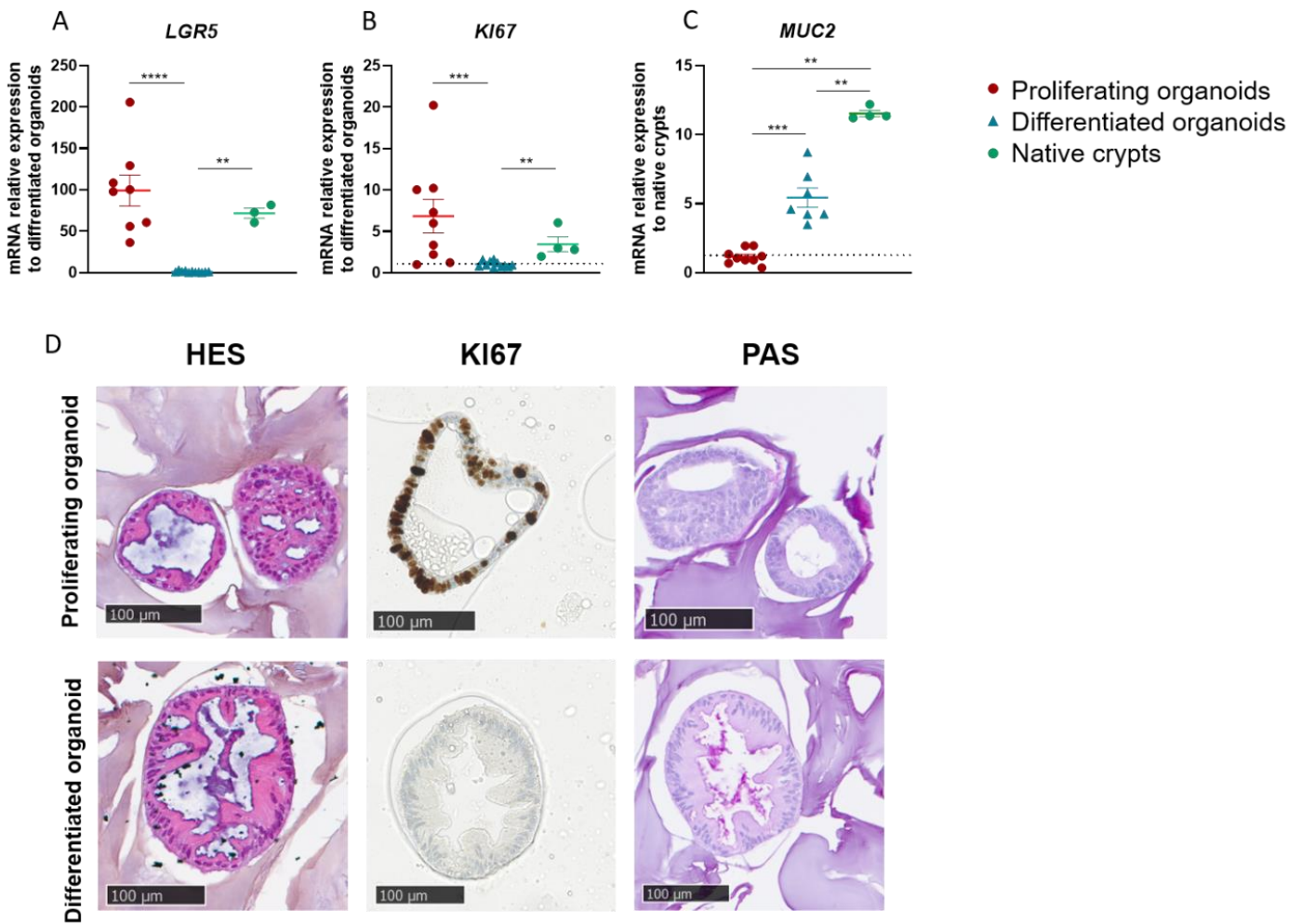
Zinovkin, Roman A., et Andrey A. Zamyatnin. 2019. « Mitochondria-Targeted Drugs ». *Current Molecular Pharmacology* 12(3):202-14.

Znalesniak, Eva B., Uwe Dürer, et Werner Hoffmann. 2009. « Expression Profiling of Stationary and Migratory Intestinal Epithelial Cells After in vitro Wounding: Restitution is Accompanied by Cell Differentiation ». *Cellular Physiology and Biochemistry* 24(1-2):125-32. doi: 10.1159/000227820.

Zouiten-Mekki, Lilia, Meriem Serghini, Monia Fekih, Lamia Kallel, Samira Matri, Nadia Ben Mustapha, Jalel Boubaker, et Azza Filali. 2013. « Rôle de la cellule épithéliale dans l'homéostasie intestinale et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ». *médecine/sciences* 29(12):1145-50. doi: 10.1051/medsci/20132912019.

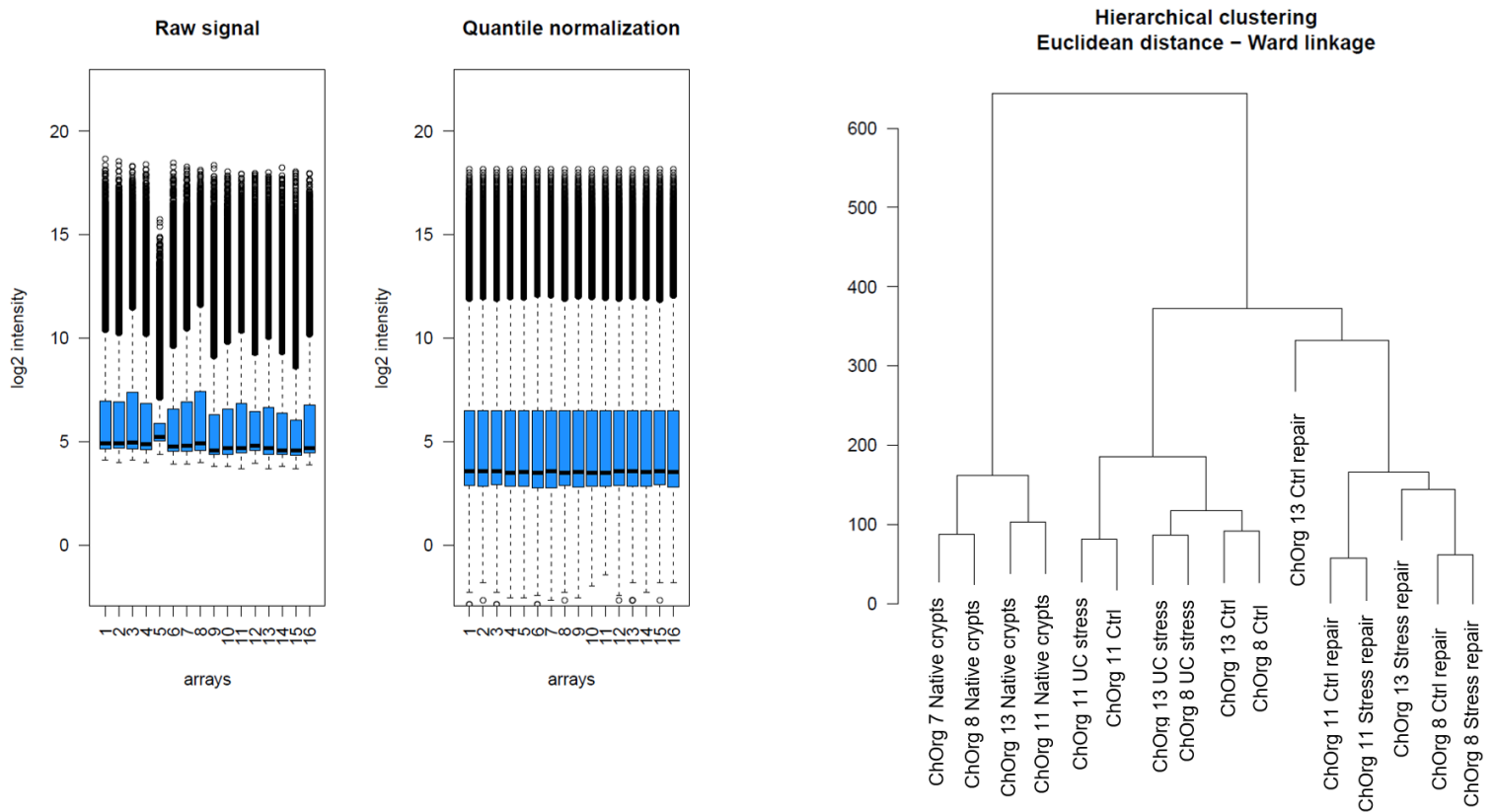


## Supplementary data

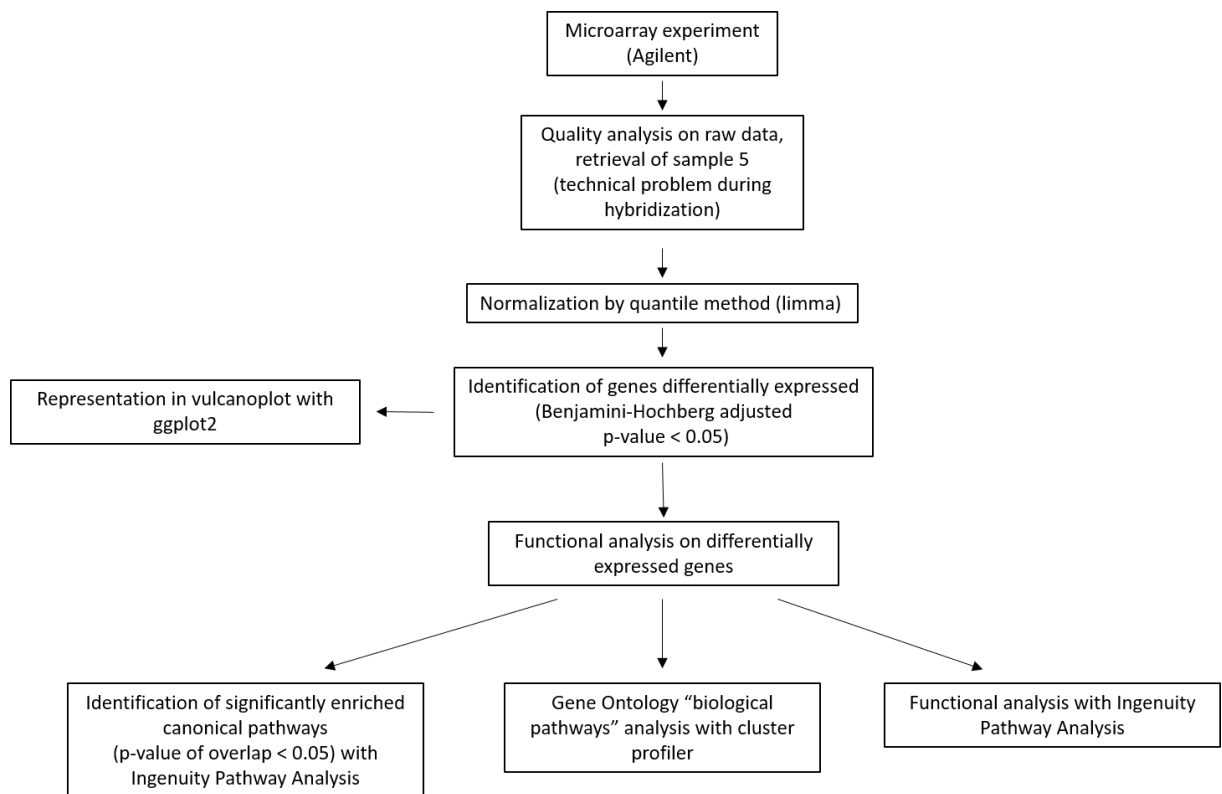


### Supp. Fig. 1: Characterization of the differentiated human colonic organoid model.

Gene expression of epithelial intestinal markers was measured in proliferative organoids, differentiated organoids, and native crypts by RT-qPCR. (A) Stem cell marker *LGR5* expression relative to differentiated organoids. (B) Proliferative cell marker *KI67* expression relative to differentiated organoids. (C) Goblet cell marker *Muc2* expression relative to proliferative organoids. (D) Histological examination of proliferative and differentiated organoids with HES, KI67 immunostaining and PAS staining. Results are shown as median with 95 CI. N Independent triplicates for each condition of N=4 patient-derived organoid cultures were analyzed. \*\*p<0.01 , \*\*\*p<0.001 , \*\*\*\*p<0.0001.



**Supp. Fig. 2: Sample quality control.** (A) Data normalization (B) Hierarchical ascending classification of data.

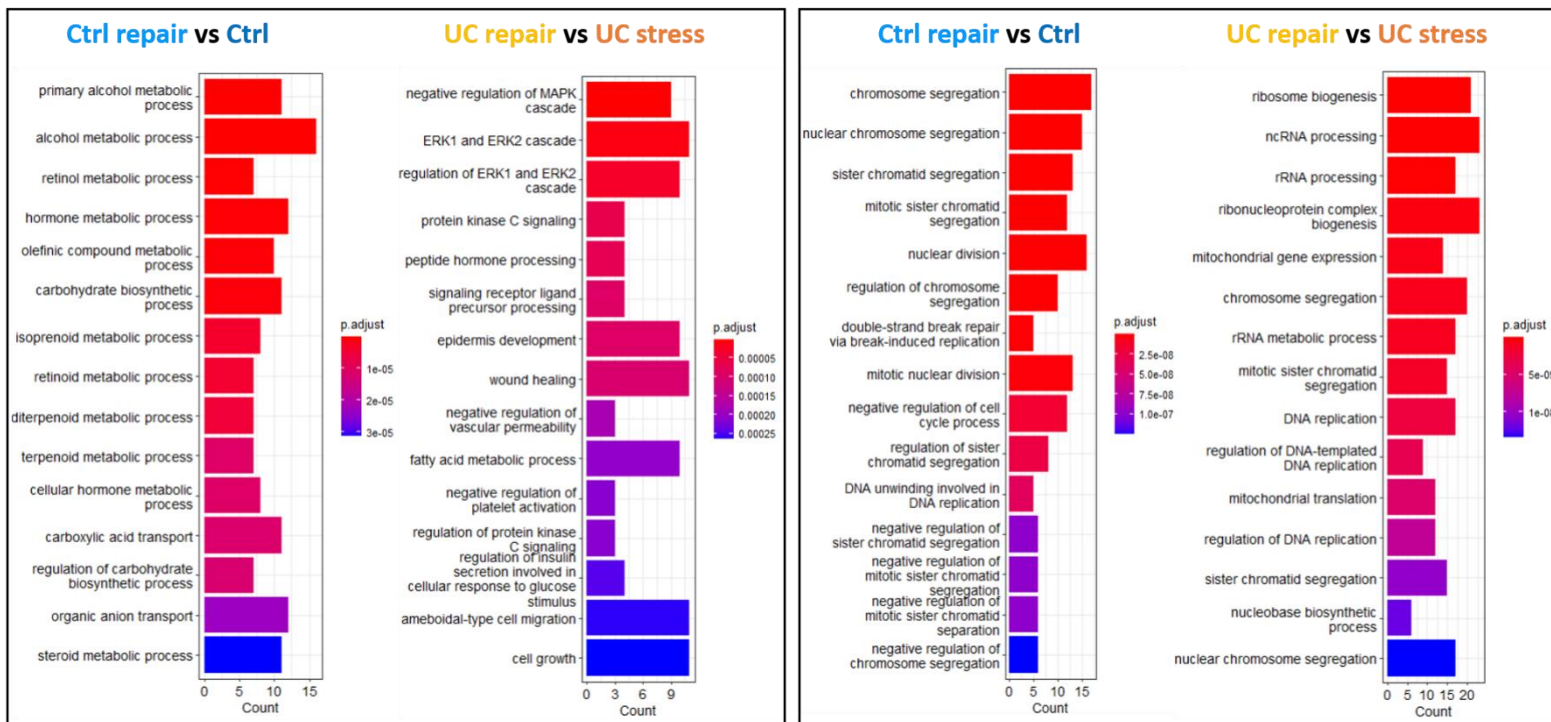


**Supp. Fig. 3: Flow diagram of the transcriptome analysis.**

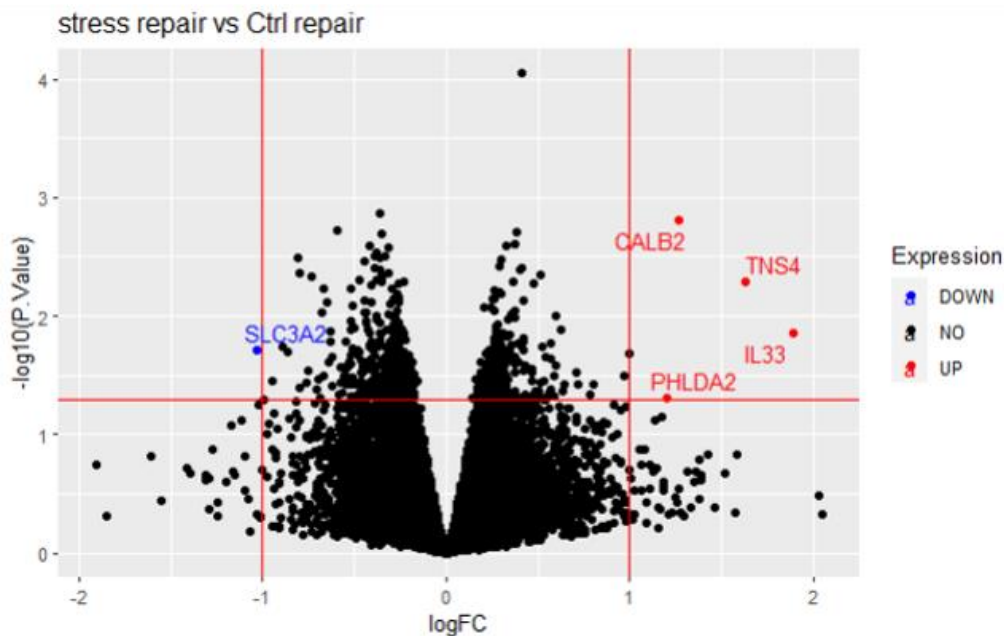


Down regulated functions

Up-regulated functions



Supp. Fig. 4: Top enriched up or down regulated GO biological process terms in each comparison.



Supp. Fig. 5: Most differentially expressed genes (-1 < log Fold Change < +1 ; adjusted p-val < 0.05) in Stress repair condition compared to Ctrl repair ones.

**Supp. Table 1: Functional analysis of differentially expressed genes in human colon organoids in UC stress repair conditions compared to UC stress. The top list of molecular and cellular significantly enriched functions is shown.**

Name	p-value range	Number of involved molecules	Number of annotated function	Top 1 annotated function	p-value	Activation z-score	Molecules	Number of molecules
Cellular Assembly and Organization	9,67E-03 - 1,08E-06	43	17	Alignment of chromosomes	1.08E-06	1.982	BIRC5,CCNA2,CENPE,DLGAP5,FOXM1,KIF2C,NCAPD2,NCAPD3,NEK9	9
DNA Replication, Recombination, and Repair	1,08E-02 - 1,08E-06	82	25	Segregation of chromosomes	3.63E-06	1.733	CCNA2,CCNB2,CDK1,CENPE,HDAC4,HJURP,HMMR,KIF2C,KNSTRN,MAD2L1,NCAPD2,NCAPD3,NEK9,PTTG1,RAD51,RIOK3,SPC25,TOP2A,TPX2	19
Cellular Development	1,07E-02 - 1,92E-06	195	62	Cell proliferation of tumor cell lines	1.97E-04	3.220	ADA,AHCY,AKAP12,ATAD3A,BIRC5,BMP4,BOP1,C1QBP,CAMK2N1,CBLC,CCNA2,CCNB2,CDK1,CDK4,CDKN2B,CDKN3,CEACAM1,CENPE,CES2,CKS2,CLDN2,CLIP1,COL18A1,CXADR,CYP2J2,DAPK2,DDIT3,DDX28,DLGAP5,DLK2,DNAJA3,DTYMK,DUSP1,DUSP5,DUSP6,E2F2,EHMT2,EMP1,ERBIN,ERRF1,EZR,F3,FA2H,FABP5,FBXO9,FGFBP1,FOXM1,FOXO1,GAS6,GNL3,GNPAT,GOT2,GPX1,GUCA2B,HDAC4,HJURP,HK2,HMGCS1,HMMR,HMOX1,HPGD,HSPD1,ID1,IFITM3,IL1RN,IL22RA1,IRF8,ITCH,JUNB,JUND,KAT2B,KCTD12,KDM3A,KIF23,KIF2C,KITLG,KLF2,KLF4,KPNA2,KRT17,LIG1,MAD2L1,MAP2K6,MAPK3,MECOM,MGAT3,MYB,MYC,MYL9,NACC2,NCAPD2,NCL,NDRG1,NDRG4,NEDD9,NET1,NOX1,NUDT1,PAICS,PBK,PCLAF,PCNA,PDGFB,PDK1,PHB1,PLAUR,PLEK2,PLOD2,PLS1,PPARD,PPARGC1B,PPIL1,PPP1R10,PRDM1,PRSS8,PTTG1,RAD51,RAMP1,RPTOR,SELENOP,SERTAD2,SH2B3,SLC26A3,SLC40A1,SMAD7,SMOX,SMPD1,SMPD3,SNCG,SNRK,SRM,SULT2B1,TIAM1,TIMP2,TM4SF20,TPX2,TRAP1,TRIM28,TYMS,UBE2C,UGCG,VEGFA,ZFP36	143
Cellular Growth and Proliferation	1,09E-02 - 1,92E-06	191	57	Cell proliferation of colorectal cancer cell lines	6.72E-03	2.168	ATAD3A,BIRC5,BMP4,CDK1,CES2,CLDN2,COL18A1,DAPK2,DUSP5,E2F2,ERRF1,FA2H,GUCA2B,HDAC4,ID1,IFITM3,KLF4,MYC,NCL,NEDD9,PPIL1,PRSS8,PTTG1,RAD51,SLC26A3,SMAD7,SMPD1,SNRK,SULT2B1,TIAM1,TYMS,UBE2C,VEGFA	33



## RESULTATS COMPLEMENTAIRES

---

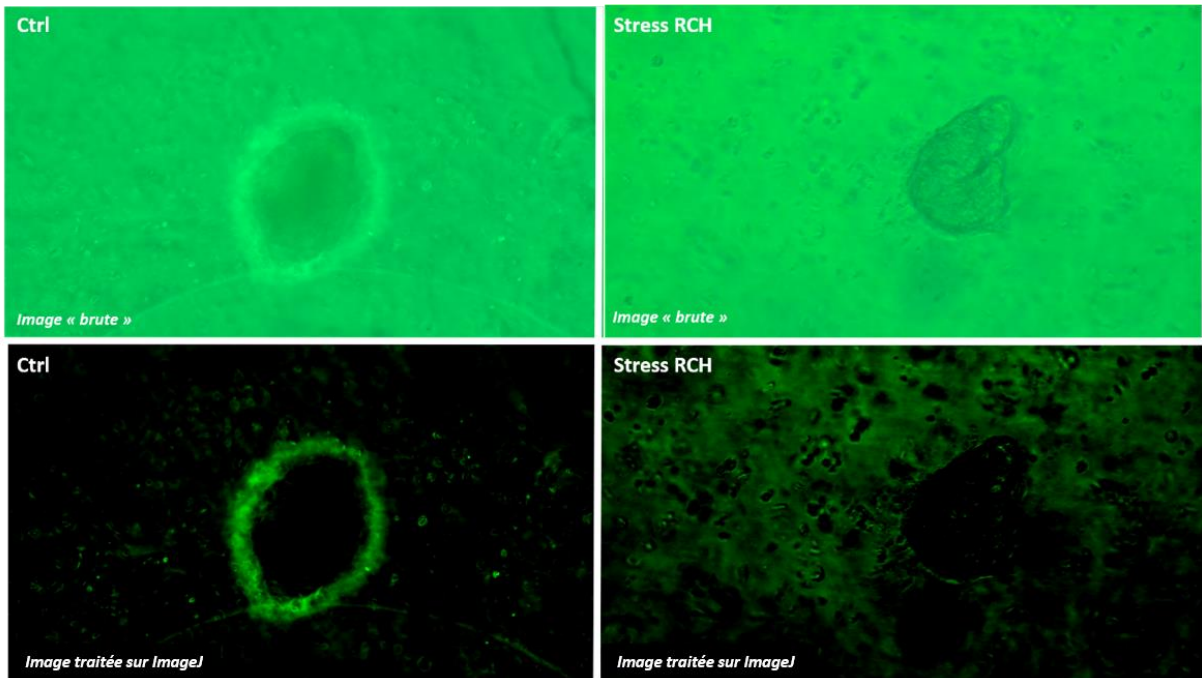
## 1. Mise au point d'une méthode pour l'évaluation de la perméabilité des organoïdes intestinaux

La phase inflammatoire induit une augmentation de la perméabilité intestinale chez les patients RCH (Miki et al. 1998). Il paraît pertinent d'évaluer si cette perméabilité est reproduite dans notre modèle cellulaire de RCH.

