

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le Lundi 18 octobre 2021
Par M. DECOIN Raphaël**

**Stratégies thérapeutiques basées sur le GLP-1
dans le syndrome métabolique :
du développement d'un agoniste de TGR5 à la
recherche fondamentale**

Membres du jury :

Président : Julie Charton - MCU - Faculté de Pharmacie - Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Directeur, conseiller de thèse : Anne Muhr-Tailleux – PU – Faculté de Pharmacie - Biochimie

Assesseur(s) : Bart Staels – PU-PH – Faculté de Pharmacie - Biologie cellulaire
Rémi Vanuxeem – PharmD – Bayer



Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective :	Régis BORDET
Vice-présidente ressources :	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle

M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique

Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOThIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL

Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie

M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Table des matières

I. GLP-1 ET MALADIE CARDIO-METABOLIQUE.....	17
I.I. LE SYNDROME METABOLIQUE.....	17
I.i.a. Définitions et épidémiologie.....	17
I.i.b. L'obésité.....	18
I.i.c. Le diabète de type 2.....	20
I.i.d. Les dyslipidémies.....	22
I.i.e. L'hypertension.....	22
I.i.f. Les Non Alcoholic Fatty Liver Diseases (NAFLD).....	23
I.i.g. Options thérapeutiques actuelles.....	24
I.II. GLP-1.....	26
I.ii.a. Découverte du GLP-1 et effet incrétine.....	26
I.ii.b. Biosynthèse du GLP-1.....	27
I.ii.c. Dégradation et élimination du GLP-1.....	29
I.ii.d. Localisation tissulaire et effets biologiques du GLP1R.....	30
I.III. APPROCHES PHARMACOLOGIQUES POUR AGIR SUR LE SYSTEME DU GLP-1.....	32
I.iii.a. Les inhibiteurs de la DPP-4.....	32
I.iii.b. Les analogues du GLP-1 à demi-vie longue.....	35
II. TGR5, CIBLE POUR PROMOUVOIR LA SECRETION ENDOGENE DE GLP-1 ?.....	37
II.I. DECOUVERTE ET HISTORIQUE DE TGR5.....	37
II.II. AGONISTES SYSTEMIQUES DE TGR5 ET RISQUE DE TOXICITE.....	38
II.III. AGONISTES TOPIQUES INTESTINAUX DE TGR5 ET SECRETION DE GLP-1.....	39
II.iii.a. Caractéristiques des molécules topiques intestinales.....	41
II.iii.b. Agonistes développés par le SIMM.....	42
II.iii.c. Agoniste développé par Ardelyx.....	46
II.iii.a. Agoniste développé par l'UMR1177 et l'UMR1011.....	48
III. DEVELOPPEMENT DU BDM72881 DANS UN MODELE MURIN DE NAFLD.....	49
III.I. DESIGN DE L'ETUDE.....	49
III.i.a. Choix du modèle animal.....	49
III.i.b. Protocoles expérimentaux.....	51
III.II. MISE EN EVIDENCE DE LA SECRETION DE GLP-1.....	52
III.III. PROTOCOLE 1 : STADE NAFL.....	53
III.iii.a. Effets sur le poids corporel et sur l'insulino-résistance.....	53
III.iii.b. Effets sur la stéatose.....	54
III.IV. PROTOCOLE 2 : STADE NASH.....	57
III.iv.a. Effets sur le poids corporel et sur l'insulino-résistance.....	57
III.iv.a. Effets sur la stéatose.....	58
III.iv.b. Effets sur l'inflammation.....	59
III.iv.c. Effets sur la fibrose.....	60
III.V. CONCLUSIONS DE L'ETUDE PRECLINIQUE.....	61
III.v.a. Validation du régime et des traitements.....	61
III.v.b. Effets des traitements.....	62
III.v.c. Perspectives pour le BDM72881.....	64
IV. VERS LA RECHERCHE FONDAMENTALE : PARADOXE DU MANQUE D'EFFICACITE DU GLP-1 INTESTINAL PAR RAPPORT AUX INCRETINOMIMETIQUES.....	64
IV.I. Y A-T-IL UNE DIFFERENCE D'ACTIVITE ENTRE LES ANALOGUES DU GLP-1 UTILISES EN CLINIQUE ET LE GLP-1 INTESTINAL ENDOGENE ?.....	65