L'étude de la perméabilité a été initiée par un test au Fluorescein isothiocyanate–Carboxymethyl–Dextran (FITCdextran – Sigma Aldrich 4 kDa).

### 1<sup>er</sup> essai : FITC dextran

Inspiré du protocole de Lee *et al.* 2021, le milieu de culture a été remplacé par une solution à 25 ng/mL de FITC dextran et les cellules placées en incubateur pendant 20 minutes à 37°C et 18% d'O<sub>2</sub> pour les deux conditions (Ctrl et stress RCH). La solution est ensuite retirée et les dômes de matrigel contenant les organoïdes ont été rincés 2 fois avec du PBS. Les acquisitions ont été réalisées avec un microscope à fluorescence verte Axio Vert A.1 (Zeiss). Les images obtenues ont ensuite été traitées avec le logiciel Fiji ImageJ afin de le bruit de fond. En effet, le FITCdextran interagit avec le matrigel et est à l'origine d'un important bruit de fond (Figure 33). Pour les expérimentations ultérieures, un plus grand nombre de lavages a été effectué afin de limiter au mieux ce bruit de fond.

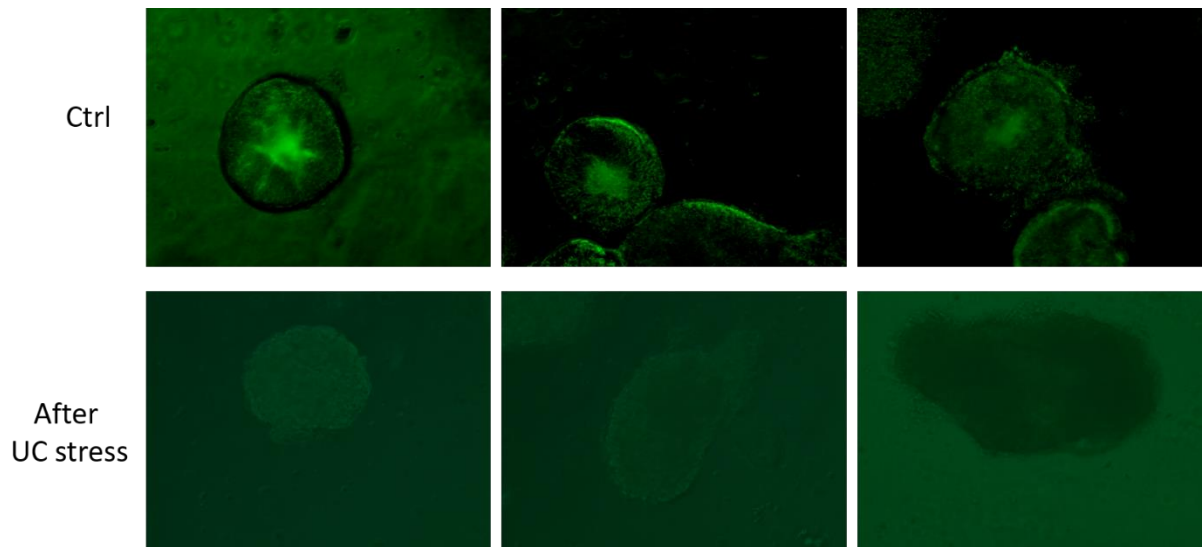


**Figure 33. Image par microscopie à fluorescence d'organoïde colique en présence de FITC dextran pour étudier la perméabilité sur organoïdes. Images obtenues RCH après incubation au FITC dextran d'organoïdes coliques en condition Ctrl et Stress.**

Les premiers résultats indiquent que dans la condition Ctrl, le FITC dextran est localisé dans la monocouche de l'épithélium des organoïdes mais ne semble pas pénétrer jusque dans la lumière de l'organoïde. Dans la condition stress RCH, aucune localisation du FITC dextran ne semble être mise en évidence sur ces acquisitions.

2<sup>ème</sup> essai :

Pour ce second essai, la concentration en FITC dextran et le nombre de lavages ont été augmentés. Les organoïdes en conditions Ctrl et stress RCH ont été mis en contact d'une solution de FITC dextran à 50 ng/mL dans du PBS. L'acquisition a été réalisée au bout de 20 min d'incubation suivi de 5 lavages au PBS. La première acquisition a été réalisée avec le même microscope à fluorescence verte Axio Vert A.1 (Zeiss).

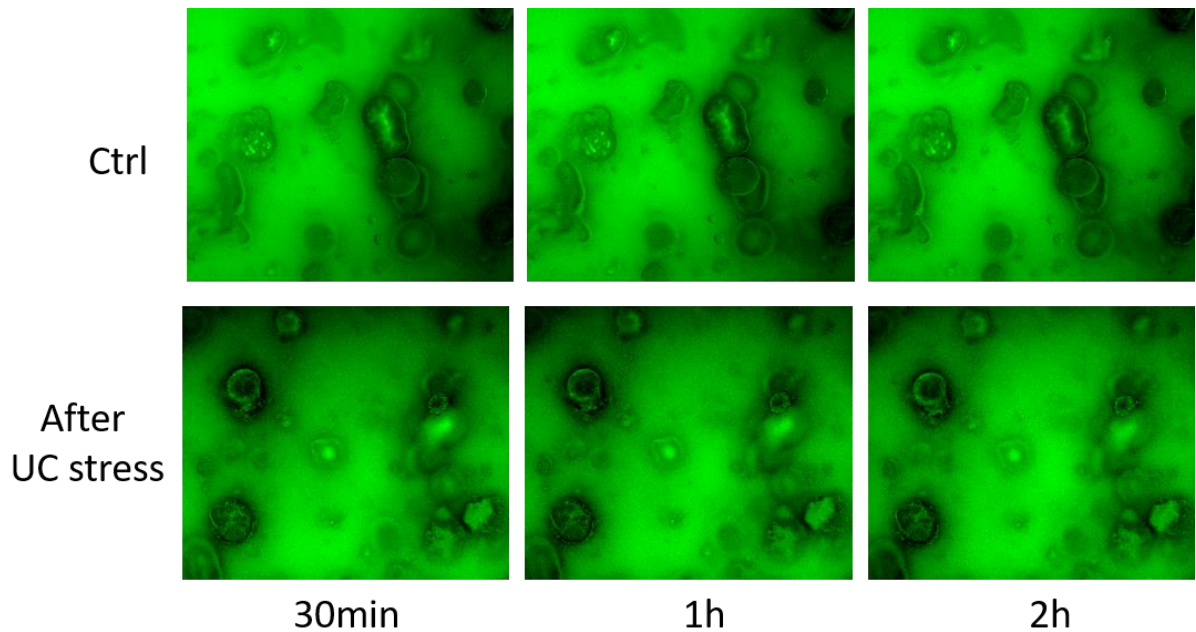


**Figure 34. Test de perméabilité au FITC dextran sur organoïde colique humain en condition Ctrl et UC stress (ou stress RCH). Microscopie à fluorescence verte, grossissement x20.**

Ce second essai révèle cette fois du FITC dextran localisé dans la lumière de certains organoïdes de la condition contrôle. En revanche, dans la condition stress RCH aucune fluorescence verte relative au FITC dextran n'a été mise en évidence. Malgré l'augmentation du nombre de lavages, le bruit de fond dû à la fluorescence verte était toujours présent (Figure 34).

### 3<sup>ème</sup> essai :

Un troisième essai a été réalisé avec 100ng/ $\mu$ L de FITC dextran dans du PBS. Cette fois-ci les dômes de matrigel contenant les organoïdes n'ont pas été lavés au PBS mais une cinétique a été réalisée grâce au microscope à fluorescence en temps réel (CellCyte X<sup>TM</sup>) pendant 2h. Les acquisitions ont été réalisées toutes les 30 minutes avec un objectif x4. Ce changement de microscope a permis le suivi de l'incorporation du FITCdextran en continu.



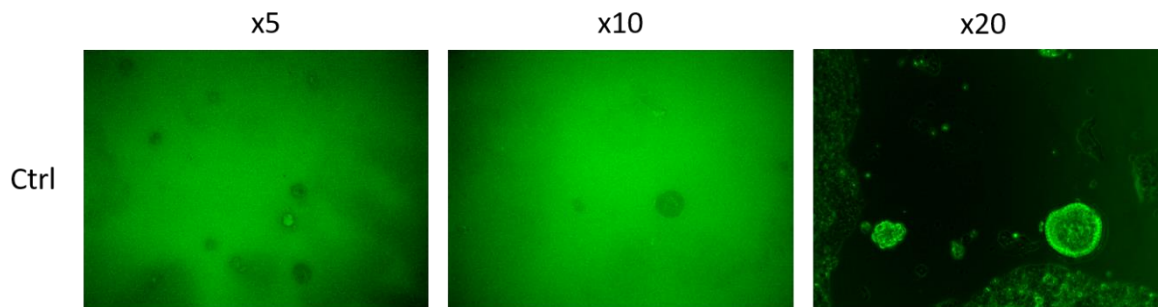
**Figure 35. Suivi d'un test de perméabilité au FITC dextran par microscopie à fluorescence.** Cinétique par microscopie optique à fluorescence CellCyte X<sup>TM</sup>. Images présentées sans correction de bruit de fond.

Les résultats sont très disparates en fonction des organoïdes. Lors des premiers essais, la fluorescence verte est observée seulement dans la lumière de certains organoïdes en condition Ctrl. Dans cette expérimentation, le FITC dextran semble cependant pénétrer dans la lumière des organoïdes au cours du temps quelle que soit la condition. Cependant, la présence de fluorescence dans la lumière des organoïdes est plus importante dans la condition Ctrl (Figure 35). Ces résultats concordent avec ceux obtenus au cours des premières expérimentations. Il est possible que le passage du FITC dextran soit modifié dans la condition stress RCH en raison de l'inversion de polarité présente chez certains organoïdes en réponse au traitement. La condition stress RCH ne semble pas perméable au FITC dextran, ce qui suscite des interrogations quant à la taille peut être trop grande de la molécule. Des expérimentations ont alors été réalisées avec une autre molécule de plus petite taille : la Na-fluorescéine (376 Da – Sigma ref 6377).



#### 4<sup>ème</sup> essai : La Na-fluorescéine

Dans un premier temps, un contrôle positif de la perméabilité à la Na-Fluorescéine a été réalisé en ajoutant du DSS à 5% pendant les traitements des organoïdes, en conditions Ctrl.



**Figure 36. Contrôle positif de perméabilité au DSS avec de la Na-Fluorescéine.** 5% de DSS ont été ajoutés aux milieux des organoïdes pendant les 24h de traitement en condition Ctrl. L'acquisition a été réalisée par microscopie à fluorescence verte Axio Vert A.1 (Zeiss).

En présence de DSS, seuls les organoïdes de grande taille ont survécu dans la condition Ctrl. Parmi ces organoïdes, la fluorescence verte caractéristique de la Na-fluorescéine était localisée aussi bien dans l'épithélium que dans la lumière (Figure 36).

Dans un second temps, une cinétique a de nouveau été réalisée à 37°C avec 18% d'O<sub>2</sub> et avec 100 mg/mL de Na-fluorescéine dans le milieu de culture des organoïdes. De nouvelles acquisitions en microscopie à fluorescence verte ont été réalisées toutes les 30 minutes pendant 2h30, chacune précédée de 4 lavages au PBS. Ces résultats ne sont pas présentés ici car ils sont inexploitable. Le bruit de fond de fluorescence est important quelles que soient les conditions de traitements et d'acquisition. En effet, la Na-fluorescéine est retenue dans le matrigel, ce qui génère un bruit de fond important et nuit à la qualité des acquisitions. Ce problème se manifeste dans toutes les observations, indépendamment des traitements appliqués. Pour améliorer ce test, il serait envisageable de retirer les organoïdes du matrigel avec précaution pour éviter la présence de bruit de fond (Figure 39).

## **2. Mise au point de méthode pour l'évaluation de la perméabilité des organoïdes intestinaux en 2D**

En parallèle de ces tests, une autre méthode d'étude de la perméabilité a été mise en place avec le CellZscope E (Proteigene). L'objectif était de faire passer les organoïdes de la 3D à la 2D afin d'obtenir un tapis cellulaire pour mesurer la TEER. Cet objectif n'a pour le moment pas été atteint car ce processus demande un grand nombre d'organoïdes pour obtenir un tapis cellulaire stable et viable dans le temps. Cette méthode nécessite donc des optimisations avant de pouvoir être exploitée correctement.

## ETUDES CLINIQUES

---

Initialement, deux études cliniques étaient prévues pendant mon projet de thèse. Cependant, les autorisations nécessaires à leur lancement ont été obtenues trop tardivement en raison de la pandémie COVID et de la réponse des instances concernant les demandes de promotion (obtenues en décembre 2022 et mars 2023 respectivement). J'ai toutefois pu participer à l'élaboration de leurs protocoles et de leur mise en place.

## 1. Contexte des études cliniques

Le processus de cicatrisation intestinale nécessite, en fonction de l'intensité de l'inflammation et des lésions générées, des étapes de migration, de prolifération et de différenciation épithéliales afin de réparer les zones lésées et de rétablir la fonctionnalité de la barrière colique. Néanmoins, les mécanismes moléculaires de la cicatrisation muqueuse et leurs régulations restent peu décrits. En particulier, l'implication de la mitochondrie, site majeur de la production énergétique cellulaire, a été peu étudiée dans la réparation épithéliale. Il est fortement probable qu'en condition de réparation épithéliale après un épisode inflammatoire, les besoins énergétiques des cellules épithéliales soient plus importants, du fait d'une augmentation de la synthèse de protéines, plus spécifiquement impliquées dans le rétablissement des barrières physiques et chimiques et le rétablissement des fonctions physiologiques du côlon telles l'absorption de l'eau et des électrolytes. En outre, l'importance de la fonction mitochondriale dans la physiopathologie de la RCH a été soulignée chez les patients. En effet, il a été observé une dysfonction mitochondriale, incluant une diminution de l'activité de la chaîne de transport d'électrons, de faibles niveaux d'ATP, ainsi qu'une diminution de l'expression de certaines protéines des complexes de la chaîne respiratoire, ainsi qu'une (Sifroni et al. 2010; Santhanam et al. 2012; Bouguen et al. 2015)augmentation de la fréquence des mutations de l'ADN mitochondrial (Macé et al. 2015).

Parmi les facteurs susceptibles de moduler la cicatrisation muqueuse, l'alimentation pourrait jouer un rôle essentiel puisque les aliments et les nutriments interagissent directement avec les acteurs de l'homéostasie intestinale (cellules épithéliales, cellules immunitaires, microbiote). Pourtant, l'influence de l'alimentation a peu été étudiée dans le cadre de la cicatrisation intestinale après un épisode inflammatoire (Lan et al. 2016), la plupart des études sur le lien entre alimentation et RCH, se focalisant sur la phase inflammatoire intestinale. Le régime alimentaire est l'un des facteurs environnementaux majeurs incriminé dans l'induction mais aussi dans la perpétuation des MICI, probablement en raison de modifications de l'environnement luminal (composition et activités du microbiote, caractéristiques physico-chimiques...), ce qui peut affecter le métabolisme des cellules épithéliales intestinales selon les substrats énergétiques disponibles. Vidal-Lletjós *et al.* ont montré dans un modèle expérimental murin de colite chimio-induite que le niveau d'apport protéique alimentaire

module la cicatrisation de la muqueuse post-colite en lien avec l'activité du microbiote adhérent, dont la composition est également influencée par l'apport alimentaire (Vidal-Lletjós, Andriamihaja, Blais, Grauso, Lepage, Davila, Viel, et al. 2019).

Le rôle de l'alimentation dans l'étiologie et le traitement des MICI reste donc mal compris, en particulier en raison d'outils d'évaluation des consommations inadéquats pour les patients RCH. La plupart des outils d'évaluation nutritionnelle évalue une prise alimentaire globale sans prendre en compte les variations alimentaires périodiques liées aux plaintes digestives, fréquentes au cours des MICI. Les habitudes alimentaires peuvent en effet varier suivant le stade de la maladie, les patients adaptant leur consommation selon leur ressenti et leur tolérance. A notre connaissance, les quelques enquêtes alimentaires disponibles n'intègrent pas non plus de suivi de consommation sur plusieurs mois afin d'évaluer l'impact potentiel de la consommation de certains nutriments sur la cicatrisation intestinale.

Ces constats ont conduit à la formulation de trois hypothèses :

**Hypothèse 1.** La réparation épithéliale en réponse à l'inflammation intestinale nécessite des besoins énergétiques importants en raison de l'augmentation probable des processus anaboliques impliqués, pour le rétablissement de la fonction de barrière et des fonctions physiologiques intestinales.

**Hypothèse 2.** La fonction mitochondriale joue un rôle central dans la réparation épithéliale.

**Hypothèse 3.** L'alimentation joue un rôle clé dans l'évolution de la maladie.

## 2. Etude CICALIM « Cicatrisation et Alimentation »

Afin de contribuer à déterminer si les apports en macro- et micro-nutriments dans le processus influencent le processus de cicatrisation muqueuse, une étude clinique multicentrique sera mise en place dans différents centres hospitaliers (Angers, Brest, Rouen, Rennes, Bobigny et Nantes). Les patients atteints de RCH seront recrutés au cours d'une première visite en phase inflammatoire. Les données cliniques seront récoltées. Les patients répondront à un questionnaire de fréquence alimentaire au cours de cette visite, puis 3 mois après, dans le cadre de leur suivi médical incluant un examen de la muqueuse colique.

Numéro d'étude : C21-43 (2022-A01642-41)

Date d'autorisation du CPP : 19.12.2022

### 3. Etude MITIC « dysfonction MITochondriale et cICatrisation intestinale »

Afin de répondre déterminer s'il existe des profils différentiels liés à l'activité mitochondriale entre patients RCH ayant atteint le stade de cicatrisation muqueuse en comparaison aux patients non-cicatrisés, une étude clinique monocentrique longitudinale chez des patients RCH au cours de leur suivi, couvrant les phases d'inflammation et de rémission sera réalisée au Services des Maladies de l'Appareil Digestive (CHU Rennes). Les changements métaboliques des cellules épithéliales intestinales seront évalués à l'aide d'approches complémentaires pour évaluer leur contribution (OXPHOS/glycolyse, biogenèse mitochondriale) dans la réparation épithéliale et s'il existe des différences entre patients cicatrisés ou non. Les patients atteints de RCH seront recrutés au cours d'une première visite en phase inflammatoire. Les données cliniques, des biopsies coliques et prélèvements sanguins seront récoltés. Ces patients répondront également au questionnaire de fréquence alimentaire développé dans l'étude CICALIM au cours de cette visite. Dans le cadre de leur suivi médical, ces patients sont réévalués à 3 mois. Les mêmes évaluations, cliniques, biologiques et d'étude de consommation alimentaire seront réalisées. A partir des biopsies coliques, l'analyse des gènes différentiellement exprimés de la muqueuse colique (principalement épithéliaux) des individus sera réalisée à l'aide de puces à ADN Agilent, et celle de l'analyse bioénergétique mitochondriale, par la méthode Seahorse®. Des analyses histo-morphologiques de la muqueuse, des profils protéiques et du microbiote adhérent seront réalisées. Un bilan des marqueurs biochimiques de statut nutritionnel sera effectué à partir des prélèvements sanguins. Toutes ces données seront corrélées avec les réponses du questionnaire de fréquence alimentaire.

Cette étude permettra d'obtenir une vue intégrée du rôle de la mitochondrie dans la réparation épithéliale et des signatures transcriptionnelles par la comparaison des profils entre les patients qui ont atteint le stade de cicatrisation de la muqueuse par évaluation endoscopique (environ 40% des patients) et ceux qui ne l'ont pas atteint.

Numéro d'étude : C21-15 (A02516-35)

Date d'autorisation du CPP : 24.02.2022



## DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

---



L'intérêt d'abroger l'inflammation de la muqueuse colique chez les patients atteints de RCH est bien démontré en améliorant le pronostic de la maladie. Le nouvel objectif thérapeutique est ainsi l'obtention et le maintien d'une cicatrisation endoscopique de la muqueuse colique cicatrisée et d'une cicatrisation histologique (Turner et al 2021). De nombreux travaux ont été réalisés pour l'analyse de la réponse inflammatoire, mais peu ont porté sur la phase de cicatrisation muqueuse. Les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation épithéliale de la muqueuse colique des patients RCH à la suite d'un épisode inflammatoire restent peu connus, en partie liée à l'absence de modèle pour l'étude de ces processus. Il a été décrit dans la littérature, développé dans ce manuscrit, l'importance du métabolisme énergétique pour atteindre et maintenir la réparation épithéliale au sein de la muqueuse colique des patients RCH après un épisode inflammatoire. Au-delà d'un modèle inflammatoire de RCH, un modèle d'organoïdes capable de reproduire à la fois la phase inflammatoire et cicatricielle a été développé au cours de ce projet. L'étude des voies impliquées dans la réparation épithéliale a pour fin ultime de déterminer de nouvelles voies à stimuler pour favoriser et maintenir la réparation épithéliale.

# 1. Les organoïdes coliques humains : un modèle moderne d'étude de la rectocolite hémorragique

## 1.1. Caractérisation d'un modèle d'organoïdes coliques humains différenciés

Les modèles les plus pertinents pour l'étude des mécanismes impliqués au cours des MICI restent des modèles *in vivo*, principalement le modèle murin de colite induite par le DSS. Cependant, l'évolution du cadre éthique tend à limiter le recours à l'expérimentation animale afin de respecter le principe des 3R (réduire, remplacer, raffiner). La variabilité inter espèce rend en outre discutable la transposition des résultats à l'Homme. Concernant les modèles *in vitro*, la plupart se cantonnent à une approche en 2 dimensions, utilisant des monocultures ou des co-cultures, restreignant la complexité structurelle et phénotypique de l'épithélium colique. L'architecture de l'épithélium colique chez l'Homme engendre un gradient d'oxygène au sein des cryptes, une disponibilité variable en substrats, ainsi qu'une diversité métabolique au sein des différentes populations cellulaires (Dutton et al. 2019). Il apparaît possible, contrairement aux modèles en 2D, de reproduire certaines de ces caractéristiques dans le modèle d'organoïdes coliques.

Le modèle d'organoïde différenciés utilisé dans mes travaux a permis de reproduire une architecture épithéliale en 3 dimensions présentant des caractéristiques de types cellulaires épithéliaux majeurs présents dans les cryptes coliques natives comme l'indiquait les niveaux d'expression génique de marqueurs de cellules différenciées (colonocytes et cellules caliciformes avec l'expression génique d'*ATPA1* et *MUC2*, respectivement), et une proportion réduite de cellules souches (*LGR5*) et proliférantes (*KI67*). L'analyse de l'expression génique reste une approche pertinente pour caractériser la diversité des types cellulaires dérivés de cellules souches adultes et démontre la possibilité d'obtenir *in vitro* une meilleure représentativité de l'épithélium colique tel qu'il se présente chez l'individu humain (Varani et al., 2021).

La caractéristique intrinsèque tridimensionnelle offre une plateforme idéale pour étudier précisément la morphologie et l'organisation cellulaire en réponse aux contraintes de stress. En effet, les organoïdes présentent une lumière en leur centre, ce qui contribue à polariser les cellules qui les constituent. Dans l'étude d'Aldebert, cette polarité a été étudiée et un phénomène d'inversion a été mis en évidence dans les organoïdes issus de patient RCH (d'Aldebert et al. 2020b). Dans notre étude, une inversion de polarité similaire a été observée

pour près d'un quart des organoïdes soumis aux conditions de stress RCH (hypoxie combinée à l'inflammation) suggérant des réaménagements de l'épithélium en réponse à ces conditions inflammatoires.

## 1.2. Reproduction de la réponse inflammatoire au cours de la RCH

Le stress inflammatoire sur modèles actuels de RCH est induit majoritairement par l'utilisation de cytokines pro-inflammatoires ou d'agents pathogènes (Hibiya et al. 2017). Ces expériences reproduisent en partie les événements cellulaires induits par le stress inflammatoire car n'intègrent pas l'hypoxie de la muqueuse décrite chez les patients RCH (Tian et al. 2020). L'un des avantages du modèle d'organoïdes développé dans ce projet est la combinaison d'une hypoxie couplée au traitement avec les cytokines pro-inflammatoires. L'ajout de ce facteur physiopathologique a permis de reproduire les conditions d'un épisode inflammatoire rencontrées par les patients RCH en phase active de la maladie. Cette hypoxie influe de manière conséquente sur l'activité métabolique des CEI, en particulier l'OXPHOS et donc sur leur capacité à produire de l'énergie pour reformer un épithélium intestinal sain après un épisode inflammatoire (Fuhrmann et Brüne 2017). Le choix des cytokines pro-inflammatoire est en accord avec les mesures retrouvées dans la muqueuse des patients RCH. De plus le TNF $\alpha$  active la voie de signalisation NF- $\kappa$ B, qui constitue l'une des cibles thérapeutiques de la pathologie (Rutgeerts et al. 2005). Dans l'étude d'Aldebert *et al.* a deux types de culture d'organoïdes ont été mis en place, à savoir une culture dite contrôle à partir de tissus coliques sains et une culture dérivée de tissus de patients atteints de MICI. La culture contrôle a été exposée à un stress inflammatoire induit par un cocktail de cytokines (IL-1 $\beta$ , IL6, TNF- $\alpha$ ). Tout comme dans notre modèle, les résultats des analyses d'expression génique de marqueurs inflammatoires dans les cultures d'organoïdes soumises à l'inflammation ont été validés. Ces résultats étaient similaires avec celles dérivées de patients atteints de MICI. En revanche, les profils d'expression génique des types cellulaires présentaient des différences entre les deux cultures. Les marqueurs de cellules souches (*LGR5* et *Ephrine B2*) ainsi que ceux de prolifération (*Cycline D1* et *KI67*) n'ont pas montré de diminution dans la condition exposée au cocktail de cytokines pro-inflammatoires, contrairement à la diminution observée dans les organoïdes issus de patients atteints de MICI (d'Aldebert et al. 2020b). Dans notre modèle d'organoïdes, l'effet du stress mimant la RCH a eu un impact sur différents types de cellules en réduisant les populations de cellules souches (*LGR5*), proliférantes (*KI67*) et la différenciation des cellules ayant un phénotype d'absorption (*ATP1A1*). De manière similaire à nos observations, les organoïdes dérivés de patients atteints de MICI ne manifestaient pas de réduction dans l'expression des phénotypes sécrétant, notamment du marqueur *MUC2*.

Par conséquent, la combinaison d'une hypoxie avec des cytokines pro-inflammatoires dans notre modèle présente un avantage substantiel, comme observé dans les organoïdes dérivés de patients. L'effet du stress sur la différenciation des cellules au phénotype absorbant pourrait être évalué par des techniques d'imagerie avec un marquage spécifique de ces cellules associées à un test fonctionnel d'absorption (Na-fluorescéine ou un FITC de plus petite taille).

En synthèse de cette première partie, l'hypoxie et le stress inflammatoire concomitant ont provoqué une réponse cellulaire mimant les altérations épithéliales observées au cours de la RCH sur ce modèle d'organoïdes coliques. Ces résultats attestent de la réussite de l'induction d'un stress mimant les conditions physiopathologiques de la RCH, avec la présence de l'hypoxie et de l'inflammation telles que retrouvées dans la muqueuse des patients en phase active de la RCH (Kerber et al. 2020). Ces résultats pourront être comparés aux données issus des études cliniques à venir.

## 2. Effets de la dysfonction mitochondriale

La RCH a été décrite comme une maladie de déficience énergétique liée à la fonction mitochondriale (Roediger et al. 1985). Notre modèle se focalise sur les mécanismes impliqués dans la fonction mitochondriale durant les phases inflammatoire et de réparation épithéliales. Dans le cadre de notre projet, l'analyse métabolique s'est portée sur l'organoïde dans son ensemble, plutôt que l'individualisation de la réponse par type cellulaire qui nécessiterait une étape préalable de tri par cytométrie et risquerait de provoquer un stress cellulaire du fait de l'individualisation des cellules. La variété cellulaire dont nous disposons nous a permis d'explorer la fonction mitochondriale, mettant en lumière l'importance prédominante de l'OXPLOS. Bien que le métabolisme glycolytique n'ait pas été spécifiquement étudié, il a pu être indirectement évalué à partir de la mesure de l'ECAR, qui correspond à l'acidification du pH du milieu.

### 2.1. Modulation des paramètres de la fonction mitochondriale soumis au stress RCH

Une altération de la fonction mitochondriale a été observée dans le modèle d'organoïde de RCH. L'expression génique de certaines sous-unités (*NDUFS1*, *SDHD*, *UQCRCB* et *COX1*) de la chaîne respiratoire mitochondriale a été réduite en réponse au stress RCH, touchant tous les complexes. L'analyse transcriptomique a révélé une diminution de l'expression génique de l'*ATP6* et de l'*ATP8*. Ces constatations sont en accord avec les données *ex vivo* de RCH : Sifroni *et al.* ont observé une diminution de 50 à 60 % de l'activité des complexes II, III et IV dans des échantillons de biopsies prélevées sur des patients atteints de RCH (Sifroni et al. 2010). De même, Santhanam *et al.* ont confirmé une diminution de l'activité du complexe II et une déficience du complexe IV chez les patients atteints de RCH, ainsi que sur un modèle murin de DSS (Santhanam et al. 2012). Cunningham *et al.* ont également noté des activités réduites sur les complexes IV et I dans la muqueuse des souris DSS (Cunningham et al. 2016). Bien que ces résultats puissent différer, ils convergent tous vers une diminution de l'expression ou de l'activité des complexes de la chaîne respiratoire dans la muqueuse des patients atteints de RCH.

La fonction mitochondriale peut être étudiée par analyse bioénergétique, et depuis quelques années, à l'aide de la technologie Seahorse® (Fan et al. 2015 ; Ludikhuizen et al. 2021). En accord avec la littérature, le stress lié à la RCH induit une dysfonction mitochondriale, se traduisant ici par une diminution de la respiration basale, de la respiration

maximale, et une tendance à la diminution de la respiration liée à la production ATP . Dans notre modèle, une diminution de la fuite de protons est observée, qui nécessiterait d'être confirmée par une technique plus directe pour évaluer la dépolarisation mitochondriale. La diminution de la fuite de protons pourrait être interprétée de diverses manières : elle pourrait refléter des altérations au niveau de la perméabilité membranaire, des modifications du potentiel de membrane mitochondrial ou des changements dans la composition ou l'activité des complexes de la chaîne respiratoire (Hackenbrock 1966). Les modifications observées au niveau des complexes de la chaîne respiratoire induisent une diminution de la production d'ATP, qui à son tour, pourrait contribuer à la réduction de la fuite de protons. Dans ce contexte, la diminution de l'efficacité de la chaîne respiratoire entraînerait une diminution du gradient de protons et, par conséquent, une diminution de la fuite associée. Des altérations dans la composition ou l'activité des complexes de la chaîne respiratoire pourraient influencer la capacité de la chaîne à utiliser efficacement les protons, contribuant à diminuer la fuite de protons. Par ailleurs, les modifications du potentiel de membrane mitochondrial ( $\Delta\psi$ ) pourraient également exercer une influence sur la fuite de protons. Une diminution du  $\Delta\psi$  pourrait potentiellement réduire la force motrice qui pousse les protons à travers la membrane interne (Nicholls 2004).

Les données que nous avons obtenues concernant le statut énergétique du modèle d'organoïde RCH révèlent un état relativement quiescent sur le plan métabolique. La diminution de la fuite de protons pourrait être une adaptation à cet état, pour préserver l'énergie cellulaire dans un environnement où la respiration mitochondriale est diminuée.

Enfin, il convient de souligner que la mesure de la fuite de protons effectuée au moyen du système Seahorse® repose sur une méthode indirecte, basée sur la mesure de la consommation d'oxygène. Afin de mieux comprendre les raisons spécifiques sous-tendant la diminution de la fuite de protons, des investigations approfondies restent nécessaires, incluant l'analyse de l'activité des complexes, l'étude de la structure membranaire et du potentiel de membrane mitochondrial par des sondes telles que le Mitotracker (chlorométhyl-tétraméthylrosamine ou la chlorométhyl-X-rosamine) ou DiO<sub>6</sub> (Scorrano et al. 1999). De telles démarches pourraient permettre de confirmer ou d'infirmer ces résultats et d'obtenir une compréhension plus complète de ce phénomène.

## 2.2. Transition métabolique en réponse au stress RCH

Les CEI des organoïdes soumis au stress RCH semblent s'orienter vers un métabolisme glycolytique pour compenser l'OXPPOS et expliquerait pourquoi la production d'ATP n'est pas différente avec celle des contrôles. Des résultats similaires ont été retrouvés dans un modèle de souris DSS. Lors du stress induit par le DSS, la production d'ATP par les cryptes coliques isolées était liée à la glycolyse suivi d'un retour vers l'OXPPOS 13 jours après la fin du DSS (Lan et al. 2023). Ces résultats ont aussi été retrouvés dans les CEI de patient RCH avec un passage de l'OXPPOS vers la glycolyse (Smillie et al. 2019). Ce shift pourrait être lié à la disponibilité en butyrate *in vivo*. Cette source de substrat étant diminuée, les acides aminés et le glucose apportés par la vascularisation peuvent être utilisés pour subvenir aux besoins énergétiques des CEI (Chapman et al. 1994). Dans ce sens, l'analyse transcriptomique a mis en évidence une diminution du métabolisme des lipides et une augmentation du métabolisme des glucides au cours de la phase inflammatoire. Concernant le métabolisme des glucides, l'augmentation de l'expression génique de la pyruvate kinase déshydrogénase 1 (*PDK1*) va dans le sens d'un shift métabolique. Plus précisément, PDK1 est responsable de l'inactivation de la pyruvate déshydrogénase (PDH), une enzyme impliquée dans la conversion du pyruvate (produit final de la glycolyse) en acétyl-CoA, qui entre ensuite dans le TCA pour produire de l'ATP par l'OXPPOS. En d'autres termes, l'activation de PDK1 entraîne une inhibition de la PDH, limitant ainsi la transformation du pyruvate en acétyl-CoA, réduisant l'entrée du pyruvate dans le TCA (Sormendi et Wielockx 2018). Cette augmentation de PDK1 pourrait être interprétée comme une tentative de la cellule pour ajuster sa production d'énergie en réponse à des conditions inflammatoires et hypoxiques. Concernant le métabolisme des lipides, l'absorption et le transport des AG pourraient être altérés en condition de stress, par une diminution de l'expression génique de la fatty acid binding protein 5 (*FABP5*) qui exerce un rôle dans le transport des AG. En situation normale, FABP5 facilite l'absorption, la liaison et la distribution des acides gras dans les cellules, notamment au niveau de l'épithélium intestinal (Xu et al. 2022). Cette réduction de l'expression génique de FABP5 pourrait entraîner une perturbation dans la capacité de l'épithélium intestinal à absorber et à transporter efficacement les acides gras nécessaire à la constitution des membranes et au catabolisme énergétique. FABP5 favorise également la migration chimiotactique et l'angiogenèse des cellules endothéliales nécessaire à la réparation épithéliale (Yu et al. 2014). Une supplémentation en AGCC pourrait permettre d'étudier le métabolisme énergétique en condition de réparation mais aussi la capacité des CEI des organoïdes à absorber et transporter les AGCC.

La caractérisation fine du métabolisme énergétique des organoïdes (ctrl/stress et repair) reste à parfaire afin de mettre en évidence un éventuel shift vers la glycolyse et l'oxydation de la glutamine au détriment de la  $\beta$ -oxydation. En effet, aucune mesure concernant la  $\beta$ -

oxydation n'a été réalisée. Notre priorité initiale était de vérifier la concordance entre les résultats énergétiques de la CTE et l'expression génique des sous-unités des complexes de la CTE. Il serait donc pertinent de s'intéresser à l'oxydation des substrats de la mitochondrie afin de valider ou non les propos de Roediger dans ce modèle (Roediger 1982). L'étude de cette voie métabolique en présence d'AGCC dans le milieu de culture semble le plus appropriée ainsi que l'oxydation de différents substrats comme les AG, le glucose/pyruvate et de la glutamine (Pfleger 2022).

### 2.3. Une dynamique mitochondriale perturbée

Le nombre de mitochondries en condition de stress RCH ne semblait pas réduit en dépit d'une diminution de l'expression génique de PGC1 $\alpha$ , le gène régulateur de la biogénèse mitochondriale. En effet, la mesure de la masse mitochondriale par quantification de l'ADNmt par qPCR n'a pas mis en évidence de diminution, contrairement à d'autres études décrites dans ce manuscrit (Santhanam et al. 2012; Cunningham et al. 2016). PGC1 $\alpha$  peut intervenir dans la dynamique mitochondriale aussi bien que dans la biogénèse, ce qui pourrait expliquer ces résultats (Ventura-Clapier, Garnier, et Veksler 2008). En effet, les données de transcriptomique ont mis en évidence une tendance à la diminution de l'expression des gènes impliqués dans la dynamique mitochondriale notamment, dans la fusion mitochondriale (MFN2, OPA1). Cependant, la dynamique mitochondriale demeure encore largement inexplorée dans ce modèle. Pour compléter ces données, il serait envisageable d'examiner la fragmentation du réseau mitochondrial en utilisant des techniques d'imagerie (Zamponi et al. 2018). Il serait aussi légitime de se questionner quant à la structure des crêtes mitochondriales, qui pourrait être perturbée de manière similaire à celle rapportée chez la souris dans l'article d'Ahmad et al. Une analyse par microscopie électronique permettrait de réaliser une analyse morphologique des mitochondries. (Ahmad et al. 2000).

Les résultats de *l'energy map* suggèrent que les organoïdes soumis à des conditions de stress RCH pourraient se trouver dans un état quiescent, en d'autres termes, une phase de repos métabolique. Une analyse approfondie du cycle cellulaire des organoïdes en réponse au stress RCH pourrait nous fournir des informations cruciales sur les mécanismes sous-jacents à l'adaptation métabolique et mitochondriale. Si les organoïdes se maintiennent en phase G0 (phase de quiescence cellulaire) en réponse au stress RCH, cela pourrait expliquer la diminution de la biogénèse mitochondriale que nous avons observée. En effet, la phase G0 est caractérisée par une activité cellulaire réduite, incluant une réduction de la biosynthèse et de la division cellulaire (Johnson et Cook 2023). Cette réduction d'activité pourrait impacter la demande énergétique des cellules, responsable d'une baisse de la production de nouvelles



mitochondries. Par conséquent, la diminution de la biogénèse mitochondriale que nous avons constatée pourrait être une réponse adaptative des organoïdes à l'état de stress, visant à économiser de l'énergie dans un environnement métabolique compromis. De plus, des approches telles que la microscopie en temps réel pourraient permettre de suivre la progression du cycle cellulaire des organoïdes en temps réel et de détecter les changements associés au stress RCH.

#### **2.4. Génération d'espèces réactives de l'oxygène perturbée**

Le stress oxydant est bien établi au cours de la RCH, mais est en revanche absent dans notre modèle. L'expression génique des cibles du stress oxydant (*SODs*, *CAT* et *GSR*) et une mesure avec la sonde  $H_2DCFDA$  n'ont montré aucune différence lors de l'induction du stress dans ce modèle. Cependant, l'utilisation d'une sonde spécifique à la mesure des ERO mitochondriaux tel que MitoSOX serait plus appropriée (Heo et al. 2023). Il est important de rappeler que le modèle d'organoïde présenté ici reproduit uniquement l'épithélium intestinal et par conséquent l'activité des cellules de la *lamina propria* n'a pas été étudiée. Il est donc possible que les mesures des ERO retrouvées chez les patients RCH soient une résultante de leur activité en condition inflammatoire. Cependant, la présence de stress oxydant n'est pas systématiquement mise en avant en fonction du modèle. Récemment, l'étude de *Lan et al.* dans un modèle murin DSS a mesuré une forte réponse antioxydante et donc une réduction de la production d'ERO dans les cryptes isolées de côlon (Lan et al. 2023). Il est tout de même possible que nos résultats soient affectés par la temporalité de la mesure, car la production d'ERO est le plus souvent précoce dans des conditions de stress.

### 3. Un modèle capable d'induire la réparation épithéliale

#### 3.1. Développement d'un milieu de réparation

A travers le développement de ce modèle, l'objectif était d'induire une réparation épithéliale suite à un stress inflammatoire. Pour ce faire, une phase de réparation a été induite dans un milieu spécifique. Les premiers résultats d'expression génique des marqueurs des cellules souches (*LGR5*), proliférantes (*KI67*) et absorbantes (*ATP1A1*) étaient diminués suite au stress RCH. En revanche, le marqueur des cellules mucosécrétantes (*MUC2*) n'était pas impacté. Ces résultats ont ainsi servi de référence pour développer le milieu de réparation. Plusieurs essais pour la mise au point du milieu de réparation avec des teneurs en milieu de prolifération et différenciation variables ont été réalisés. Finalement, le milieu de réparation a été défini par 50% de milieu de prolifération et 50% de milieu de différenciation. L'objectif était de stimuler de nouveau l'expansion des organoïdes en favorisant la prolifération et d'induire la différenciation des cellules souches résistantes au stress RCH. La phase de réparation a ainsi été initiée avec ce milieu de réparation. En accord avec les résultats de l'expression génique, un immunomarquage positif KI67 est observé majoritairement dans les conditions de réparation, par rapport aux conditions de contrôle et de stress RCH. Les résultats obtenus ont mis en évidence la capacité des cellules souches et proliférantes à proliférer *de novo* en condition de réparation, tout en maintenant des cellules différenciées dans ce modèle. De plus, de nombreux gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire ont été régulés à la hausse en accord avec la composition du milieu de réparation. La caractérisation du modèle de réparation pourrait être complétée par analyse d'imagerie afin d'identifier les différents types cellulaires et leur agencement au sein des organoïdes.

Dans notre étude, seuls les marqueurs de cellules souches (*LGR5*) et proliférants (*KI67*) étaient augmentés dans les conditions de réparation suite au stress RCH. Ces résultats suggèrent une capacité de re-prolifération dans les conditions de réparation de la RCH. Une autre étude sur différents modèles murins de colite a mis en évidence l'importance du pool de cellules souches LGR5+ dans la réparation épithéliale. L'atteinte des cellules souches était variable en fonction du modèle, mais leur présence était essentielle à l'induction de la réparation épithéliale (Girish et al. 2021).

### **3.2. Retour à un épithélium sain et une fonction mitochondriale restauré**

La phase de réparation épithéliale a été induite dans ce modèle, permettant ainsi d'étudier les évènements cellulaires et moléculaires associés. Dans les conditions de réparation, l'expression génique des sous unités des complexes mitochondriaux tend vers une augmentation, cependant, seule l'expression génique du complexe II a été réellement restaurée. Les résultats de l'analyse bioénergétique des conditions de réparation mettent en évidence un retour à une activité normale des paramètres de la fonction mitochondriale dans notre modèle. Il est intéressant de noter que l'OXPPOS n'a pas diminué dans les conditions de réparation par rapport aux conditions Ctrl, alors que la proportion des phénotypes cellulaires souche et proliférant était supérieure en condition de réparation par rapport aux organoïdes en condition Ctrl différenciés. D'autres analyses mitochondriales, tant au niveau énergétique (mesure de l'activité des complexes) qu'ultrastructural (microscopie), seront nécessaires pour caractériser pleinement la restauration de la fonction mitochondriale.

Un retour presque « normal » des paramètres Seahorse® et de l'expression génique dans la condition Stress repair a été mis en évidence par rapport à la condition Ctrl repair. Peu de gènes différentiellement exprimés ont été révélés lors de cette comparaison. Finalement, malgré le stress RCH, les organoïdes placés en milieu de réparation présente le même transcriptome que les organoïdes n'ayant pas subi le stress RCH. Ces résultats suggèrent que ce modèle est pertinent pour étudier les voies impliquées dans la restauration d'épithélium sain.

### **3.3. Limites et perspectives du modèle de réparation**

Il est important de souligner les conditions de réparation impliquées dans ce modèle. En effet, les organoïdes soumis au stress RCH sont replacés en condition normoxique dans le milieu de réparation. La suppression de l'hypoxie joue nécessairement un rôle dans le processus de la réparation épithéliale. Des pistes thérapeutiques sont envisageables chez l'Homme pour augmenter l'oxygénation tissulaire notamment en augmentant le flux vasculaire comme suggéré par une étude menée sur le sildenafil, inhibiteur des phosphodiésterases induisant une vasodilatation (El-Tanbouly et Abdelrahman 2022). Dans cette étude, la diminution de l'hypoxie tissulaire par l'administration de sildenafil induisait une diminution de l'intensité d'une colite induite chez le rat.

Les apports en substrats énergétiques par le milieu de réparation permettraient de stimuler la prolifération des cellules souches et proliférantes par l'apport de D-glucose notamment. Le milieu est aussi riche en glutamate qui peut lui aussi être utilisé comme source énergétique

par les CEI. Les perspectives de ce projet seraient d'évaluer la phase de réparation avec différents substrats (acides aminés, AGCC, métabolites bactériens). Une dysbiose est avérée chez les patients RCH, se traduisant par une disponibilité réduite en butyrate par exemple (Penrose et al. 2021). Les résultats d'études du microbiote des patients en phase de rémission dans les prochaines études cliniques permettraient d'identifier des AGCC et/ou métabolites bactériens à tester sur les organoïdes.