IV.i.a.	Capacité du GLP-1 intestinal à induire une sécrétion d'insuline.....	65
IV.i.b.	Capacité du GLP-1 à passer la BHE.....	67
IV.i.c.	L'activation de TGR5 induit-elle une sécrétion d'autres peptides gastro-intestinaux dont les effets pourraient s'opposer à l'action du GLP-1 ?	69
IV.ii.	LE MODELE MURIN EST-IL UN BON MODELE DE <i>PROOF-OF-CONCEPT</i> DANS LE CONTEXTE DE LA MALADIE METABOLIQUE ?	70
v.	CONCLUSIONS	72
V.i.	LES INCRETINOMIMETIQUES DANS LE SYNDROME METABOLIQUE.....	72
V.ii.	REORIENTATION DE MOLECULES EN ECHEC PRECLINIQUE VERS LA RECHERCHE FONDAMENTALE.	73
vi.	BIBLIOGRAPHIE	76

Remerciements

Merci au Dr.Julie Charton, Pr.Bart Staels, Pr.Anne Tailleux et Dr.Remi Vanuxem d'avoir accepté de constituer mon jury et pour le temps consacré à relire mon travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement le Professeur Anne Tailleux, pour m'avoir accompagné tout au long de mes études. Vos conseils et votre pédagogie ont joué un rôle central dans mon cursus, que ça soit lors de mes stages de M1 et de M2, lors des enseignements à la fac ou encore lors de discussions sur divers projets. Merci !

Au laboratoire U1011, merci à Emmanuel Vallez pour sa gentillesse et sa pédagogie lors de mon stage de M2 ; merci à Margaux Nawrot et Simon Peschard pour la bonne humeur et vos conseils avisés ; merci à Véronique Touche et Laura Butruille pour le temps consacré à mon apprentissage à la paillasse (et aux nombreuses qPCR !).

Merci à Ambroise Mercier et au Pr.Nicolas Willand qui m'ont aidé dans mes choix dès la PACES.

Un grand merci à l'ensemble de l'unité 1011 pour votre accueil et votre gentillesse.

A mes parents, qui m'ont accompagné pendant toutes mes études, depuis le petit-déjeuner en PACES jusqu'à la relecture de mon mémoire de thèse ! Merci infiniment pour votre amour et votre soutien !

A ma sœur, frère, nièces et valeurs ajoutées, j'étais déjà insupportable pendant ces études et ce n'est pas prêt de changer, merci d'être là pour moi

A mes grands-parents, que vous me regardiez d'en haut ou parmi nous, je pense très fort à vous.

Merci à toute ma famille, marraine, tantes et oncles, cousins et cousines, et beaux-parents.

Aux Zycos' Pharma Lille, les concerts, répétitions et bières font partie de mes meilleurs souvenirs à la fac, merci à tous ceux qui y ont participé.

Merci à mes amis et amies de la fac pour ces tarots, bières et musique en cafète.

Aux amis du Racing, et à mes 7 premières années d'abonnement au Racing pendant ces études, merci et allez Lens !

A Nina et Robin, des amis de révision comme de bar, un grand merci.

Enfin, la meilleure pour la fin, un énorme merci Camille (*aka* RAFV600E kinase) pour ce qu'on a vécu pendant ces magnifiques années à la fac, je suis sûr que l'avenir sera encore meilleur ! PS : T'étais avec moi en ED ?

Tables des abréviations (par ordre d'apparition)

DT2 : Diabète de type 2
NAFLD : *Non alcoholic fatty liver diseases*
OMS : Organisation mondiale de la santé
HDL : *High density lipoprotein*
IMC : Indice de masse corporel
NCEP : *National cholesterol education program – NIH program*
IDF : *International diabetes federation*
NEJM : *New England journal of medicine*
CDC *Centers for disease control and prevention*
DALY : *Disability adjusted life-years*
PKC : Protéine kinase C
IMCL : Lipide Intramyocellulaires
AVC : Accident vasculaire cerebral
LDL : *Low density lipoprotein*
MAFLD : *Metabolic associated fatty liver diseases*
NASH : *Non alcoholic steato-hepatitis*
HSC : Cellules stellaires hépatiques
FXR : *Farnesoid X Receptor*
FDA : *Food and Drug Administration*
GLP-1 : Glucagon Like Peptide-1
GIP : Gastric Inhibitory Polypeptide
GIPR : GIP receptor
GLP1R : GLP-1 receptor
PC1/3 : Pro-convertase 1/3
IP-2 : Intervening peptide 2
PCSK2 : Pro-convertase PC2
NTS : *nucleus tractus solitari.*
PAM : Peptide Amidating Mono-oxygenase
DPP-4 : Dipeptidyl peptidase-4
IELs : Lymphocytes intra-épithéliaux
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