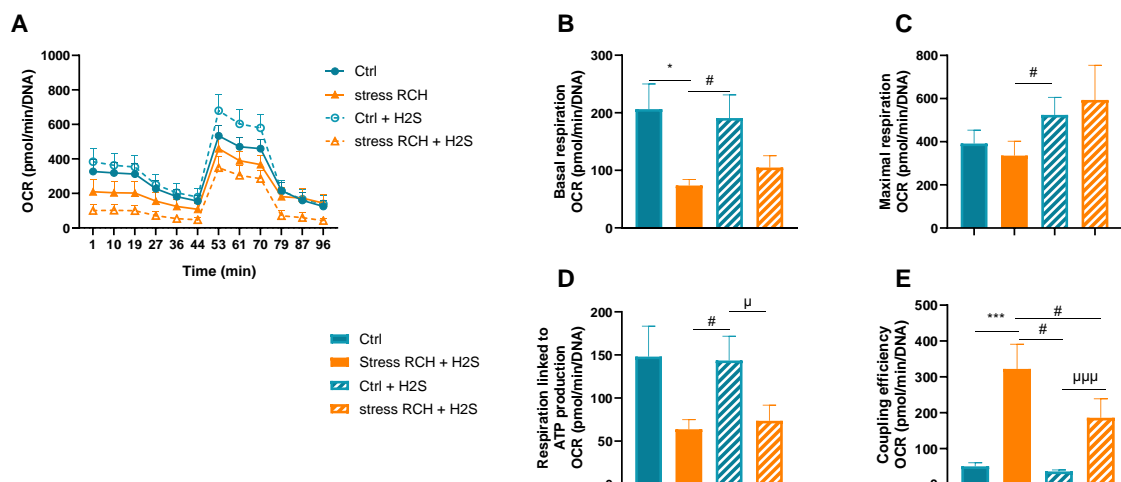
Enfin, la fonction de barrière est importante pour le maintien de l'intégrité de l'épithélium intestinal. L'étude de cette fonction de barrière a été initiée sur le modèle organoïdes par des tests de perméabilité, dans un premier temps en 3D avec la mesure de passage de molécules de différentes tailles en condition Ctrl et stress RCH. Dans un second temps, l'étude de la perméabilité en 2D a été succinctement initiée mais nous avons rapidement été confrontés à la difficulté du passage de la 3D à la 2D du modèle organoïde. Ces expérimentations nécessitent d'être optimisées pour affirmer que la fonction barrière est bien restaurée dans les conditions de réparation.

## 4. Perspectives : l'influence de l'alimentation sur la réparation épithéliale

La mise à disposition de ce nouveau modèle RCH permet d'envisager l'analyse fine de la réparation épithéliale, et en particulier l'implication mitochondriale. Afin de compléter ces données, l'étude clinique MITIC permettra de distinguer l'existence de profils différentiels ou non, liés à l'activité mitochondriale chez les patients RCH au cours de la maladie. Cette étude se focalisera uniquement sur l'épithélium intestinal des patients RCH en phase inflammatoire et de réparation. En effet, une analyse bioénergétique sur les cryptes isolées de patients est prévue dans cette étude. Cette étude est novatrice car elle permettra d'isoler l'analyse du métabolisme des CEI d'un même patient aux différents stades de sa maladie. En association avec l'étude CICALIM, les résultats obtenus par les questionnaires de fréquence alimentaire permettront d'identifier des macro/micronutriments favorables à la cicatrisation muqueuse ou à l'inverse, délétères. L'effet de ces macro/micronutriments sera testé sur le modèle organoïde pour étudier l'influence de l'alimentation sur la réparation épithéliale.

### 4.1. Les métabolites bactériens issus de l'alimentation

En attendant les résultats de cette étude, les données de la littérature ont orienté nos travaux sur les métabolites bactériens issus de l'alimentation. Les concentrations en métabolites bactériens dans la lumière intestinale, modulées par l'alimentation, sont très variables d'un patient à un autre. Des investigations sont en cours pour étudier leurs effets dans le modèle organoïde, particulièrement sur la fonction mitochondriale et leur capacité à influencer le renouvellement cellulaire. Le H<sub>2</sub>S est un métabolite bactérien issu de la fermentation des acides aminés soufrés (méthionine et cystéine), majoritairement retrouvés dans une alimentation carnée (Magee et al. 2000). L'effet de ce métabolite bactérien a été étudié sur la fonction mitochondriale par analyse Seahorse. Le H<sub>2</sub>S est un métabolite bactérien connu pour avoir des effets délétères à partir d'une certaine concentration (200µM). Ces effets ont déjà été mis en évidence sur les colonocytes mais les résultats restent très disparates (Linden 2014). Dans le cadre de notre étude, les effets du H<sub>2</sub>S ont été testés à une concentration de 200µM sur le modèle organoïde. Ce métabolite a été ajouté au traitement stress RCH et la consommation d'oxygène des organoïdes a ensuite été mesurée par Seahorse comme décrit précédemment.



**Figure 37 Effet du sulfure d'hydrogène sur la fonction mitochondriale dans un modèle d'organoïde de stress RCH.** Analyse bioénergétique avec le protocole Mito Stress (A) Profil du taux de consommation d'oxygène (OCR) organoïdes après injection séquentielle d'oligomycine (20μM), de cyanure de carbonyl p-trifluorométhoxy-phényldydrazone (FCCP, 20μM), et d'antimycine A/roténone (5μM) avec Seahorse® XF24. (B) Respiration basale. (C) Respiration maximale. (D) Respiration liée à la production d'ATP. (E) Efficacité du couplage. Les résultats sont présentés sous forme de médiane avec 95 IC avec \* vs Ctrl, # vs UC stress et μ vs Ctrl + H<sub>2</sub>S \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001. Les résultats ont été obtenu à partir de triplicat de N=3 cultures d'organoïdes.

L'ajout du H<sub>2</sub>S à cette concentration semble stimuler la respiration maximale aussi bien dans la condition Ctrl que stress RCH (Figure 37). La suite de ces expérimentations serait de coupler le H<sub>2</sub>S aux conditions de réparation, ainsi que de corrélérer ces résultats avec les résultats de l'étude clinique CICALIM.

## 4.2. Les antioxydants

Plusieurs études se sont concentrées sur l'effet de l'alimentation dans le but de stimuler la fonction mitochondriale. Les antioxydants ciblant la mitochondrie sont devenus des candidats prometteurs dans le traitement des maladies cardiovasculaires et rénales grâce à leurs vertus anti-inflammatoires (Zinovkin et Zamyatnin 2019). Les antioxydants ont montré une amélioration de la colite induite dans les modèles animaux (Babitha et al. 2019). L'ajout de polyphénols dans l'alimentation de souris soumises au DSS semble améliorer la synthèse d'ATP et la β-oxydation (Yeganeh et al. 2018). L'antioxydant SkQ1 dérivé de la plastoquinone a montré son activité anti-inflammatoire en réduisant l'expression génique de cytokines pro-inflammatoires TNF, IL-6, IL-1β dans la muqueuse colique de souris DSS. De manière globale,

un traitement au SkG1 a limité les modifications cliniques et histologiques des souris soumis au DSS par rapport au groupe sans SkQ1 (Fedorov et al. 2022).

### **4.3. Les oméga 3**

Une supplémentation en acides gras oméga 3 à partir d'huile de poisson contenant de l'acide docosahexaénoïque (DHA) précurseur de l'acide eicosapentaénoïque (EPA) semblerait avoir des effets positifs sur la cicatrisation dans un modèle de souris DSS. L'ajout d'EPA et de DHA induirait des modifications de l'ADN codant pour les composantes mitochondriales associées à la fonction mitochondriale, en particulier l'OXPPOS, ce qui induirait une élévation des niveaux d'ATP mesurés au sein des muqueuses. Cette production d'ATP aurait un effet protecteur sur la colite induite (Bär et al. 2013). Ces données renforcent l'importance de stimuler la fonction mitochondriale pour induire et maintenir une cicatrisation de la muqueuse des patients RCH.

### **4.4. Les acides aminés**

D'autres études ciblant certains acides aminés ont évoqué leurs actions bénéfiques sur la cicatrisation muqueuse, cependant aucun lien direct avec la mitochondrie n'a été mis en évidence. Une supplémentation en glutamine sur des CEI de rat préviendrait les lésions de la muqueuse et améliorerait la réparation épithéliale suite à un stress en stimulant la prolifération cellulaire plutôt qu'en inhibant l'apoptose (Larson et al. 2007).

L'administration de créatine par voie orale à des souris exposées au DSS a considérablement atténué l'étendue des symptômes pathologiques. En effet, la créatine présente des effets anti-inflammatoires et anti hypoxiques (Glover et al. 2013). Un premier cas clinique dans la maladie de Crohn a mis en évidence les bienfaits de la supplémentation en créatine, en montrant une amélioration tant au niveau des symptômes que de l'activité de la maladie mesurée à l'examen endoscopique (Wallimann et al. 2021). Un essai clinique est en cours chez des patients RCH supplémentés en créatine en plus de leur traitement conventionnel.

# CONCLUSION

---

En conclusion, les travaux menés dans le cadre de cette thèse ont permis le développement d'un nouveau modèle pour étudier les différentes phases de la RCH *in vitro* dans un modèle tridimensionnel. De potentielles cibles contribuant à restaurer la fonction mitochondriale ont été identifiées. Un retour partiel au métabolisme énergétique avant le stress RCH a été atteint en condition de réparation. Nous disposons à présent d'un nouvel outil pour étudier la fonction mitochondriale dans un modèle de réparation épithéliale. Ce modèle devrait aider à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et nutritionnelles pour les patients RCH, afin d'atteindre et de maintenir la rémission.



# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Ahmad, M., S. Krishnan, B. Ramakrishna, M. Mathan, A. Pulimood, et S. Murthy. 2000. « Butyrate and glucose metabolism by colonocytes in experimental colitis in mice ». *Gut* 46(4):493-99. doi: 10.1136/gut.46.4.493.

d'Aldebert, Emilie, Muriel Quaranta, Morgane Sébert, Delphine Bonnet, Sylvain Kirzin, Guillaume Portier, Jean-Pierre Duffas, Sophie Chabot, Philippe Lluel, Sophie Allart, Audrey Ferrand, Laurent Alric, Claire Racaud-Sultan, Emmanuel Mas, Céline Deraison, et Nathalie Vergnolle. 2020a. « Characterization of Human Colon Organoids From Inflammatory Bowel Disease Patients ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8:363. doi: 10.3389/fcell.2020.00363.

d'Aldebert, Emilie, Muriel Quaranta, Morgane Sébert, Delphine Bonnet, Sylvain Kirzin, Guillaume Portier, Jean-Pierre Duffas, Sophie Chabot, Philippe Lluel, Sophie Allart, Audrey Ferrand, Laurent Alric, Claire Racaud-Sultan, Emmanuel Mas, Céline Deraison, et Nathalie Vergnolle. 2020b. « Characterization of Human Colon Organoids From Inflammatory Bowel Disease Patients ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 0. doi: 10.3389/fcell.2020.00363.

Aoki, K., M. Aoki, M. Sugai, N. Harada, H. Miyoshi, T. Tsukamoto, T. Mizoshita, M. Tatematsu, H. Seno, T. Chiba, M. Oshima, C. L. Hsieh, et M. M. Taketo. 2007. « Chromosomal Instability by  $\beta$ -Catenin/TCF Transcription in APC or  $\beta$ -Catenin Mutant Cells ». *Oncogene* 26(24):3511-20. doi: 10.1038/sj.onc.1210141.

Arias, Maria Theresa, Niels Vande Casteele, Séverine Vermeire, Anthony de Buck van Overstraeten, Thomas Billiet, Filip Baert, Albert Wolthuis, Gert Van Assche, Maja Noman, Ilse Hoffman, Andre D'Hoore, Ann Gils, Paul Rutgeerts, et Marc Ferrante. 2015. « A Panel to Predict Long-Term Outcome of Infliximab Therapy for Patients With Ulcerative Colitis ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 13(3):531-38. doi: 10.1016/j.cgh.2014.07.055.

Babidge, W., S. Millard, et W. Roediger. 1998. « Sulfides Impair Short Chain Fatty Acid Beta-Oxidation at Acyl-CoA Dehydrogenase Level in Colonocytes: Implications for Ulcerative Colitis ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 181(1-2):117-24. doi: 10.1023/a:1006838231432.

Babitha, S., K. Bindu, Taj Nageena, et V. P. Veerapur. 2019. « Fresh Fruit Juice of *Opuntia dillenii* Haw. Attenuates Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats ». *Journal of Dietary Supplements* 16(4):431-42. doi: 10.1080/19390211.2018.1470128.

Baker, Kathryn T., Daniela Nachmanson, Shilpa Kumar, Mary J. Emond, Cigdem Ussakli, Teresa A. Brentnall, Scott R. Kennedy, et Rosa Ana Risques. 2019. « Mitochondrial DNA Mutations Are Associated with Ulcerative Colitis Preneoplasia but Tend to Be Negatively Selected in Cancer ». *Molecular Cancer Research: MCR* 17(2):488-98. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-18-0520.

Bär, Florian, Wiebke Bochmann, Andrea Widok, Kilian von Medem, Rene Pagel, Misa Hirose, Xinhua Yu, Kathrin Kalies, Peter König, Ruwen Böhm, Thomas Herdegen, Anna T. Reinicke, Jürgen Büning, Hendrik Lehnert, Klaus Fellermann, Saleh Ibrahim, et Christian Sina. 2013. « Mitochondrial Gene Polymorphisms That Protect Mice from Colitis ». *Gastroenterology* 145(5):1055-1063.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2013.07.015.

Barbara, Giovanni, Maria Raffaella Barbaro, Daniele Fuschi, Marta Palombo, Francesca Falangone, Cesare Cremon, Giovanni Marasco, et Vincenzo Stanghellini. 2021. « Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier ». *Frontiers in Nutrition* 8.

Barbi, Joseph, Drew Pardoll, et Fan Pan. 2013. « Metabolic Control of the Treg/Th17 Axis ». *Immunological Reviews* 252(1):52-77. doi: 10.1111/imr.12029.

Barker, Nick. 2014. « Adult Intestinal Stem Cells: Critical Drivers of Epithelial Homeostasis and Regeneration ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15(1):19-33. doi: 10.1038/nrm3721.

Barker, Nick, Johan H. van Es, Jeroen Kuipers, Pekka Kujala, Maaïke van den Born, Miranda Cozijnsen, Andrea Haegebarth, Jeroen Korving, Harry Begthel, Peter J. Peters, et Hans Clevers. 2007. « Identification of Stem Cells in Small Intestine and Colon by Marker Gene *Lgr5* ». *Nature* 449(7165):1003-7. doi: 10.1038/nature06196.

Bean, R. H. 1962. « The Treatment of Chronic Ulcerative Colitis with 6-Mercaptopurine ». *The Medical Journal of Australia* 49(2):592-93.

Beaudry, Michèle, Magdalena Hidalgo, Thierry Launay, Valérie Bello, et Thierry Darribère. 2016. « Regulation of Myogenesis by Environmental Hypoxia ». *Journal of Cell Science* 129(15):2887-96. doi: 10.1242/jcs.188904.

Beaugerie, Laurent, Magali Svrcek, Philippe Seksik, Anne-Marie Bouvier, Tabassome Simon, Matthieu Allez, Hedia Brixì, Jean-Marc Gornet, Romain Altwegg, Philippe Beau, Bernard Duclos, Arnaud Bourreille, Jean Faivre, Laurent Peyrin-Biroulet, Jean-François Fléjou, et Fabrice Carrat. 2013. « Risk of Colorectal High-Grade Dysplasia and Cancer in a

Prospective Observational Cohort of Patients With Inflammatory Bowel Disease ». *Gastroenterology* 145(1):166-175.e8. doi: 10.1053/j.gastro.2013.03.044.

Blachier, François, Martin Beaumont, Mireille Andriamihaja, Anne-Marie Davila, Annaïg Lan, Marta Grauso, Lucie Armand, Robert Benamouzig, et Daniel Tomé. 2017. « Changes in the Luminal Environment of the Colonic Epithelial Cells and Physiopathological Consequences ». *The American Journal of Pathology* 187(3):476-86. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.11.015.

Blachier, François, Martin Beaumont, et Eunjung Kim. 2019. « Cysteine-Derived Hydrogen Sulfide and Gut Health: A Matter of Endogenous or Bacterial Origin ». *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 22(1):68-75. doi: 10.1097/MCO.0000000000000526.

Blachier, François, Claire Boutry, Cécile Bos, et Daniel Tomé. 2009. « Metabolism and functions of l-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 90(3):814S-821S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462S.

Blachier, Francois, Anne Marie Davila, Robert Benamouzig, et Daniel Tome. 2011. « Channelling of Arginine in NO and Polyamine Pathways in Colonocytes and Consequences ». *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)* 16(4):1331-43. doi: 10.2741/3792.

Boschetti, Gilles, Stéphane Nancey, et Bernard Flourié. 2011. « Les différentes formulations de l'acide 5-aminosalicylique ».

Bouguen, Guillaume, Audrey Langlois, Madjid Djouina, Julien Branche, Dine Koriche, Edmone Dewaeles, Alice Mongy, Johan Auwerx, Jean-Frederic Colombel, Pierre Desreumaux, Laurent Dubuquoy, et Benjamin Bertin. 2015. « Intestinal Steroidogenesis Controls PPAR $\gamma$  Expression in the Colon and Is Impaired during Ulcerative Colitis ». *Gut* 64(6):901-10. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307618.

Bril, Laura. 2016. « La colite aiguë grave au cours des maladies inflammatoires chroniques intestinales à début tardif : étude en population générale ». 83.

Brown, Eric, et Cormac T. Taylor. 2018. « Hypoxia-Sensitive Pathways in Intestinal Inflammation ». *The Journal of Physiology* 596(15):2985-89. doi: 10.1113/JP274350.

Brown, G. C. 1992. « Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells ». *Biochemical Journal* 284(1):1-13. doi: 10.1042/bj2840001.

Cardinale, Christopher J., Zhi Wei, Jin Li, Junfei Zhu, Mengnan Gu, Robert N. Baldassano, Struan F. A. Grant, et Hakon Hakonarson. 2014. « Transcriptome Profiling of Human

Ulcerative Colitis Mucosa Reveals Altered Expression of Pathways Enriched in Genetic Susceptibility Loci ». *PLOS ONE* 9(5):e96153. doi: 10.1371/journal.pone.0096153.

Castro-Dopico, Tomas, Thomas W. Dennison, John R. Ferdinand, Rebeccah J. Mathews, Aaron Fleming, Dean Clift, Benjamin J. Stewart, Chenzhi Jing, Konstantina Strongili, Larisa I. Labzin, Edward J. M. Monk, Kouros Saeb-Parsy, Clare E. Bryant, Simon Clare, Miles Parkes, et Menna R. Clatworthy. 2019. « Anti-Commensal IgG Drives Intestinal Inflammation and Type 17 Immunity in Ulcerative Colitis ». *Immunity* 50(4):1099-1114.e10. doi: 10.1016/j.immuni.2019.02.006.

Chakraborty, Krishnendu, Mahesh Raundhal, Bill B. Chen, Christina Morse, Yulia Y. Tyurina, Anupriya Khare, Timothy B. Oriss, Rachael Huff, Janet S. Lee, Claudette M. St. Croix, Simon Watkins, Rama K. Mallampalli, Valerian E. Kagan, Anuradha Ray, et Prabir Ray. 2017. « The mito-DAMP cardiolipin blocks IL-10 production causing persistent inflammation during bacterial pneumonia ». *Nature Communications* 8:13944. doi: 10.1038/ncomms13944.

Chamaillard, Mathias, Jean-Baptiste Chevaux, et Laurent Peyrin-Biroulet. 2013. « Looking beyond Histological Healing in Ulcerative Colitis: Towards the Establishment of a Molecular Signature for Quiescent but Progressive Disease ». *Gut* 62(7):959-60. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303765.

Chapman, M. A., M. F. Grahn, M. A. Boyle, M. Hutton, J. Rogers, et N. S. Williams. 1994. « Butyrate Oxidation Is Impaired in the Colonic Mucosa of Sufferers of Quiescent Ulcerative Colitis. » *Gut* 35(1):73-76. doi: 10.1136/gut.35.1.73.

Chassaing, Benoit, Jesse D. Aitken, Madhu Malleshappa, et Matam Vijay-Kumar. 2014. « Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice ». *Current Protocols in Immunology* 104(1):15.25.1-15.25.14. doi: 10.1002/0471142735.im1525s104.

Cho, Young Min, Sujin Kwon, Youngmi Kim Pak, Hye Won Seol, Young Min Choi, Do Joon Park, Kyong Soo Park, et Hong Kyu Lee. 2006. « Dynamic Changes in Mitochondrial Biogenesis and Antioxidant Enzymes during the Spontaneous Differentiation of Human Embryonic Stem Cells ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 348(4):1472-78. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.08.020.

Clevers, Hans, Kyle M. Loh, et Roel Nusse. 2014. « Stem Cell Signaling. An Integral Program for Tissue Renewal and Regeneration: Wnt Signaling and Stem Cell Control ». *Science (New York, N.Y.)* 346(6205):1248012. doi: 10.1126/science.1248012.

Co, Julia Y., Mar Margalef-Català, Denise M. Monack, et Manuel R. Amieva. 2021. « Controlling the Polarity of Human Gastrointestinal Organoids to Investigate Epithelial Biology

and Infectious Diseases ». *Nature Protocols* 16(11):5171-92. doi: 10.1038/s41596-021-00607-0.

Colgan, Sean P., Glenn T. Furuta, et Cormac T. Taylor. 2020. « Hypoxia and Innate Immunity: Keeping Up with the HIFsters ». *Annual Review of Immunology* 38:341-63. doi: 10.1146/annurev-immunol-100819-121537.

Cosnes, Jacques, Corinne Gower-Rousseau, Philippe Seksik, et Antoine Cortot. 2011. « Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases ». *Gastroenterology* 140(6):1785-94. doi: 10.1053/j.gastro.2011.01.055.

Coussens, Lisa M., et Zena Werb. 2002. « Inflammation and cancer ». *Nature* 420(6917):860-67. doi: 10.1038/nature01322.

Cummings, J. H., E. W. Pomare, W. J. Branch, C. P. Naylor, et G. T. Macfarlane. 1987. « Short Chain Fatty Acids in Human Large Intestine, Portal, Hepatic and Venous Blood ». *Gut* 28(10):1221-27. doi: 10.1136/gut.28.10.1221.

Cunningham, Kellie E., Garret Vincent, Chhinder P. Sodhi, Elizabeth A. Novak, Sarangarajan Ranganathan, Charlotte E. Egan, Donna Beer Stolz, Matthew B. Rogers, Brian Firek, Michael J. Morowitz, George K. Gittes, Brian S. Zuckerbraun, David J. Hackam, et Kevin P. Mollen. 2016. « Peroxisome Proliferator-activated Receptor- $\gamma$  Coactivator 1- $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ) Protects against Experimental Murine Colitis ». *The Journal of Biological Chemistry* 291(19):10184-200. doi: 10.1074/jbc.M115.688812.

Damiani, Carlos R., César A. F. Benetton, Cristhopher Stoffel, Katrine C. Bardini, Vilson H. Cardoso, Gabriela Di Giunta, Ricardo A. Pinho, Felipe Dal-Pizzol, et Emilio L. Streck. 2007. « Oxidative Stress and Metabolism in Animal Model of Colitis Induced by Dextran Sulfate Sodium ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 22(11):1846-51. doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.04890.x.

De Preter, Vicky, Ingrid Arijs, Karen Windey, Wiebe Vanhove, Severine Vermeire, Frans Schuit, Paul Rutgeerts, et Kristin Verbeke. 2012. « Impaired Butyrate Oxidation in Ulcerative Colitis Is Due to Decreased Butyrate Uptake and a Defect in the Oxidation Pathway ». *Inflammatory Bowel Diseases* 18(6):1127-36. doi: 10.1002/ibd.21894.

Dengler, Franziska, Anika Kraetzig, et Gotthold Gäbel. 2021. « Butyrate Protects Porcine Colon Epithelium from Hypoxia-Induced Damage on a Functional Level ». *Nutrients* 13(2):305. doi: 10.3390/nu13020305.

D'incà, R., V. Annese, V. Di Leo, A. Latiano, V. Quaino, C. Abazia, M. G. Vettorato, et G. C. Sturniolo. 2006. « Increased Intestinal Permeability and NOD2 Variants in Familial and

Sporadic Crohn's Disease ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 23(10):1455-61. doi: 10.1111/j.1365-2036.2006.02916.x.

Donohoe, Dallas R., Nikhil Garge, Xinxin Zhang, Wei Sun, Thomas M. O'Connell, Maureen K. Bunger, et Scott J. Bultman. 2011. « The Microbiome and Butyrate Regulate Energy Metabolism and Autophagy in the Mammalian Colon ». *Cell metabolism* 13(5):517-26. doi: 10.1016/j.cmet.2011.02.018.

Dotti, Isabella, Rut Mora-Buch, Elena Ferrer-Picón, Núria Planell, Peter Jung, M. Carme Masamunt, Raquel Franco Leal, Javier Martín de Carpi, Josep Llach, Ingrid Ordás, Eduard Batlle, Julián Panés, et Azucena Salas. 2017. « Alterations in the Epithelial Stem Cell Compartment Could Contribute to Permanent Changes in the Mucosa of Patients with Ulcerative Colitis ». *Gut* 66(12):2069-79. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312609.

Dutta, Devanjali, Inha Heo, et Hans Clevers. 2017. « Disease Modeling in Stem Cell-Derived 3D Organoid Systems ». *Trends in Molecular Medicine* 23(5):393-410. doi: 10.1016/j.molmed.2017.02.007.

Dutton, Johanna S., Samuel S. Hinman, Raehyun Kim, Yuli Wang, et Nancy L. Allbritton. 2019. « Primary Cell-Derived Intestinal Models: Recapitulating Physiology ». *Trends in Biotechnology* 37(7):744-60. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.12.001.

Dvornikova, Kristina A., Olga N. Platonova, et Elena Y. Bystrova. 2023. « Hypoxia and Intestinal Inflammation: Common Molecular Mechanisms and Signaling Pathways ». *International Journal of Molecular Sciences* 24(3):2425. doi: 10.3390/ijms24032425.

Eaden, J. A., K. R. Abrams, et J. F. Mayberry. 2001. « The Risk of Colorectal Cancer in Ulcerative Colitis: A Meta-Analysis ». *Gut* 48(4):526-35. doi: 10.1136/gut.48.4.526.

El-Tanbouly, Ghada S., et Rehab S. Abdelrahman. 2022. « The Emerging Coloprotective Effect of Sildenafil against Ulcerative Colitis in Rats via Exerting Counterbalance between NF- $\kappa$ B Signaling and Nrf-2/HO-1 Pathway ». *Inflammopharmacology* 30(4):1351-62. doi: 10.1007/s10787-022-01016-9.

Encyclopédie Medillus. 2013. « Histologie, organisation des cellules au sein du colon. » *MEDILLUS*.

Fakhoury, Marc, Rebecca Negrulj, Armin Mooranian, et Hani Al-Salami. 2014. « Inflammatory Bowel Disease: Clinical Aspects and Treatments ». *Journal of Inflammation Research* 7:113-20. doi: 10.2147/JIR.S65979.

Fan, Yang-Yi, Laurie A. Davidson, Evelyn S. Callaway, Gus A. Wright, Stephen Safe, et Robert S. Chapkin. 2015. « A bioassay to measure energy metabolism in mouse colonic crypts, organoids, and sorted stem cells ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 309(1):G1-9. doi: 10.1152/ajpgi.00052.2015.

Farhadi, Ashkan, Ali Keshavarzian, Louis D. Van de Kar, Shriram Jakate, Aaron Domm, Lei Zhang, Maliha Shaikh, Ali Banan, et Jeremy Z. Fields. 2005. « Heightened Responses to Stressors in Patients with Inflammatory Bowel Disease ». *The American Journal of Gastroenterology* 100(8):1796-1804. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.50071.x.

Faubion, William A., Edward V. Loftus, William S. Harmsen, Alan R. Zinsmeister, et William J. Sandborn. 2001. « The Natural History of Corticosteroid Therapy for Inflammatory Bowel Disease: A Population-Based Study ». *Gastroenterology* 121(2):255-60. doi: 10.1053/gast.2001.26279.

Fedorov, Artem V., Maria A. Chelombitko, Daniil A. Chernyavskij, Ivan I. Galkin, Olga Yu Pletjushkina, Tamara V. Vasilieva, Roman A. Zinovkin, et Boris V. Chernyak. 2022. « Mitochondria-Targeted Antioxidant SkQ1 Prevents the Development of Experimental Colitis in Mice and Impairment of the Barrier Function of the Intestinal Epithelium ». *Cells* 11(21):3441. doi: 10.3390/cells11213441.

Ferrante, Marc, et João Sabino. 2020. « Efficacy of JAK inhibitors in Ulcerative Colitis ». *Journal of Crohn's & Colitis* 14(Suppl 2):S737-45. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjz202.

Ferrer-Picón, Elena, Isabella Dotti, Ana M. Corraliza, Aida Mayorgas, Miriam Esteller, José Carlos Perales, Elena Ricart, Maria C. Masamunt, Anna Carrasco, Eva Tristán, Maria Esteve, et Azucena Salas. 2020. « Intestinal Inflammation Modulates the Epithelial Response to Butyrate in Patients With Inflammatory Bowel Disease ». *Inflammatory Bowel Diseases* 26(1):43-55. doi: 10.1093/ibd/izz119.

Finnie, I. A., B. A. Taylor, et J. M. Rhodes. 1993. « Ileal and Colonic Epithelial Metabolism in Quiescent Ulcerative Colitis: Increased Glutamine Metabolism in Distal Colon but No Defect in Butyrate Metabolism ». *Gut* 34(11):1552-58. doi: 10.1136/gut.34.11.1552.

Flück, Katharina, et Joachim Fandrey. 2016. « Oxygen Sensing in Intestinal Mucosal Inflammation ». *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 468(1):77-84. doi: 10.1007/s00424-015-1722-4.

Fratila, Ovidiu C., et Constantin Craciun. 2010. « Ultrastructural Evidence of Mucosal Healing after Infliximab in Patients with Ulcerative Colitis ». *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases: JGLD* 19(2):147-53.

Frey, Mark R., Anastasia Golovin, et D. Brent Polk. 2004. « Epidermal Growth Factor-Stimulated Intestinal Epithelial Cell Migration Requires Src Family Kinase-Dependent P38 MAPK Signaling\* ». *Journal of Biological Chemistry* 279(43):44513-21. doi: 10.1074/jbc.M406253200.

Fuhrmann, Dominik C., et Bernhard Brüne. 2017. « Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia ». *Redox Biology* 12:208-15. doi: 10.1016/j.redox.2017.02.012.

Fujii, Masayuki, Hans Clevers, et Toshiro Sato. 2019. « Modeling Human Digestive Diseases With CRISPR-Cas9-Modified Organoids ». *Gastroenterology* 156(3):562-76. doi: 10.1053/j.gastro.2018.11.048.

Fumery, Mathurin, Siddharth Singh, Parambir S. Dulai, Corinne Gower-Rousseau, Laurent Peyrin-Biroulet, et William J. Sandborn. 2018. « Natural History of Adult Ulcerative Colitis in Population-Based Cohorts: A Systematic Review ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 16(3):343-356.e3. doi: 10.1016/j.cgh.2017.06.016.

Furuta, Glenn T., Jerrold R. Turner, Cormac T. Taylor, Robert M. Hershberg, Katrina Comerford, Sailaja Narravula, Daniel K. Podolsky, et Sean P. Colgan. 2001. « Hypoxia-Inducible Factor 1–Dependent Induction of Intestinal Trefoil Factor Protects Barrier Function during Hypoxia ». *The Journal of Experimental Medicine* 193(9):1027-34.

Gajendran, Mahesh, Priyadarshini Loganathan, Guillermo Jimenez, Anthony P. Catinella, Nathaniel Ng, Chandraprakash Umapathy, Nathalie Ziade, et Jana G. Hashash. 2019. « A Comprehensive Review and Update on Ulcerative Colitis », *Disease-a-Month* 65(12):100851. doi: 10.1016/j.disamonth.2019.02.004.

Gamah, Mohammed, Murad Alahdal, Yu Zhang, Yiling Zhou, Qiaorong Ji, Zhouyang Yuan, Ying Han, Xiangqun Shen, Yanming Ren, et Wei Zhang. s. d. « High-altitude hypoxia exacerbates dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis by upregulating Th1 and Th17 lymphocytes ». *Bioengineered* 12(1):7985-94. doi: 10.1080/21655979.2021.1975017.

Gautier, Thomas, Nelly Fahet, Zohreh Tamanai-Shacoori, Nolwenn Oliviero, Marielle Blot, Aurélie Sauvager, Agnes Burel, Sandrine David-Le Gall, Sophie Tomasi, Sophie Blat, et Latifa Bousarghin. 2022. « Roseburia intestinalis Modulates PYY Expression in a New a Multicellular Model including Enteroendocrine Cells ». *Microorganisms* 10(11):2263. doi: 10.3390/microorganisms10112263.

Gerbe, François, Catherine Legraverend, et Philippe Jay. 2012. « The Intestinal Epithelium Tuft Cells: Specification and Function ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 69(17):2907-17. doi: 10.1007/s00018-012-0984-7.



Giatromanolaki, A., E. Sivridis, E. Maltezos, D. Papazoglou, C. Simopoulos, K. C. Gatter, A. L. Harris, et M. I. Koukourakis. 2003. « Hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and 2 $\alpha$  overexpression in inflammatory bowel disease ». *Journal of Clinical Pathology* 56(3):209-13.

Glover, Louise E., Britelle E. Bowers, Bejan Saeedi, Stefan F. Ehrentraut, Eric L. Campbell, Amanda J. Bayless, Evgenia Dobrinskikh, Agnieszka A. Kendrick, Caleb J. Kelly, Adrienne Burgess, Lauren Miller, Douglas J. Kominsky, Paul Jedlicka, et Sean P. Colgan. 2013. « Control of creatine metabolism by HIF is an endogenous mechanism of barrier regulation in colitis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(49):19820-25. doi: 10.1073/pnas.1302840110.

Goggins, Bridie J., Ciaran Chaney, Graham L. Radford-Smith, Jay C. Horvat, et Simon Keely. 2013. « Hypoxia and Integrin-Mediated Epithelial Restitution during Mucosal Inflammation ». *Frontiers in Immunology* 4:272. doi: 10.3389/fimmu.2013.00272.

Gonzalez, Frank J., Cen Xie, et Changtao Jiang. 2018. « The Role of Hypoxia-Inducible Factors in Metabolic Diseases ». *Nature Reviews. Endocrinology* 15(1):21-32. doi: 10.1038/s41574-018-0096-z.

Gothié, Emmanuel, et Jacques Pouysségur. 2002. « HIF-1 : régulateur central de l'hypoxie ». *médecine/sciences* 18(1):70-78. doi: 10.1051/medsci/200218170.

Grube, D. 1976. « [The endocrine cells of the gastrointestinal epithelium and the metabolism of biogenic amines in the gastrointestinal tract (author's transl)] ». *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 8(3):1-128.

Guerbette, Thomas, Gaëlle Boudry, et Annaïg Lan. 2022. « Mitochondrial Function in Intestinal Epithelium Homeostasis and Modulation in Diet-Induced Obesity ». *Molecular Metabolism* 63:101546. doi: 10.1016/j.molmet.2022.101546.

Guillo, Lucas, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, et Laurent Peyrin-Biroulet. 2021. « Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review ». *Journal of Crohn's and Colitis* 15(7):1236-43. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjaa260.

Haberman, Yael, Rebekah Karns, Phillip J. Dexheimer, Melanie Schirmer, Judith Somekh, Ingrid Jurickova, Tzipi Braun, Elizabeth Novak, Laura Bauman, Margaret H. Collins, Angela Mo, Michael J. Rosen, Erin Bonkowski, Nathan Gotman, Alison Marquis, Mason Nistel, Paul A. Rufo, Susan S. Baker, Cary G. Sauer, James Markowitz, Marian D. Pfefferkorn, Joel R. Rosh, Brendan M. Boyle, David R. Mack, Robert N. Baldassano, Sapana Shah, Neal S. Leleiko, Melvin B. Heyman, Anne M. Griffiths, Ashish S. Patel, Joshua D. Noe, Bruce J. Aronow,

Subra Kugathasan, Thomas D. Walters, Greg Gibson, Sonia Davis Thomas, Kevin Mollen, Shai Shen-Orr, Curtis Huttenhower, Ramnik J. Xavier, Jeffrey S. Hyams, et Lee A. Denson. 2019. « Ulcerative Colitis Mucosal Transcriptomes Reveal Mitochondriopathy and Personalized Mechanisms Underlying Disease Severity and Treatment Response ». *Nature Communications* 10(1):38. doi: 10.1038/s41467-018-07841-3.

Hackenbrock, C. R. 1966. « Ultrastructural Bases for Metabolically Linked Mechanical Activity in Mitochondria. I. Reversible Ultrastructural Changes with Change in Metabolic Steady State in Isolated Liver Mitochondria ». *The Journal of Cell Biology* 30(2):269-97. doi: 10.1083/jcb.30.2.269.

Hageman, Joris H., Maria C. Heinz, Kai Kretzschmar, Jelte van der Vaart, Hans Clevers, et Hugo J. G. Snippert. 2020. « Intestinal Regeneration: Regulation by the Microenvironment ». *Developmental Cell* 54(4):435-46. doi: 10.1016/j.devcel.2020.07.009.

Hall, P. A., P. J. Coates, B. Ansari, et D. Hopwood. 1994. « Regulation of cell number in the mammalian gastrointestinal tract: the importance of apoptosis ». *Journal of Cell Science* 107(12):3569-77. doi: 10.1242/jcs.107.12.3569.

Handa, O., A. Majima, Y. Onozawa, H. Horie, Y. Uehara, A. Fukui, T. Omatsu, Y. Naito, et T. Yoshikawa. 2014. « The Role of Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species in the Pathogenesis of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Small Intestinal Injury ». *Free Radical Research* 48(9):1095-99. doi: 10.3109/10715762.2014.928411.

Helander, Herbert F., et Lars Fändriks. 2014. « Surface area of the digestive tract – revisited ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 49(6):681-89. doi: 10.3109/00365521.2014.898326.

Hendriksen, C., S. Kreiner, et V. Binder. 1985. « Long Term Prognosis in Ulcerative Colitis-Based on Results from a Regional Patient Group from the County of Copenhagen ». *Gut* 26(2):158-63. doi: 10.1136/gut.26.2.158.

Heo, Mi Jeong, Ji Ho Suh, Sung Ho Lee, Kyle L. Poulsen, Yu A. An, Bhagavatula Moorthy, Sean M. Hartig, David D. Moore, et Kang Ho Kim. 2023. « Aryl Hydrocarbon Receptor Maintains Hepatic Mitochondrial Homeostasis in Mice ». *Molecular Metabolism* 72:101717. doi: 10.1016/j.molmet.2023.101717.

Hering, Nina A., Michael Fromm, et Jörg-Dieter Schulzke. 2012. « Determinants of colonic barrier function in inflammatory bowel disease and potential therapeutics ». *The Journal of Physiology* 590(Pt 5):1035-44. doi: 10.1113/jphysiol.2011.224568.

Hibiya, Shuji, Kiichiro Tsuchiya, Ryohei Hayashi, Keita Fukushima, Nobukatsu Horita, Sho Watanabe, Tomoaki Shirasaki, Ryu Nishimura, Natsuko Kimura, Tatsunori Nishimura, Noriko Gotoh, Shigeru Oshima, Ryuichi Okamoto, Tetsuya Nakamura, et Mamoru Watanabe. 2017. « Long-Term Inflammation Transforms Intestinal Epithelial Cells of Colonic Organoids ». *Journal of Crohn's & Colitis* 11(5):621-30. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjw186.

Howell, Kate Joanne, Judith Kraiczy, Komal M. Nayak, Marco Gasparetto, Alexander Ross, Claire Lee, Tim N. Mak, Bon-Kyoung Koo, Nitin Kumar, Trevor Lawley, Anupam Sinha, Philip Rosenstiel, Robert Heuschkel, Oliver Stegle, et Matthias Zilbauer. 2018. « DNA Methylation and Transcription Patterns in Intestinal Epithelial Cells From Pediatric Patients With Inflammatory Bowel Diseases Differentiate Disease Subtypes and Associate With Outcome ». *Gastroenterology* 154(3):585-98. doi: 10.1053/j.gastro.2017.10.007.

Hsieh, Sen-Yung, Tsung-Chieh Shih, Chien-Yuh Yeh, Chun-Jung Lin, Yun-Ying Chou, et Ying-Shiung Lee. 2006. « Comparative Proteomic Studies on the Pathogenesis of Human Ulcerative Colitis ». *Proteomics* 6(19):5322-31. doi: 10.1002/pmic.200500541.

Iizuka, Masahiro, et Shiho Konno. 2011. « Wound Healing of Intestinal Epithelial Cells ». *World Journal of Gastroenterology* 17(17):2161-71. doi: 10.3748/wjg.v17.i17.2161.

Islam, Hashim, Brittany A. Edgett, et Brendon J. Gurd. 2018. « Coordination of mitochondrial biogenesis by PGC-1 $\alpha$  in human skeletal muscle: A re-evaluation ». *Metabolism* 79:42-51. doi: 10.1016/j.metabol.2017.11.001.

Ivanov, Andrei I., Asma Nusrat, et Charles A. Parkos. 2005. « Endocytosis of the Apical Junctional Complex: Mechanisms and Possible Roles in Regulation of Epithelial Barriers ». *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* 27(4):356-65. doi: 10.1002/bies.20203.

Jain, Renu N., et Linda C. Samuelson. 2006. « Differentiation of the Gastric Mucosa II. Role of gastrin in gastric epithelial cell proliferation and maturation ». *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 291(5):G762-65. doi: 10.1152/ajpgi.00172.2006.

Jess, Tine, Lene Riis, Ida Vind, Karen Vanessa Winther, Sixten Borg, Vibeke Binder, Ebbe Langholz, Ole Østergaard Thomsen, et Pia Munkholm. 2007. « Changes in Clinical Characteristics, Course, and Prognosis of Inflammatory Bowel Disease during the Last 5 Decades: A Population-Based Study from Copenhagen, Denmark ». *Inflammatory Bowel Diseases* 13(4):481-89. doi: 10.1002/ibd.20036.

Jiang, B. H., E. Rue, G. L. Wang, R. Roe, et G. L. Semenza. 1996. « Dimerization, DNA Binding, and Transactivation Properties of Hypoxia-Inducible Factor 1 ». *The Journal of Biological Chemistry* 271(30):17771-78. doi: 10.1074/jbc.271.30.17771.

Jiang, B. H., J. Z. Zheng, S. W. Leung, R. Roe, et G. L. Semenza. 1997. « Transactivation and Inhibitory Domains of Hypoxia-Inducible Factor 1alpha. Modulation of Transcriptional Activity by Oxygen Tension ». *The Journal of Biological Chemistry* 272(31):19253-60. doi: 10.1074/jbc.272.31.19253.

Johansson, M. E. V., J. M. H. Larsson, et G. C. Hansson. 2011. « The Two Mucus Layers of Colon Are Organized by the MUC2 Mucin, Whereas the Outer Layer Is a Legislator of Host-Microbial Interactions ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(Supplement\_1):4659-65. doi: 10.1073/pnas.1006451107.

Johnson, Martha Sharisha, et Jeanette Gowen Cook. 2023. « Cell cycle exits and U-turns: Quiescence as multiple reversible forms of arrest ». *Faculty Reviews* 12:5. doi: 10.12703/r/12-5.

Kałużna, Aleksandra, Paweł Olczyk, et Katarzyna Komosińska-Vassev. 2022. « The Role of Innate and Adaptive Immune Cells in the Pathogenesis and Development of the Inflammatory Response in Ulcerative Colitis ». *Journal of Clinical Medicine* 11(2):400. doi: 10.3390/jcm11020400.

Kaplan, Gilaad G. 2015. « The Global Burden of IBD: From 2015 to 2025 ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 12(12):720-27. doi: 10.1038/nrgastro.2015.150.

Karhausen, Jörn, Glenn T. Furuta, John E. Tomaszewski, Randall S. Johnson, Sean P. Colgan, et Volker H. Haase. 2004. « Epithelial Hypoxia-Inducible Factor-1 Is Protective in Murine Experimental Colitis ». *The Journal of Clinical Investigation* 114(8):1098-1106. doi: 10.1172/JCI21086.

Kelly, Caleb J., Leon Zheng, Eric L. Campbell, Bejan Saeedi, Carsten C. Scholz, Amanda J. Bayless, Kelly E. Wilson, Louise E. Glove, Douglas J. Kominsky, Aaron Magnuson, Tiffany L. Weir, Stefan F. Ehrentraut, Christina Pickel, Kristine A. Kuhn, Jordi M. Lanis, Vu Nguyen, Cormac T. Taylor, et Sean P. Colgan. 2015. « Crosstalk between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and Intestinal Epithelial HIF Augments Tissue Barrier Function ». *Cell host & microbe* 17(5):662-71. doi: 10.1016/j.chom.2015.03.005.

Kerber, Evelyn L., Claudia Padberg, Nora Koll, Vera Schuetzhold, Joachim Fandrey, et Sandra Winning. 2020. « The Importance of Hypoxia-Inducible Factors (HIF-1 and HIF-2) for

the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 21(22):8551. doi: 10.3390/ijms21228551.

Khalili, Hamed, Simon S. M. Chan, Paul Lochhead, Ashwin N. Ananthakrishnan, Andrew R. Hart, et Andrew T. Chan. 2018. « The Role of Diet in the Aetiopathogenesis of Inflammatory Bowel Disease ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 15(9):525-35. doi: 10.1038/s41575-018-0022-9.

Kobayashi, Taku, Britta Siegmund, Catherine Le Berre, Shu Chen Wei, Marc Ferrante, Bo Shen, Charles N. Bernstein, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet, et Toshifumi Hibi. 2020. « Ulcerative Colitis ». *Nature Reviews Disease Primers* 6(1):1-20. doi: 10.1038/s41572-020-0205-x.

Krause, Gerd, Lars Winkler, Christian Piehl, Ingolf Blasig, Jörg Piontek, et Sebastian L. Müller. 2009. « Structure and Function of Extracellular Claudin Domains ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1165(1):34-43. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04057.x.

Kurihara, Yusuke, Tomotake Kanki, Yoshimasa Aoki, Yuko Hirota, Tetsu Saigusa, Takeshi Uchiumi, et Dongchon Kang. 2012. « Mitophagy Plays an Essential Role in Reducing Mitochondrial Production of Reactive Oxygen Species and Mutation of Mitochondrial DNA by Maintaining Mitochondrial Quantity and Quality in Yeast ». *The Journal of Biological Chemistry* 287(5):3265-72. doi: 10.1074/jbc.M111.280156.

Lagdali, Nawal, Ajana Fatima Zahra, Benelbarhdadi Imane, et Afifi Rajae. 2023. « Impact des MICI sur la qualite de vie ». Présenté à JFHOD | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépto-gastroentérologie et d'oncologie digestive.

Laharie, D., J. Filippi, X. Roblin, S. Nancey, J. B. Chevaux, X. Hébuterne, B. Flourié, M. Capdepon, et L. Peyrin-Biroulet. 2013. « Impact of Mucosal Healing on Long-Term Outcomes in Ulcerative Colitis Treated with Infliximab: A Multicenter Experience ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 37(10):998-1004. doi: 10.1111/apt.12289.

Lan, Annaïg, François Blachier, Robert Benamouzig, Martin Beaumont, Christophe Barrat, Desire Coelho, Antonio Lancha, Xiangfeng Kong, Yulong Yin, Jean-Claude Marie, et Daniel Tomé. 2015. « Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Diseases: Is There a Place for Nutritional Supplementation? » *Inflammatory Bowel Diseases* 21(1):198-207. doi: 10.1097/MIB.000000000000177.

Lan, Annaïg, Anne Blais, Desire Coelho, Juliette Capron, Manar Maarouf, Robert Benamouzig, Antonio H. Lancha, Francine Walker, Daniel Tomé, et François Blachier. 2016. « Dual effects of a high-protein diet on DSS-treated mice during colitis resolution phase ».

*American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 311(4):G624-33. doi: 10.1152/ajpgi.00433.2015.

Lan, Annaïg, Thomas Guerbette, Mireille Andriamihaja, Benjamin Magnin, Martin Bordet, Pierre-Jean Ferron, Agnès Burel, Roselyne Viel, Bernard Fromenty, Anne Corlu, François Blachier, et Guillaume Bouguen. 2023. « Mitochondrial Remodeling and Energy Metabolism Adaptations in Colonic Crypts during Spontaneous Epithelial Repair after Colitis Induction in Mice ». *Free Radical Biology and Medicine* 205:224-33. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.06.007.

Larson, Shawn D., Jing Li, Dai H. Chung, et B. Mark Evers. 2007. « Molecular Mechanisms Contributing to Glutamine-Mediated Intestinal Cell Survival ». *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 293(6):G1262-71. doi: 10.1152/ajpgi.00254.2007.

Laukoetter, Mike G., Matthias Bruewer, et Asma Nusrat. 2006. « Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier by the Apical Junctional Complex ». *Current Opinion in Gastroenterology* 22(2):85-89. doi: 10.1097/01.mog.0000203864.48255.4f.

Li, Hongyan, Hongxia Che, Jingwen Xie, Xiufang Dong, Lin Song, Wancui Xie, et Jinyuan Sun. 2022. « Supplementary Selenium in the Form of Selenylation  $\alpha$ -D-1,6-Glucan Ameliorates Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis in Vivo ». *International Journal of Biological Macromolecules* 195:67-74. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.11.189.

Linden, David R. 2014. « Hydrogen Sulfide Signaling in the Gastrointestinal Tract ». *Antioxidants & Redox Signaling* 20(5):818-30. doi: 10.1089/ars.2013.5312.

Liu, Cambrian, D. Polk, et Mark Frey. 2018. « Mucosal Restitution and Repair ». P. 683-708 in *Physiology of the Gastrointestinal Tract (Sixth Edition)*.

Loftus, Edward V., Brian G. Feagan, Remo Panaccione, Jean-Frédéric Colombel, William J. Sandborn, Bruce E. Sands, Silvio Danese, Geert D'Haens, David T. Rubin, Ira Shafran, Andrejus Parfionovas, Raquel Rogers, Richard A. Lirio, et Séverine Vermeire. 2020. « Long-term safety of vedolizumab for inflammatory bowel disease ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 52(8):1353-65. doi: 10.1111/apt.16060.

Lopetuso, Loris R., Carlo De Salvo, Luca Pastorelli, Nitish Rana, Henry N. Senkfor, Valentina Petito, Luca Di Martino, Franco Scaldaferrri, Antonio Gasbarrini, Fabio Cominelli, Derek W. Abbott, Wendy A. Goodman, et Theresa T. Pizarro. 2018. « IL-33 promotes recovery from acute colitis by inducing miR-320 to stimulate epithelial restitution and repair ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(40):E9362-70. doi: 10.1073/pnas.1803613115.

Lukovac, Sabina, Clara Belzer, Linette Pellis, Bart J. Keijser, Willem M. de Vos, Roy C. Montijn, et Guus Roeselers. 2014. « Differential Modulation by *Akkermansia Muciniphila* and *Faecalibacterium Prausnitzii* of Host Peripheral Lipid Metabolism and Histone Acetylation in Mouse Gut Organoids ». *mBio* 5(4):e01438-14. doi: 10.1128/mBio.01438-14.

Lux, G. D., L. J. Marton, et S. B. Baylin. 1980. « Ornithine Decarboxylase Is Important in Intestinal Mucosal Maturation and Recovery from Injury in Rats ». *Science (New York, N.Y.)* 210(4466):195-98. doi: 10.1126/science.6774420.

Macé, Vincent, Amrita Ahluwalia, Emmanuel Coron, Marc Le Rhun, Arnaud Boureille, Céline Bossard, Jean-François Mosnier, Tamara Matysiak-Budnik, et Andrzej S. Tarnawski. 2015. « Confocal Laser Endomicroscopy: A New Gold Standard for the Assessment of Mucosal Healing in Ulcerative Colitis ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 30(S1):85-92. doi: <https://doi.org/10.1111/jgh.12748>.

Machiels, Kathleen, Marie Joossens, João Sabino, Vicky De Preter, Ingrid Arijs, Venessa Eeckhaut, Vera Ballet, Karolien Claes, Filip Van Immerseel, Kristin Verbeke, Marc Ferrante, Jan Verhaegen, Paul Rutgeerts, et Séverine Vermeire. 2014. « A Decrease of the Butyrate-Producing Species *Roseburia Hominis* and *Faecalibacterium Prausnitzii* Defines Dysbiosis in Patients with Ulcerative Colitis ». *Gut* 63(8):1275-83. doi: 10.1136/gutjnl-2013-304833.

Magee, E. A., C. J. Richardson, R. Hughes, et J. H. Cummings. 2000. « Contribution of Dietary Protein to Sulfide Production in the Large Intestine: An in Vitro and a Controlled Feeding Study in Humans ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(6):1488-94. doi: 10.1093/ajcn/72.6.1488.

Magnusson, Maria K., Stefan Isaksson, et Lena Öhman. 2020. « The Anti-Inflammatory Immune Regulation Induced by Butyrate Is Impaired in Inflamed Intestinal Mucosa from Patients with Ulcerative Colitis ». *Inflammation* 43(2):507-17. doi: 10.1007/s10753-019-01133-8.

de Mattos, Bruno Rafael Ramos, Maellin Pereira Gracindo Garcia, Julia Bier Nogueira, Lisiery Negrini Paiatto, Cassia Galdino Albuquerque, Caique Lopes Souza, Luís Gustavo Romani Fernandes, Wirla Maria da Silva Cunha Tamashiro, et Patricia Ucelli Simioni. 2015. « Inflammatory Bowel Disease: An Overview of Immune Mechanisms and Biological Treatments ». *Mediators of Inflammation* 2015:e493012. doi: 10.1155/2015/493012.

Maxwell, P. H., C. W. Pugh, et P. J. Ratcliffe. 2001. « Activation of the HIF Pathway in Cancer ». *Current Opinion in Genetics & Development* 11(3):293-99. doi: 10.1016/s0959-437x(00)00193-3.

McQueen, Peter, Kathleen Busman-Sahay, Florian Rieder, Laura Noël-Romas, Stuart McCorrister, Garrett Westmacott, Jacob D. Estes, et Adam Burgener. 2019. « Intestinal Proteomic Analysis of a Novel Non-Human Primate Model of Experimental Colitis Reveals Signatures of Mitochondrial and Metabolic Dysfunction ». *Mucosal Immunology* 12(6):1327-35. doi: 10.1038/s41385-019-0200-2.

Medema, Jan Paul, et Louis Vermeulen. 2011. « Microenvironmental Regulation of Stem Cells in Intestinal Homeostasis and Cancer ». *Nature* 474(7351):318-26. doi: 10.1038/nature10212.

Melendez, Jaime, Matthew Grogg, et Yi Zheng. 2011. « Signaling Role of Cdc42 in Regulating Mammalian Physiology ». *The Journal of Biological Chemistry* 286(4):2375-81. doi: 10.1074/jbc.R110.200329.

Miki, Kazunori, David J. Moore, Ross N. Butler, Emma Southcott, Richard T. L. Couper, et Geoffrey P. Davidson. 1998. « The Sugar Permeability Test Reflects Disease Activity in Children and Adolescents with Inflammatory Bowel Disease ». *The Journal of Pediatrics* 133(6):750-54. doi: 10.1016/S0022-3476(98)70145-3.

Mittal, Manish, Mohammad Rizwan Siddiqui, Khiem Tran, Sekhar P. Reddy, et Asrar B. Malik. 2014. « Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury ». *Antioxidants & Redox Signaling* 20(7):1126-67. doi: 10.1089/ars.2012.5149.

Miyamoto, Yuji, Koichi Suyama, et Hideo Baba. 2017. « Recent Advances in Targeting the EGFR Signaling Pathway for the Treatment of Metastatic Colorectal Cancer ». *International Journal of Molecular Sciences* 18(4):752. doi: 10.3390/ijms18040752.

Mojtahed, Amirkaveh, Reena Khanna, William J. Sandborn, Geert R. D'Haens, Brian G. Feagan, Lisa M. Shackelton, Kenneth A. Baker, Elena Dubcenco, Mark A. Valasek, Karel Geboes, et Barrett G. Levesque. 2014. « Assessment of Histologic Disease Activity in Crohn's Disease: A Systematic Review ». *Inflammatory Bowel Diseases* 20(11):2092-2103. doi: 10.1097/MIB.000000000000155.

Moriggi, Manuela, Luca Pastorelli, Enrica Torretta, Gian Eugenio Tontini, Daniele Capitanio, Stefano Ferrero Bogetto, Maurizio Vecchi, et Cecilia Gelfi. 2017. « Contribution of Extracellular Matrix and Signal Mechanotransduction to Epithelial Cell Damage in Inflammatory Bowel Disease Patients: A Proteomic Study ». *Proteomics* 17(23-24). doi: 10.1002/pmic.201700164.

Nakamura, Atsuo, Shin Kurihara, Daisuke Takahashi, Wakana Ohashi, Yutaka Nakamura, Shunsuke Kimura, Masayoshi Onuki, Aiko Kume, Yukiko Sasazawa, Yukihiko Furusawa, Yuuki



Obata, Shinji Fukuda, Shinji Saiki, Mitsuharu Matsumoto, et Koji Hase. 2021. « Symbiotic Polyamine Metabolism Regulates Epithelial Proliferation and Macrophage Differentiation in the Colon ». *Nature Communications* 12(1):2105. doi: 10.1038/s41467-021-22212-1.

Nakase, Hiroshi, Noriko Sato, Naomi Mizuno, et Yoshiko Ikawa. 2022. « The Influence of Cytokines on the Complex Pathology of Ulcerative Colitis ». *Autoimmunity Reviews* 21(3):103017. doi: 10.1016/j.autrev.2021.103017.

Neurath, Markus F. 2014. « Cytokines in Inflammatory Bowel Disease ». *Nature Reviews Immunology* 14(5):329-42. doi: 10.1038/nri3661.

Neurath, Markus F., et Simon P. L. Travis. 2012. « Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review ». *Gut* 61(11):1619-35. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302830.

Neurath, Markus, Ivan Fuss, et Warren Strober. 2000. « TNBS-Colitis ». *International Reviews of Immunology* 19(1):51-62. doi: 10.3109/08830180009048389.

Nicholls, David G. 2004. « Mitochondrial Membrane Potential and Aging ». *Aging Cell* 3(1):35-40. doi: 10.1111/j.1474-9728.2003.00079.x.

Noben, Manuel, Bram Verstockt, Magali de Bruyn, Nikolai Hendriks, Gert Van Assche, Séverine Vermeire, Catherine Verfaillie, et Marc Ferrante. 2017. « Epithelial Organoid Cultures from Patients with Ulcerative Colitis and Crohn's Disease: A Truly Long-Term Model to Study the Molecular Basis for Inflammatory Bowel Disease? ». *Gut* 66(12):2193-95. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313667.

Norton, Christine, Lesley B. Dibley, et Paul Bassett. 2013. « Faecal Incontinence in Inflammatory Bowel Disease: Associations and Effect on Quality of Life ». *Journal of Crohn's & Colitis* 7(8):e302-311. doi: 10.1016/j.crohns.2012.11.004.

Nozaki, Kengo, Wakana Mochizuki, Yuka Matsumoto, Taichi Matsumoto, Masayoshi Fukuda, Tomohiro Mizutani, Mamoru Watanabe, et Tetsuya Nakamura. 2016. « Co-Culture with Intestinal Epithelial Organoids Allows Efficient Expansion and Motility Analysis of Intraepithelial Lymphocytes ». *Journal of Gastroenterology* 51(3):206-13. doi: 10.1007/s00535-016-1170-8.

O'Hara, Ryan, Enzo Tedone, Andrew Ludlow, Ejun Huang, Beatrice Arosio, Daniela Mari, et Jerry W. Shay. 2019. « Quantitative Mitochondrial DNA Copy Number Determination Using Droplet Digital PCR with Single-Cell Resolution ». *Genome Research* 29(11):1878-88. doi: 10.1101/gr.250480.119.

Okada, Tomoyuki, Tsutomu Kanda, Naoki Ueda, Yuichiro Ikebuchi, Keiichi Hashiguchi, Kazuhiko Nakao, et Hajime Isomoto. 2020. « IL-8 and LYPD8 Expression Levels Are Associated with the Inflammatory Response in the Colon of Patients with Ulcerative Colitis ». *Biomedical Reports* 12(4):193-98. doi: 10.3892/br.2020.1280.

Okamoto, Ryuichi, Hiromichi Shimizu, Kohei Suzuki, Ami Kawamoto, Junichi Takahashi, Mao Kawai, Sayaka Nagata, Yui Hiraguri, Sayaka Takeoka, Hady Yuki Sugihara, Shiro Yui, et Mamoru Watanabe. 2020a. « Organoid-based regenerative medicine for inflammatory bowel disease ». *Regenerative Therapy* 13:1-6. doi: 10.1016/j.reth.2019.11.004.

Okamoto, Ryuichi, Hiromichi Shimizu, Kohei Suzuki, Ami Kawamoto, Junichi Takahashi, Mao Kawai, Sayaka Nagata, Yui Hiraguri, Sayaka Takeoka, Hady Yuki Sugihara, Shiro Yui, et Mamoru Watanabe. 2020b. « Organoid-Based Regenerative Medicine for Inflammatory Bowel Disease ». *Regenerative Therapy* 13:1-6. doi: 10.1016/j.reth.2019.11.004.

Ordás, Ingrid, Lars Eckmann, Mark Talamini, Daniel C. Baumgart, et William J. Sandborn. 2012. « Ulcerative Colitis ». *The Lancet* 380(9853):1606-19. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0.

O'Rourke, J. F., Y. M. Tian, P. J. Ratcliffe, et C. W. Pugh. 1999. « Oxygen-Regulated and Transactivating Domains in Endothelial PAS Protein 1: Comparison with Hypoxia-Inducible Factor-1alpha ». *The Journal of Biological Chemistry* 274(4):2060-71. doi: 10.1074/jbc.274.4.2060.

Park, Jung-Ha, Takenori Kotani, Tasuku Konno, Jajar Setiawan, Yasuaki Kitamura, Shinya Imada, Yutaro Usui, Naoya Hatano, Masakazu Shinohara, Yasuyuki Saito, Yoji Murata, et Takashi Matozaki. 2016. « Promotion of Intestinal Epithelial Cell Turnover by Commensal Bacteria: Role of Short-Chain Fatty Acids ». *PloS One* 11(5):e0156334. doi: 10.1371/journal.pone.0156334.

Pascual-Itoiz, Miguel Angel, Ainize Peña-Cearra, Itziar Martín-Ruiz, José Luis Lavín, Carolina Simó, Héctor Rodríguez, Estibaliz Atondo, Juana María Flores, Ana Carreras-González, Julen Tomás-Cortázar, Diego Barriales, Ainhoa Palacios, Virginia García-Cañas, Aize Pellón, Asier Fullaondo, Ana M<sup>a</sup> Aransay, Rafael Prados-Rosales, Rebeca Martín, Juan Anguita, et Leticia Abecia. 2020. « The Mitochondrial Negative Regulator MCJ Modulates the Interplay between Microbiota and the Host during Ulcerative Colitis ». *Scientific Reports* 10(1):572. doi: 10.1038/s41598-019-57348-0.

Penrose, Harrison M., Rida Iftikhar, Morgan E. Collins, Eman Toraih, Emmanuelle Ruiz, Nathan Ungerleider, Hani Nakhoul, Erik F. Flemington, Emad Kandil, Shamita B. Shah, et Suzana D. Savkovic. 2021. « Ulcerative Colitis Immune Cell Landscapes and Differentially

Expressed Gene Signatures Determine Novel Regulators and Predict Clinical Response to Biologic Therapy ». *Scientific Reports* 11(1):9010. doi: 10.1038/s41598-021-88489-w.

Peyrin-Biroulet, L., W. Sandborn, B. E. Sands, W. Reinisch, W. Bemelman, R. V. Bryant, G. D'Haens, I. Dotan, M. Dubinsky, B. Feagan, G. Fiorino, R. Geary, S. Krishnareddy, P. L. Lakatos, E. V. Jr Loftus, P. Marteau, P. Munkholm, T. B. Murdoch, I. Ordás, R. Panaccione, R. H. Riddell, J. Ruel, D. T. Rubin, M. Samaan, C. A. Siegel, M. S. Silverberg, J. Stoker, S. Schreiber, S. Travis, G. Van Assche, S. Danese, J. Panes, G. Bouguen, S. O'Donnell, B. Pariente, S. Winer, S. Hanauer, et J. F. Colombel. 2015a. « Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target ». *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 110(9):1324. doi: 10.1038/ajg.2015.233.

Peyrin-Biroulet, L., W. Sandborn, B. E. Sands, W. Reinisch, W. Bemelman, R. V. Bryant, G. D'Haens, I. Dotan, M. Dubinsky, B. Feagan, G. Fiorino, R. Geary, S. Krishnareddy, P. L. Lakatos, E. V. Jr Loftus, P. Marteau, P. Munkholm, T. B. Murdoch, I. Ordás, R. Panaccione, R. H. Riddell, J. Ruel, D. T. Rubin, M. Samaan, C. A. Siegel, M. S. Silverberg, J. Stoker, S. Schreiber, S. Travis, G. Van Assche, S. Danese, J. Panes, G. Bouguen, S. O'Donnell, B. Pariente, S. Winer, S. Hanauer, et J. F. Colombel. 2015b. « Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target ». *Official Journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 110(9):1324-38. doi: 10.1038/ajg.2015.233.

Pfleger, Jessica. 2022. « Measurements of Mitochondrial Respiration in Intact Cells, Permeabilized Cells, and Isolated Tissue Mitochondria Using the Seahorse XF Analyzer ». P. 185-206 in *Mitochondria: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, édité par N. Tomar. New York, NY: Springer US.

Pineton de Chambrun, Guillaume, Pierre Blanc, et Laurent Peyrin-Biroulet. 2016. « Current evidence supporting mucosal healing and deep remission as important treatment goals for inflammatory bowel disease ». *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology* 10(8):915-27. doi: 10.1586/17474124.2016.1174064.

Potten, Christopher S., Catherine Booth, et D. Mark Pritchard. 1997. « The Intestinal Epithelial Stem Cell: The Mucosal Governor ». *International Journal of Experimental Pathology* 78(4):219-43. doi: 10.1046/j.1365-2613.1997.280362.x.

Preter, V. De, K. P. Geboes, V. Bulteel, G. Vandermeulen, P. Suenart, P. Rutgeerts, et K. Verbeke. 2011. « Kinetics of Butyrate Metabolism in the Normal Colon and in Ulcerative Colitis: The Effects of Substrate Concentration and Carnitine on the B-oxidation Pathway ».

*Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 34(5):526-32. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04757.x.

Qi, Zhen, et Ye-Guang Chen. 2015. « Regulation of Intestinal Stem Cell Fate Specification ». *Science China Life Sciences* 58(6):570-78. doi: 10.1007/s11427-015-4859-7.

Ramakrishnan, Sadeesh K., et Yatrik M. Shah. 2016. « Role of Intestinal HIF-2 $\alpha$  in Health and Disease ». *Annual Review of Physiology* 78:301-25. doi: 10.1146/annurev-physiol-021115-105202.

Rawat, Manmeet, Meghali Nighot, Rana Al-Sadi, Yash Gupta, Dharmaprakash Viszwapriya, Gregory Yochum, Walter Koltun, et Thomas Y. Ma. 2020. « IL1B Increases Intestinal Tight Junction Permeability by Up-Regulation of MIR200C-3p, Which Degrades Occludin mRNA ». *Gastroenterology* 159(4):1375-89. doi: 10.1053/j.gastro.2020.06.038.

Reinisch, Walter, William J. Sandborn, Mohan Bala, Songkai Yan, Brian G. Feagan, Paul Rutgeerts, Graham Radford-Smith, Stephen Xu, Debra Eisenberg, Allan Olson, et Jean Frédéric Colombel. 2007. « Response and Remission Are Associated with Improved Quality of Life, Employment and Disability Status, Hours Worked, and Productivity of Patients with Ulcerative Colitis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 13(9):1135-40. doi: 10.1002/ibd.20165.

Rocafull, Miguel A., Luz E. Thomas, Girolamo J. Barrera, et Jesús R. del Castillo. 2010. « Differential Expression of P-Type ATPases in Intestinal Epithelial Cells: Identification of Putative New Atp1a1 Splice-Variant ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 391(1):152-58. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.11.023.

Rodríguez, Luis Alberto García, Ana Ruigómez, et Julián Panés. 2006. « Acute Gastroenteritis Is Followed by an Increased Risk of Inflammatory Bowel Disease ». *Gastroenterology* 130(6):1588-94. doi: 10.1053/j.gastro.2006.02.004.

Roediger, W E. 1980. « Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. » *Gut* 21(9):793-98.

Roediger, W. E. 1980. « The Colonic Epithelium in Ulcerative Colitis: An Energy-Deficiency Disease? » *Lancet (London, England)* 2(8197):712-15. doi: 10.1016/s0140-6736(80)91934-0.

Roediger, W. E. 1982. « Utilization of Nutrients by Isolated Epithelial Cells of the Rat Colon ». *Gastroenterology* 83(2):424-29.

Rogoz, Aneta, Bernardo S. Reis, Roos A. Karssemeijer, et Daniel Mucida. 2015. « A 3-D Enteroid-Based Model to Study T-Cell and Epithelial Cell Interaction ». *Journal of Immunological Methods* 421:89-95. doi: 10.1016/j.jim.2015.03.014.

Rosa, Alexandra, Patrícia Abrantes, Inês Sousa, Vânia Francisco, Patrícia Santos, David Francisco, Joana M. Xavier, et Sofia A. Oliveira. 2016. « Ulcerative Colitis Is Under Dual (Mitochondrial and Nuclear) Genetic Control ». *Inflammatory Bowel Diseases* 22(4):774-81. doi: 10.1097/MIB.0000000000000694.

Rubin, David T., Marla C. Dubinsky, Remo Panaccione, Corey A. Siegel, David G. Binion, Sunanda V. Kane, et Joseph Hopper. 2010. « The Impact of Ulcerative Colitis on Patients' Lives Compared to Other Chronic Diseases: A Patient Survey ». *Digestive Diseases and Sciences* 55(4):1044-52. doi: 10.1007/s10620-009-0953-7.

Rutgeerts, Paul, William J. Sandborn, Brian G. Feagan, Walter Reinisch, Allan Olson, Jewel Johanns, Suzanne Travers, Daniel Rachmilewitz, Stephen B. Hanauer, Gary R. Lichtenstein, Willem J. S. de Villiers, Daniel Present, Bruce E. Sands, et Jean Frédéric Colombel. 2005. « Infliximab for Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis ». *The New England Journal of Medicine* 353(23):2462-76. doi: 10.1056/NEJMoa050516.

S, Sultan, El-Mowafy M, Elgaml A, Ahmed Tae, Hassan H, et Mottawea W. 2021. « Metabolic Influences of Gut Microbiota Dysbiosis on Inflammatory Bowel Disease ». *Frontiers in Physiology* 12. doi: 10.3389/fphys.2021.715506.

Saeedi, Bejan J., Daniel J. Kao, David A. Kitzenberg, Evgenia Dobrinskikh, Kayla D. Schwisow, Joanne C. Masterson, Agnieszka A. Kendrick, Caleb J. Kelly, Amanda J. Bayless, Douglas J. Kominsky, Eric L. Campbell, Kristine A. Kuhn, Glenn T. Furuta, Sean P. Colgan, et Louise E. Glover. 2015. « HIF-Dependent Regulation of Claudin-1 Is Central to Intestinal Epithelial Tight Junction Integrity ». *Molecular Biology of the Cell* 26(12):2252-62. doi: 10.1091/mbc.E14-07-1194.

Santhanam, Srikanth, Subapriya Rajamanickam, Anjan Motamarri, Balakrishnan S. Ramakrishna, Jayakumar G. Amirtharaj, Anup Ramachandran, Anna Pulimood, et Aparna Venkatraman. 2012. « Mitochondrial Electron Transport Chain Complex Dysfunction in the Colonic Mucosa in Ulcerative Colitis ». *Inflammatory Bowel Diseases* 18(11):2158-68. doi: 10.1002/ibd.22926.

Sasaki, Nobuo, Norman Sachs, Kay Wiebrands, Saskia I. J. Ellenbroek, Arianna Fumagalli, Anna Lyubimova, Harry Begthel, Maaïke van den Born, Johan H. van Es, Wouter R. Karthaus, Vivian S. W. Li, Carmen López-Iglesias, Peter J. Peters, Jacco van Rheenen, Alexander van Oudenaarden, et Hans Clevers. 2016. « Reg4+ Deep Crypt Secretory Cells Function as Epithelial Niche for Lgr5+ Stem Cells in Colon ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(37):E5399-5407. doi: 10.1073/pnas.1607327113.

Sato, Toshiro, Daniel E. Stange, Marc Ferrante, Robert G. J. Vries, Johan H. van Es, Stieneke van den Brink, Winan J. van Houdt, Apollo Pronk, Joost van Gorp, Peter D. Siersema, et Hans Clevers. 2011. « Long-Term Expansion of Epithelial Organoids From Human Colon, Adenoma, Adenocarcinoma, and Barrett's Epithelium ». *Gastroenterology* 141(5):1762-72. doi: 10.1053/j.gastro.2011.07.050.

Sato, Toshiro, Robert G. Vries, Hugo J. Snippert, Marc van de Wetering, Nick Barker, Daniel E. Stange, Johan H. van Es, Arie Abo, Pekka Kujala, Peter J. Peters, et Hans Clevers. 2009. « Single Lgr5 Stem Cells Build Crypt-Villus Structures in Vitro without a Mesenchymal Niche ». *Nature* 459(7244):262-65. doi: 10.1038/nature07935.

Satsangi, J., M. S. Silverberg, S. Vermeire, et J-F Colombel. 2006. « The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications ». *Gut* 55(6):749-53. doi: 10.1136/gut.2005.082909.

Scholz, Carsten C., Miguel A. S. Cavadas, Murtaza M. Tambuwala, Emily Hams, Javier Rodríguez, Alex von Kriegsheim, Philip Cotter, Ulrike Bruning, Padraic G. Fallon, Alex Cheong, Eoin P. Cummins, et Cormac T. Taylor. 2013. « Regulation of IL-1 $\beta$ -Induced NF- $\kappa$ B by Hydroxylases Links Key Hypoxic and Inflammatory Signaling Pathways ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(46):18490-95. doi: 10.1073/pnas.1309718110.

Scorrano, L., V. Petronilli, R. Colonna, F. Di Lisa, et P. Bernardi. 1999. « Chloromethyltetramethylrosamine (Mitotracker Orange) Induces the Mitochondrial Permeability Transition and Inhibits Respiratory Complex I. Implications for the Mechanism of Cytochrome c Release ». *The Journal of Biological Chemistry* 274(35):24657-63. doi: 10.1074/jbc.274.35.24657.

Scorrano, Luca. 2013. « Keeping Mitochondria in Shape: A Matter of Life and Death ». *European Journal of Clinical Investigation* 43(8):886-93. doi: 10.1111/eci.12135.

Seifert, Erin L., Carmen Estey, Jian Y. Xuan, et Mary-Ellen Harper. 2010. « Electron Transport Chain-dependent and -independent Mechanisms of Mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Emission during Long-chain Fatty Acid Oxidation ». *The Journal of Biological Chemistry* 285(8):5748-58. doi: 10.1074/jbc.M109.026203.

Semenza, Gregg L. 2017. « Hypoxia-inducible factors: coupling glucose metabolism and redox regulation with induction of the breast cancer stem cell phenotype ». *The EMBO Journal* 36(3):252-59. doi: 10.15252/emj.201695204.

Seo, Dong Hyuk, Xiumei Che, Min Seob Kwak, Soochan Kim, Jae Hyeon Kim, Hyun Woo Ma, Da Hye Kim, Tae Il Kim, Won Ho Kim, Seung Won Kim, et Jae Hee Cheon. 2017. « Interleukin-33 regulates intestinal inflammation by modulating macrophages in inflammatory bowel disease ». *Scientific Reports* 7:851. doi: 10.1038/s41598-017-00840-2.

Shekhawat, Prem S., Sonne R. Srinivas, Dietrich Matern, Michael J. Bennett, Richard Boriack, Varghese George, Hongyan Xu, Puttur D. Prasad, Penny Roon, et Vadivel Ganapathy. 2007. « Spontaneous Development of Intestinal and Colonic Atrophy and Inflammation in the Carnitine-Deficient *Jvs* (OCTN2<sup>-/-</sup>) Mice ». *Molecular Genetics and Metabolism* 92(4):315-24. doi: 10.1016/j.ymgme.2007.08.002.

Siebert, Uwe, Johannes Wurm, Raffaella Matteucci Gothe, Marjan Arvandi, Stephan R. Vavricka, Roland von Känel, Stefan Begré, Michael C. Sulz, Christa Meyenberger, Markus Sagmeister, et Swiss IBD Cohort Study Group. 2013. « Predictors of Temporary and Permanent Work Disability in Patients with Inflammatory Bowel Disease: Results of the Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort Study ». *Inflammatory Bowel Diseases* 19(4):847-55. doi: 10.1097/MIB.0b013e31827f278e.

Sifroni, Karla G., Carlos R. Damiani, Cristhopher Stoffel, Mariane R. Cardoso, Gabriela K. Ferreira, Isabela C. Jeremias, Gislaine T. Rezin, Giselli Scaini, Patricia F. Schuck, Felipe Dal-Pizzol, et Emilio L. Streck. 2010. « Mitochondrial Respiratory Chain in the Colonic Mucosal of Patients with Ulcerative Colitis ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 342(1-2):111-15. doi: 10.1007/s11010-010-0474-x.

Singhal, Rashi, et Yatrik M. Shah. 2020. « Oxygen Battle in the Gut: Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factors in Metabolic and Inflammatory Responses in the Intestine ». *Journal of Biological Chemistry* 295(30):10493-505. doi: 10.1074/jbc.REV120.011188.

Smillie, Christopher S., Moshe Biton, Jose Ordovas-Montanes, Keri M. Sullivan, Grace Burgin, Daniel B. Graham, Rebecca H. Herbst, Noga Rogel, Michal Slyper, Julia Waldman, Malika Sud, Elizabeth Andrews, Gabriella Velonias, Adam L. Haber, Karthik Jagadeesh, Sanja Vickovic, Junmei Yao, Christine Stevens, Danielle Dionne, Lan T. Nguyen, Alexandra-Chloé Villani, Matan Hofree, Elizabeth A. Creasey, Hailiang Huang, Orit Rozenblatt-Rosen, John J. Garber, Hamed Khalili, A. Nicole Desch, Mark J. Daly, Ashwin N. Ananthkrishnan, Alex K. Shalek, Ramnik J. Xavier, et Aviv Regev. 2019. « Intra- and Inter-Cellular Rewiring of the Human Colon during Ulcerative Colitis ». *Cell* 178(3):714-730.e22. doi: 10.1016/j.cell.2019.06.029.

Solberg, Inger Camilla, Idar Lygren, Jørgen Jahnsen, Erling Aadland, Ole Høie, Milada Cvancarova, Tomm Bernklev, Magne Henriksen, Jostein Sauar, Morten H. Vatn, Bjørn Moum,

et And the IBSEN Study Group. 2009. « Clinical course during the first 10 years of ulcerative colitis: results from a population-based inception cohort (IBSEN Study) ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 44(4):431-40. doi: 10.1080/00365520802600961.

Sormendi, Sunday, et Ben Wielockx. 2018. « Hypoxia Pathway Proteins As Central Mediators of Metabolism in the Tumor Cells and Their Microenvironment ». *Frontiers in Immunology* 9:40. doi: 10.3389/fimmu.2018.00040.

Starkov, Anatoly A., Gary Fiskum, Christos Chinopoulos, Beverly J. Lorenzo, Susan E. Browne, Mulchand S. Patel, et M. Flint Beal. 2004a. « Mitochondrial Alpha-Ketoglutarate Dehydrogenase Complex Generates Reactive Oxygen Species ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 24(36):7779-88. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1899-04.2004.

Starkov, Anatoly A., Gary Fiskum, Christos Chinopoulos, Beverly J. Lorenzo, Susan E. Browne, Mulchand S. Patel, et M. Flint Beal. 2004b. « Mitochondrial  $\alpha$ -Ketoglutarate Dehydrogenase Complex Generates Reactive Oxygen Species ». *The Journal of Neuroscience* 24(36):7779-88. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1899-04.2004.

Stidham, Ryan W., et Peter D. R. Higgins. 2018. « Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease ». *Clinics in Colon and Rectal Surgery* 31(3):168-78. doi: 10.1055/s-0037-1602237.

Sturm, Andreas, et Axel U. Dignass. 2008. « Epithelial restitution and wound healing in inflammatory bowel disease ». *World Journal of Gastroenterology: WJG* 14(3):348-53. doi: 10.3748/wjg.14.348.

Sugimoto, Shinya, et Toshiro Sato. 2021. « Organoid vs In Vivo Mouse Model: Which is Better Research Tool to Understand the Biologic Mechanisms of Intestinal Epithelium? ». *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 13(1):195-97. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.06.027.

Sun, Huadong, Edwin CY Chow, Shanjun Liu, Yimin Du, et K. Sandy Pang. 2008. « The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations ». *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 4(4):395-411. doi: 10.1517/17425255.4.4.395.

Sun, Lihua, Teming Li, Hanlin Tang, Kun Yu, Yuanhang Ma, Min Yu, Yuan Qiu, Pengyuan Xu, Weidong Xiao, et Hua Yang. 2019. « Intestinal Epithelial Cells-Derived Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$  Is Essential for the Homeostasis of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes ». *Frontiers in Immunology* 10:806. doi: 10.3389/fimmu.2019.00806.

Sun, M., C. He, W. Wu, G. Zhou, F. Liu, Y. Cong, et Z. Liu. 2017. « Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ -induced interleukin-33 expression in intestinal epithelia contributes to mucosal



homeostasis in inflammatory bowel disease ». *Clinical and Experimental Immunology* 187(3):428-40. doi: 10.1111/cei.12896.

Thibault, Ronan, Pierre De Coppet, Kristian Daly, Arnaud Bourreille, Mark Cuff, Christian Bonnet, Jean-François Mosnier, Jean-Paul Galmiche, Soraya Shirazi-Beechey, et Jean-Pierre Segain. 2007. « Down-Regulation of the Monocarboxylate Transporter 1 Is Involved in Butyrate Deficiency during Intestinal Inflammation ». *Gastroenterology* 133(6):1916-27. doi: 10.1053/j.gastro.2007.08.041.

Thompson, A. A. Roger, Philip M. Elks, Helen M. Marriott, Suttida Eamsamang, Kathryn R. Higgins, Amy Lewis, Lynne Williams, Selina Parmar, Gary Shaw, Emmet E. McGrath, Federico Formenti, Fredericus J. Van Eeden, Vuokko L. Kinnula, Christopher W. Pugh, Ian Sabroe, David H. Dockrell, Edwin R. Chilvers, Peter A. Robbins, Melanie J. Percy, M. Celeste Simon, Randall S. Johnson, Stephen A. Renshaw, Moira K. B. Whyte, et Sarah R. Walmsley. 2014. « Hypoxia-Inducible Factor 2 $\alpha$  Regulates Key Neutrophil Functions in Humans, Mice, and Zebrafish ». *Blood* 123(3):366-76. doi: 10.1182/blood-2013-05-500207.

Tian, Hua, Brian Biehs, Cecilia Chiu, Christian W. Siebel, Yan Wu, Mike Costa, Frederic J. de Sauvage, et Ophir D. Klein. 2015. « Opposing Activities of Notch and Wnt Signaling Regulate Intestinal Stem Cells and Gut Homeostasis ». *Cell Reports* 11(1):33-42. doi: 10.1016/j.celrep.2015.03.007.

Tian, Yang, Yongfei Li, Wen-Xin Wang, Wen-Li Jiang, Junjie Fei, et Chun-Yan Li. 2020. « Novel Strategy for Validating the Existence and Mechanism of the “Gut–Liver Axis” in Vivo by a Hypoxia-Sensitive NIR Fluorescent Probe ». *Analytical Chemistry* 92(6):4244-50. doi: 10.1021/acs.analchem.9b04578.

Torres, Joana, Stefanos Bonovas, Glen Doherty, Torsten Kucharzik, Javier P. Gisbert, Tim Raine, Michel Adamina, Alessandro Armuzzi, Oliver Bachmann, Palle Bager, Livia Biancone, Bernd Bokemeyer, Peter Bossuyt, Johan Burisch, Paul Collins, Alaa El-Hussuna, Pierre Ellul, Cornelia Frei-Lanter, Federica Furfaro, Christian Gingert, Paolo Gionchetti, Fernando Gomollon, Marien González-Lorenzo, Hannah Gordon, Tibor Hlavaty, Pascal Juillerat, Konstantinos Katsanos, Uri Kopylov, Eduards Krustins, Theodore Lytras, Christian Maaser, Fernando Magro, John Kenneth Marshall, Pär Myrelid, Gianluca Pellino, Isadora Rosa, Joao Sabino, Edoardo Savarino, Antonino Spinelli, Laurents Stassen, Mathieu Uzzan, Stephan Vavricka, Bram Verstockt, Janindra Warusavitarne, Oded Zmora, Gionata Fiorino, et on behalf of the European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO]. 2020. « ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment ». *Journal of Crohn's and Colitis* 14(1):4-22. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjz180.

Triner, Daniel, Xiang Xue, Andrew J. Schwartz, Inkyung Jung, Justin A. Colacino, et Yatrik M. Shah. 2017. « Epithelial Hypoxia-Inducible Factor 2 $\alpha$  Facilitates the Progression of Colon Tumors through Recruiting Neutrophils ». *Molecular and Cellular Biology* 37(5):e00481-16. doi: 10.1128/MCB.00481-16.

Truelove, S. C., et L. J. Witts. 1954. « Cortisone in Ulcerative Colitis ». *British Medical Journal* 2(4884):375-78.

Turner, Dan, Anne M. Griffiths, Gigi Veerman, Jewel Johanns, Lakshmi Damaraju, Marion Blank, et Jeffrey Hyams. 2013. « Endoscopic and Clinical Variables That Predict Sustained Remission in Children With Ulcerative Colitis Treated With Infliximab ». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 11(11):1460-65. doi: 10.1016/j.cgh.2013.04.049.

Turner, Dan, Amanda Ricciuto, Ayanna Lewis, Ferdinando D'Amico, Jasbir Dhaliwal, Anne M. Griffiths, Dominik Bettenworth, William J. Sandborn, Bruce E. Sands, Walter Reinisch, Jürgen Schölmerich, Willem Bemelman, Silvio Danese, Jean Yves Mary, David Rubin, Jean-Frederic Colombel, Laurent Peyrin-Biroulet, Iris Dotan, Maria T. Abreu, et Axel Dignass. 2021. « STRIDE-II: An Update on the Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE) Initiative of the International Organization for the Study of IBD (IOIBD): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target Strategies in IBD ». *Gastroenterology* 160(5):1570-83. doi: 10.1053/j.gastro.2020.12.031.

Ungaro, Ryan, Saurabh Mehandru, Patrick B. Allen, Laurent Peyrin-Biroulet, et Jean-Frédéric Colombel. 2017. « Ulcerative colitis ». *Lancet (London, England)* 389(10080):1756-70. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32126-2.

Ussakli, Cigdem Himmetoglu, Anoosheh Ebaee, Jennifer Binkley, Teresa A. Brentnall, Mary J. Emond, Peter S. Rabinovitch, et Rosa Ana Risques. 2013. « Mitochondria and Tumor Progression in Ulcerative Colitis ». *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 105(16):1239-48. doi: 10.1093/jnci/djt167.

Van der Flier, Laurens G., et Hans Clevers. 2009. « Stem Cells, Self-Renewal, and Differentiation in the Intestinal Epithelium ». *Annual Review of Physiology* 71:241-60. doi: 10.1146/annurev.physiol.010908.163145.

Van Welden, Sophie, Andrew C. Selfridge, et Pieter Hindryckx. 2017. « Intestinal Hypoxia and Hypoxia-Induced Signalling as Therapeutic Targets for IBD ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 14(10):596-611. doi: 10.1038/nrgastro.2017.101.

VanDussen, Kelli L., Naomi M. Sonnek, et Thaddeus S. Stappenbeck. 2019a. « L-WRN conditioned medium for gastrointestinal epithelial stem cell culture shows replicable batch-to-

batch activity levels across multiple research teams ». *Stem cell research* 37:101430. doi: 10.1016/j.scr.2019.101430.

VanDussen, Kelli L., Naomi M. Sonnek, et Thaddeus S. Stappenbeck. 2019b. « L-WRN Conditioned Medium for Gastrointestinal Epithelial Stem Cell Culture Shows Replicable Batch-to-Batch Activity Levels across Multiple Research Teams ». *Stem Cell Research* 37:101430. doi: 10.1016/j.scr.2019.101430.

Ventura-Clapier, Renée, Anne Garnier, et Vladimir Veksler. 2008. « Transcriptional Control of Mitochondrial Biogenesis: The Central Role of PGC-1alpha ». *Cardiovascular Research* 79(2):208-17. doi: 10.1093/cvr/cvn098.

Vidal-Lletjós, Sandra, Mireille Andriamihaja, Anne Blais, Marta Grauso, Patricia Lepage, Anne-Marie Davila, Claire Gaudichon, Marion Leclerc, François Blachier, et Annaïg Lan. 2019. « Mucosal healing progression after acute colitis in mice ». *World Journal of Gastroenterology* 25(27):3572-89. doi: 10.3748/wjg.v25.i27.3572.

Vidal-Lletjós, Sandra, Mireille Andriamihaja, Anne Blais, Marta Grauso, Patricia Lepage, Anne-Marie Davila, Roselyne Viel, Claire Gaudichon, Marion Leclerc, François Blachier, et Annaïg Lan. 2019. « Dietary Protein Intake Level Modulates Mucosal Healing and Mucosa-Adherent Microbiota in Mouse Model of Colitis ». *Nutrients* 11(3). doi: 10.3390/nu11030514.

Vojdani, Aristo, Elroy Vojdani, et Datis Kharrazian. 2017. « Fluctuation of Zonulin Levels in Blood vs Stability of Antibodies ». *World Journal of Gastroenterology* 23(31):5669-79. doi: 10.3748/wjg.v23.i31.5669.

Wallimann, Theo, Caroline H. T. Hall, Sean P. Colgan, et Louise E. Glover. 2021. « Creatine Supplementation for Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Scientific Rationale for a Clinical Trial ». *Nutrients* 13(5):1429. doi: 10.3390/nu13051429.

Wang, Rui, Zhaoqi Li, Shaojun Liu, et Decai Zhang. 2023. « Global, Regional and National Burden of Inflammatory Bowel Disease in 204 Countries and Territories from 1990 to 2019: A Systematic Analysis Based on the Global Burden of Disease Study 2019 ». *BMJ Open* 13(3):e065186. doi: 10.1136/bmjopen-2022-065186.

Warburg, Otto, Franz Wind, et Erwin Negelein. 1927. « THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY ». *The Journal of General Physiology* 8(6):519-30.

Watanabe, Satoshi, Sakurako Kobayashi, Nobuhiko Ogasawara, Ryuichi Okamoto, Tetsuya Nakamura, Mamoru Watanabe, Kim B. Jensen, et Shiro Yui. 2022. « Transplantation of Intestinal Organoids into a Mouse Model of Colitis ». *Nature Protocols* 17(3):649-71. doi: 10.1038/s41596-021-00658-3.

Watkinson, Geoffrey. 1986. « Sulphasalazine: A Review of 40 Years' Experience ». *Drugs* 32(1):1-11. doi: 10.2165/00003495-198600321-00003.

Wegh, C. a. M., N. M. de Roos, R. Hovenier, J. Meijerink, I. Besseling-van der Vaart, S. van Hemert, et B. J. M. Witteman. 2019. « Intestinal Permeability Measured by Urinary Sucrose Excretion Correlates with Serum Zonulin and Faecal Calprotectin Concentrations in UC Patients in Remission ». *Journal of Nutrition and Metabolism* 2019:e2472754. doi: 10.1155/2019/2472754.

van Wijck, Kim, Thomas J. M. Verlinden, Hans M. H. van Eijk, Jan Dekker, Wim A. Buurman, Cornelis H. C. Dejong, et Kaatje Lenaerts. 2013. « Novel Multi-Sugar Assay for Site-Specific Gastrointestinal Permeability Analysis: A Randomized Controlled Crossover Trial ». *Clinical Nutrition* 32(2):245-51. doi: 10.1016/j.clnu.2012.06.014.

Wobben, Regina, Yvonne Hüsecken, Claudia Lodewick, Kathrin Gibbert, Joachim Fandrey, et Sandra Winning. 2013. « Role of Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  for Interferon Synthesis in Mouse Dendritic Cells ». *Biological Chemistry* 394(4):495-505. doi: 10.1515/hsz-2012-0320.

Xu, Binyue, Lu Chen, Yu Zhan, Karl Nelson S. Marquez, Lvjia Zhuo, Shasha Qi, Jinyu Zhu, Ying He, Xudong Chen, Hao Zhang, Yingying Shen, Gongxing Chen, Jianzhong Gu, Yong Guo, Shuiping Liu, et Tian Xie. 2022. « The Biological Functions and Regulatory Mechanisms of Fatty Acid Binding Protein 5 in Various Diseases ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10.

XU, CHUNMEI, et WEIGUO DONG. 2016. « Role of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in pathogenesis and disease evaluation of ulcerative colitis ». *Experimental and Therapeutic Medicine* 11(4):1330-34. doi: 10.3892/etm.2016.3030.

Xue, Xiang, Sadeesh Ramakrishnan, Erik Anderson, Matthew Taylor, Ellen M. Zimmermann, Jason R. Spence, Sha Huang, Joel K. Greenson, et Yatrik M. Shah. 2013. « Endothelial PAS Domain Protein 1 Activates the Inflammatory Response in the Intestinal Epithelium to Promote Colitis in Mice ». *Gastroenterology* 145(4):831-41. doi: 10.1053/j.gastro.2013.07.010.

Yamamoto, Takayuki, Abbi R. Saniabadi, Satoru Umegae, et Koichi Matsumoto. 2006. « Impact of Selective Leukocytapheresis on Mucosal Inflammation and Ulcerative Colitis: Cytokine Profiles and Endoscopic Findings ». *Inflammatory Bowel Diseases* 12(8):719-26. doi: 10.1097/00054725-200608000-00008.

Yeganeh, Pantea Rahmani, Jade Leahy, Schohraya Spahis, Natalie Patey, Yves Desjardins, Denis Roy, Edgard Delvin, Carole Garofalo, Jean-Philippe Leduc-Gaudet, David

St-Pierre, Jean-François Beaulieu, André Marette, Gilles Gouspillou, et Emile Levy. 2018. « Apple Peel Polyphenols Reduce Mitochondrial Dysfunction in Mice with DSS-Induced Ulcerative Colitis ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 57:56-66. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.03.008.

Yoo, Jun-Hwan, et Mark Donowitz. 2019. « Intestinal Enteroids/Organoids: A Novel Platform for Drug Discovery in Inflammatory Bowel Diseases ». *World Journal of Gastroenterology* 25(30):4125-47. doi: 10.3748/wjg.v25.i30.4125.

Yu, Shuiliang, Liraz Levi, Gemma Casadesus, George Kunos, et Noa Noy. 2014. « Fatty Acid-Binding Protein 5 (FABP5) Regulates Cognitive Function Both by Decreasing Anandamide Levels and by Activating the Nuclear Receptor Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\beta/\delta$  (PPAR $\beta/\delta$ ) in the Brain \*♦ ». *Journal of Biological Chemistry* 289(18):12748-58. doi: 10.1074/jbc.M114.559062.

Zamponi, Nahuel, Emiliano Zamponi, Sergio A. Cannas, Orlando V. Billoni, Pablo R. Helguera, et Dante R. Chialvo. 2018. « Mitochondrial Network Complexity Emerges from Fission/Fusion Dynamics ». *Scientific Reports* 8(1):363. doi: 10.1038/s41598-017-18351-5.

Zeitouni, Nathalie E., Sucheera Chotikatum, Maren von Köckritz-Blickwede, et Hassan Y. Naim. 2016. « The Impact of Hypoxia on Intestinal Epithelial Cell Functions: Consequences for Invasion by Bacterial Pathogens ». *Molecular and Cellular Pediatrics* 3(1):14. doi: 10.1186/s40348-016-0041-y.

Zhang, Hongjie, Xiao-Yi Kuai, Pengli Yu, Lin Lin, et Ruihua Shi. 2012. « Protective Role of Uncoupling Protein-2 against Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 27(3):603-8. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06879.x.

Zhang, Jintao, Man Yi, Longying Zha, Siqiang Chen, Zhijia Li, Cheng Li, Mingxing Gong, Hong Deng, Xinwei Chu, Jiehua Chen, Zheqing Zhang, Limei Mao, et Suxia Sun. 2016. « Sodium Butyrate Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy in Colorectal Cells: Implications for Apoptosis ». *PLOS ONE* 11(1):e0147218. doi: 10.1371/journal.pone.0147218.

Zhang, Zheng, Feng Zhang, Ashley Kuenzi Davis, Mei Xin, Gerd Walz, Weidong Tian, et Yi Zheng. 2022. « CDC42 controlled apical-basal polarity regulates intestinal stem cell to transit amplifying cell fate transition via YAP-EGF-mTOR signaling ». *Cell reports* 38(2):110009. doi: 10.1016/j.celrep.2021.110009.

Zhao, Yajin, Xiang Wang, Milody Noviana, et Man Hou. 2018. « Nitric Oxide in Red Blood Cell Adaptation to Hypoxia ». *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica* 50(7):621-34. doi: 10.1093/abbs/gmy055.

Zheng, Leon, Caleb J. Kelly, Kayla D. Battista, Rachel Schaefer, Jordi M. Lanis, Erica E. Alexeev, Ruth X. Wang, Joseph C. Onyiah, Douglas J. Kominsky, et Sean P. Colgan. 2017. « Microbial-derived Butyrate Promotes Epithelial Barrier Function Through IL-10 Receptor-dependent Repression of Claudin-2 ». *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 199(8):2976-84. doi: 10.4049/jimmunol.1700105.

Zinovkin, Roman A., et Andrey A. Zamyatnin. 2019. « Mitochondria-Targeted Drugs ». *Current Molecular Pharmacology* 12(3):202-14.

Znalesniak, Eva B., Uwe Dürer, et Werner Hoffmann. 2009. « Expression Profiling of Stationary and Migratory Intestinal Epithelial Cells After in vitro Wounding: Restitution is Accompanied by Cell Differentiation ». *Cellular Physiology and Biochemistry* 24(1-2):125-32. doi: 10.1159/000227820.

Zouiten-Mekki, Lilia, Meriem Serghini, Monia Fekih, Lamia Kallel, Samira Matri, Nadia Ben Mustapha, Jalel Boubaker, et Azza Filali. 2013. « Rôle de la cellule épithéliale dans l'homéostasie intestinale et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ». *médecine/sciences* 29(12):1145-50. doi: 10.1051/medsci/20132912019.

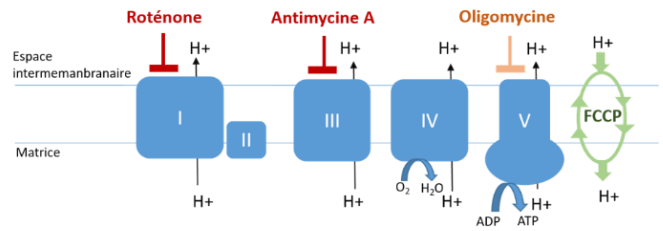
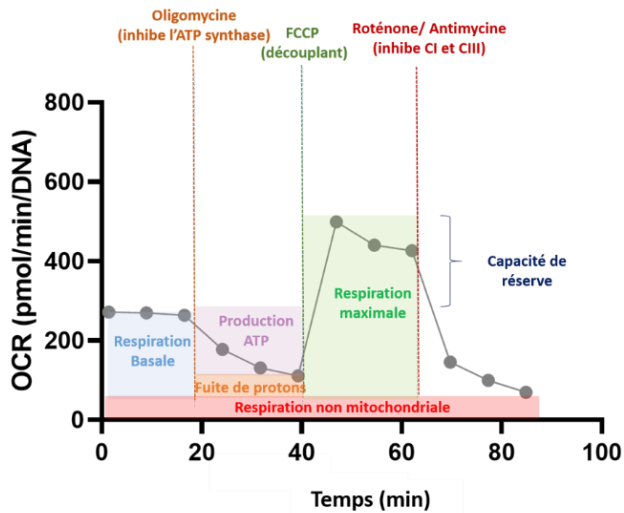
# ANNEXES

---

Les paramètres bioénergétiques déterminé par le seahorse

	<b>Définition</b>	<b>Régulation</b>
<b>Respiration basale</b>	Consommation d'oxygène utilisée pour répondre à la demande énergétique de la cellule par phosphorylation oxydative.	Le taux de base de la respiration peut être fixé par la disponibilité et l'oxydation du substrat, et/ou par la fuite de protons.
<b>Respiration liée à la production d'ATP</b>	La diminution du taux de consommation d'oxygène lors de l'injection d'oligomycine, inhibiteur de l'ATP synthase, représente la portion de la respiration basale utilisée pour produire de l'ATP.	Le taux de consommation d'oxygène pour produire de l'ATP est dépendant de la demande en ATP de la cellule ainsi que de l'apport en substrats et de leur oxydation.
<b>Fuite de protons</b>	La phosphorylation oxydative n'est pas complètement couplée au gradient de protons. Les protons peuvent traverser la membrane interne jusqu'à la matrice mitochondriale sans produire de l'ATP en passant par l'ATP synthase.	La fuite de proton peut réguler plusieurs processus dont la production d'ATP mitochondriale. Elle peut aussi être un signe de dommage mitochondrial et de modification de la composition de la membrane mitochondriale interne.
<b>Respiration maximale</b>	En réponse à l'ajout du FCCP, l'oxydation des substrats et l'activité de la chaîne de respiration augmente afin de maintenir le potentiel de membrane mitochondrial. Le FCCP simule une importante demande énergétique physiologique en stimulant la chaîne respiratoire pour qu'elle fonctionne à sa capacité maximale. Cela entraîne une oxydation rapide des substrats (sucres, lipides et acides aminés) pour répondre à ce défi métabolique.	La respiration maximale dépend de la disponibilité en substrats dans la cellule et de leur oxydation. Cela inclut le transport des substrats à travers les membranes plasmique et mitochondriales ainsi que de l'activité des enzymes impliquées dans les voies métaboliques. Des changements de la respiration maximale peuvent aussi refléter une altération de la biogénèse mitochondriale et/ou de la densité des crêtes et/ou de l'intégrité de la chaîne de respiration mitochondriale.
<b>Capacité respiratoire de réserve</b>	Il s'agit de la différence entre la respiration maximale et la basale et indique la capacité de la cellule à répondre à une forte demande énergétique.	Chacun des facteurs qui détermine les respirations basale et maximale influent sur la capacité respiratoire de réserve.
<b>Respiration non mitochondriale</b>	L'activité mitochondriale étant bloquée par l'ajout des inhibiteurs des complexes I et III, l'OCR mesuré est l'ensemble des enzymes cellulaires qui continuent à consommer de l'oxygène. Cela correspond à des processus d'oxydations indépendamment de la chaîne de respiration mitochondriale.	Une augmentation de la respiration non-mitochondriale peut être le signe d'une consommation importante d'oxygène par des oxydases cytoplasmiques (notamment celles de la machinerie antioxydante dans un contexte de production élevée d'espèces actives de l'oxygène).





### Calcul des paramètres seahorse

#### Respiration non-mitochondriale

#### Mesure après l'injection de rotenone

#### Basal Respiration

Dernière mesure avant 1ère - Respiration non-mitochondriale injection

#### Respiration maximale

Mesure max après injection FCCP - Respiration non-mitochondriale

#### Fuite de protons

Taux mini après injection - Respiration non-mitochondriale oligomycine

#### Respiration liée à la production ATP

Dernière mesure avant 1ère - Mesure mini après oligomycine injection

#### Capacité respiratoire de réserve

Respiration maximale - Basal Respiration

#### Efficacité de couplage

Respiration liée à la production / Respiration basale d'ATP x 100

D'après Agilent



## COMMUNICATIONS AFFICHEES

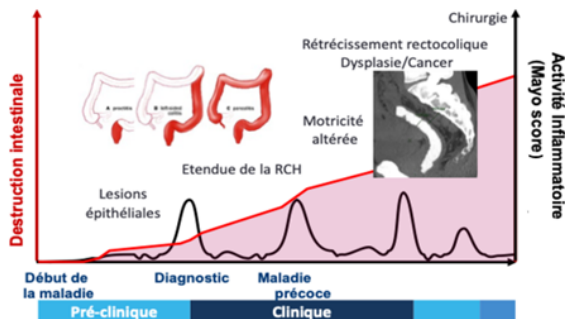
---

# FONCTION MITOCHONDRIALE ET ALIMENTATION DANS LA RÉPARATION ÉPITHÉLIALE AU COURS DE LA RECTOCOLITE HÉMORRAGIQUE

Sarah Rochdi<sup>1</sup>, Guillaume Bouguen<sup>1,2</sup> et Annaïg Lan<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Institut NuMeCan, INSERM, INRAE, Univ Rennes, Rennes, France, <sup>2</sup> CHU Rennes, Univ Rennes, INSERM, CIC1414, Rennes, France, <sup>3</sup> Université Paris-Saclay, AgroParisTech, INRAE, UMR PNCA, Paris, France

## Contexte



### Evolution de la pathologie

Adapté de Torres J. et al. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:1356-63

L'obtention d'une cicatrisation muqueuse au cours de la rectocolite hémorragique (RCH) s'est imposée comme un objectif thérapeutique essentiel pour la prévention des complications de la maladie. Il est fort probable que le métabolisme énergétique, notamment assuré par la fonction mitochondriale, soit augmenté pour soutenir la cicatrisation muqueuse. Or, la fonction mitochondriale a été décrite comme altérée dans la muqueuse des patients RCH. De plus, la réparation épithéliale nécessiterait des besoins nutritionnels accrus pour la restauration de la fonction de barrière et des fonctions physiologiques intestinales, or la modulation de ce processus par l'alimentation a été peu étudiée.

## OBJECTIFS :

- ✓ ÉTUDIER LES CHANGEMENTS MÉTABOLIQUES QUI CONTRIBUENT AU RETOUR À L'HOMÉOSTASIE INTESTINALE EN RÉPONSE AU STRESS INFLAMMATOIRE
- ✓ ÉVALUER SI L'ALIMENTATION PEUT INFLUENCER LA CICATRISATION MUQUEUSE

## Cohorte

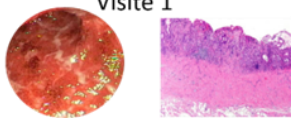
### Etude clinique longitudinale : MITochondrial dysfunction and intestinal cIcatrisation (MITIC)



N=60



Recrutement patient  
RCH en poussée  
Visite 1



3 mois



Cicatrisation ?  
(~40% des patients)  
Visite 2



#### A chaque visite :

- Biopsies coliques
- Questionnaire de fréquence alimentaire

## Explorations

### Biopsies coliques

- Analyse bioénergétique de la fonction mitochondriale
- Analyse phénotypique
- Analyse du microbiote
- Métaillome

Analyse des changements métaboliques des cellules épithéliales intestinales au cours des phases inflammatoire et de rémission

### Questionnaire de fréquence alimentaire

- Apports en macro- et micro-nutriments
- Habitudes de consommation
- Eviction alimentaire

Analyse de la fréquence de consommation en aliments et nutriments sur un mois et corrélation de l'état de cicatrisation de la muqueuse avec les apports nutritionnels des patients

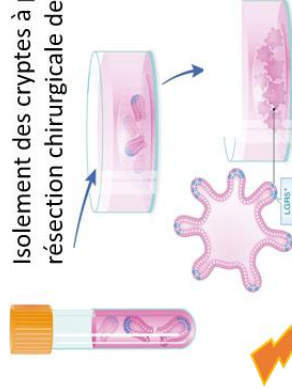
**Cette étude permettra d'obtenir une vue intégrée du rôle de la mitochondrie dans la réparation épithéliale, d'identifier des nutriments potentiellement à l'origine de la résurgence de la maladie, d'améliorer les conseils nutritionnels appliqués par les cliniciens aux patients et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.**

INTRODUCTION

L'obtention d'une cicatrisation muqueuse au cours de la rectocolite hémorragique (RCH) s'est imposée comme un objectif thérapeutique essentiel pour la prévention des complications de la maladie. Comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation épithéliale permettrait d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques, en particulier modulant le métabolisme énergétique. L'objectif de ce travail était de développer un modèle d'organoïdes coliques humains pour étudier la fonction mitochondriale suite à un épisode inflammatoire mimant la RCH.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

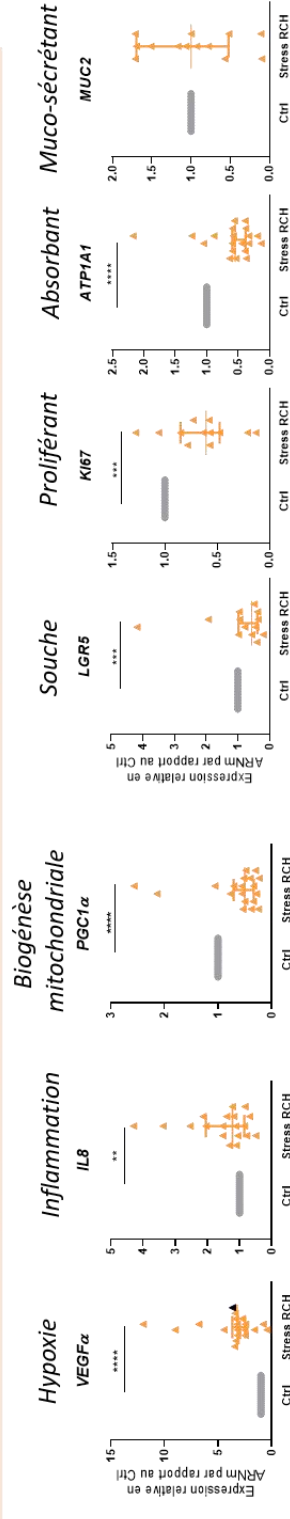
Isolement des cryptes à partir de résection chirurgicale de colon.



Stress « RCH » 24h sur organoïdes différenciés : Hypoxie + cytokines proinflammatoires

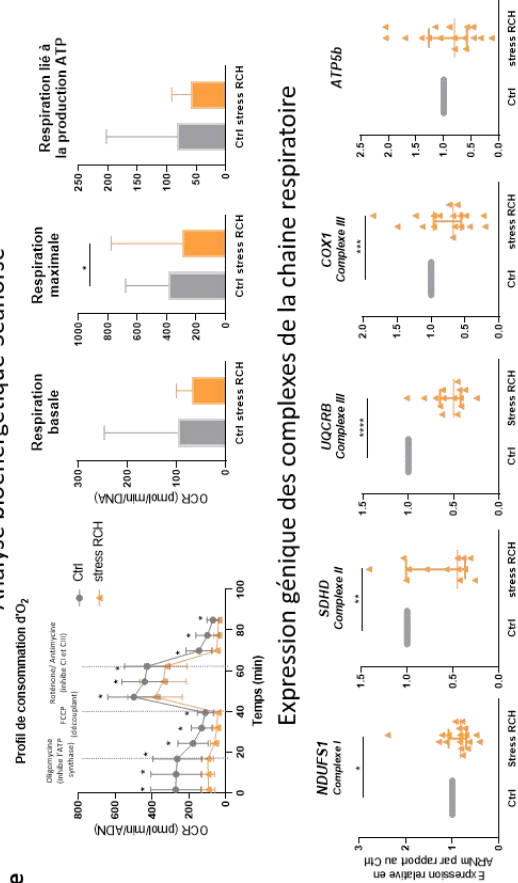
cytokines proinflammatoires

Modélisation du stress « RCH » sur organoïdes coliques différenciés et impact sur les types cellulaires présents dans le modèle



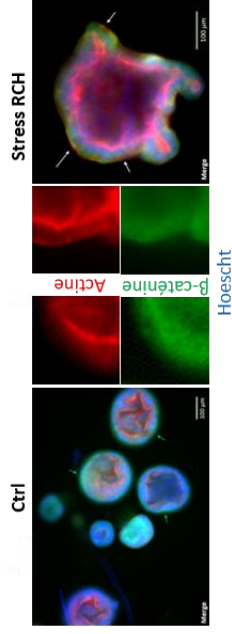
Le stress « RCH » module la fonction mitochondriale.

Analyse bioénergétique-Seahorse®



Expression génétique des complexes de la chaîne respiratoire

Le stress « RCH » induit une inversion de polarité signe d'un remodelage épithélial ?



25,8% d'inversion de polarité des organoïdes après 24h de stress « RCH ».

CONCLUSION. L'utilisation de ce modèle d'organoïdes RCH permettra de mieux comprendre l'implication de l'activité mitochondriale dans la réparation épithéliale et à terme, identifier de nouvelles stratégies thérapeutiques.

**Titre :** Fonction mitochondriale et réparation épithéliale dans un modèle cellulaire de rectocolite hémorragique.

**Mots clés :** Rectocolite hémorragique, réparation épithéliale, fonction mitochondriale, modèle organoïde humain

**Résumé :** L'obtention d'une cicatrisation de la muqueuse au cours de la rectocolite hémorragique (RCH) s'est imposée comme un objectif thérapeutique essentiel pour la prévention des complications de la maladie. Comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la réparation épithéliale permettrait d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. L'objectif de ce travail était de développer un modèle d'organoïdes coliques humains pour étudier la fonction mitochondriale au cours de la réparation épithéliale suite à un épisode inflammatoire. Ce travail a permis de mettre au point un modèle d'organoïdes RCH reproduisant un épisode inflammatoire (stress RCH) suivi d'une réparation épithéliale. Une modification du métabolisme énergétique associée à une dysfonction mitochondriale a été mise en évidence dans les cellules épithéliales des organoïdes coliques humains. Une modulation des voies métaboliques énergétiques (glycolyse, métabolisme des

acides aminés, métabolisme lipidique) a été observée et suggère une adaptation en réponse aux perturbations mitochondriales. La phase de réparation épithéliale a été induite dans le modèle d'organoïdes montrant la capacité de prolifération des cellules souches et progénitrices reconstituer l'épithélium colique. De plus, cette réparation est associée à une restauration de la fonction mitochondriale *via* la phosphorylation oxydative. L'importance de l'apport en substrat énergétique dans la réparation épithéliale a été soulignée dans ce travail. Ces pistes restent à être explorées au travers des études cliniques présentées dans ce manuscrit et d'études mécanistiques plus poussées. L'ensemble de ces travaux indique que la restauration de la fonction mitochondriale est cruciale pour soutenir la réparation épithéliale et permettre de restaurer l'homéostasie intestinale pour favoriser une rémission à long terme du patient.

**Title:** Mitochondrial function and epithelial repair in a cellular model of ulcerative colitis.

**Keywords:** Ulcerative colitis, epithelial repair, mitochondrial function, human organoid model

**Abstract:** Achieving mucosal healing in ulcerative colitis (UC) has emerged as an essential therapeutic goal for the prevention of disease complications. Understanding the cellular and molecular mechanisms involved in epithelial repair would enable the identification of new therapeutic targets. The aim of this work was to develop a human colonic organoid model to study mitochondrial function during epithelial repair following an inflammatory episode. This work led to the development of a UC organoid model reproducing an inflammatory episode (UC stress) followed by epithelial repair. A modification of energy metabolism associated with mitochondrial dysfunction was demonstrated in the epithelial cells of human colonic organoids. Modulation of metabolic energy pathways

was observed, suggesting adaptation in response to mitochondrial perturbations. The epithelial repair phase was induced in the organoid model, demonstrating the proliferative capacity of stem and progenitor cells to reconstitute the colonic epithelium. Moreover, this repair is associated with a restoration of mitochondrial function *via* oxidative phosphorylation. The importance of energy substrate supply in epithelial repair has been highlighted in this work. These avenues remain to be explored through the clinical studies presented in this manuscript and further mechanistic studies. Taken together, this work suggests that restoring mitochondrial function is crucial to supporting epithelial repair and restoring intestinal homeostasis to promote long-term patient remission.