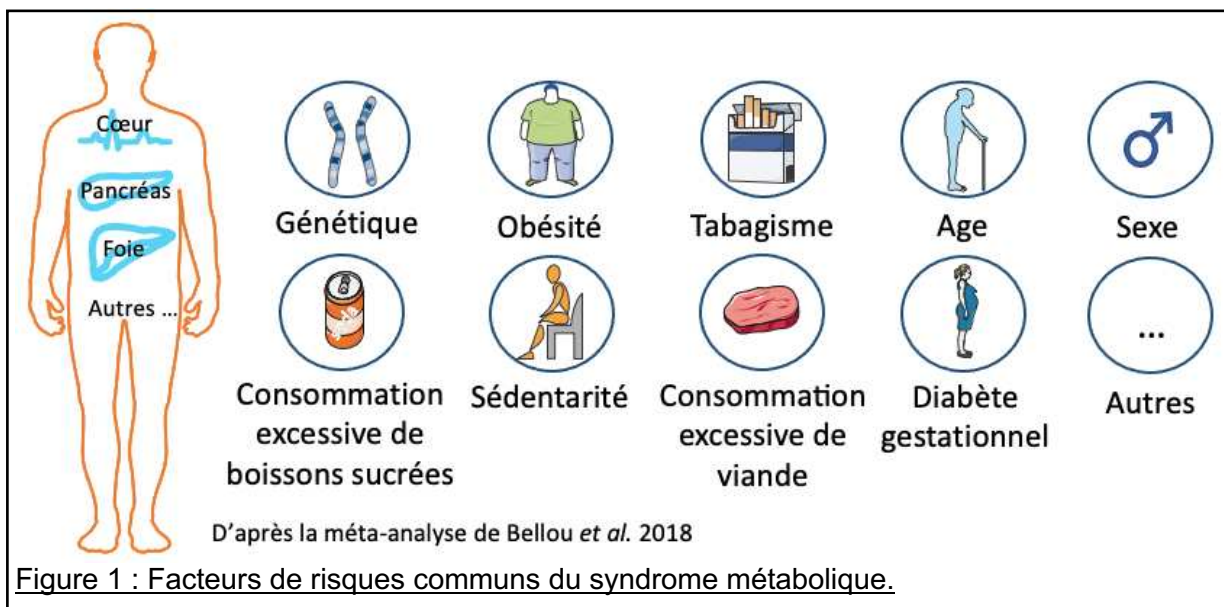
HAS : Haute Autorité de Santé
ASMR : Amélioration du service médical rendu
EC₅₀ : Concentration efficace médiane
ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
SMR : Service médical rendu
TGR5 : Takeda G-Receptor 5
GPCR : Récepteur couplé aux protéines G
LCA : Acide lithocholique
GLP-2 : Glucagon Like Peptide-2
SIMM : *Shanghai Institute of Materia Medica*
PEG : Polyéthylène glycol
DIO : *Diet-induced obesity*
HFD : *High Fat diet*
MCD : *Methionine and choline-deficient diet*
CDAA : *Choline-deficient L-amino-acid-defined diet*
CCl₄ : Tétrachlorure de carbone
CD : *Chow diet*
MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
BHE : Barrière hémato-encéphalique
POMC : Neurones neuroendocrines à la Proopiomelanocortin
AgRP : Agouti-Related Peptide
PYY : Peptide YY
SGLT2 : Cotransporteur sodium-glucose de type 2

I. GLP-1 et maladie cardio-métabolique

I.i. Le syndrome métabolique

I.i.a. Définitions et épidémiologie

La maladie cardio-métabolique, ou syndrome métabolique, est définie comme l'apparition seule ou en association de signes clinico-biologiques comme l'obésité, l'insulino-résistance, la dyslipidémie ou l'athérosclérose¹. Ces dérégulations métaboliques induisent une survenue de diverses complications cardiovasculaires, hépatiques ou autres. Toutes ces anomalies sont liées aux facteurs de risques habituels comme l'âge, le tabagisme, une alimentation déséquilibrée (apport excessif en graisse, sucre, sel) et la génétique². Les facteurs de risques les plus communs pour le diabète de type 2 (DT2) et le syndrome métabolique sont représentés **figure 1**³, bien qu'il en existe de nombreux autres (acide urique, travailleurs décalés ...).



Le plus souvent, ces anomalies débutent par une augmentation du poids corporel. Ensuite, s'installe une insulino-résistance, un marqueur très puissant de la maladie cardio-métabolique, pouvant aboutir au diabète de type 2⁴. Une dyslipidémie et une hypertension-artérielle peuvent survenir, augmentant significativement le risque de complications thrombo-emboliques⁵. Sur le long terme, une insuffisance cardiaque peut s'installer avec un mauvais pronostic à court et moyen terme⁶. Il existe d'autres manifestations fréquentes et spécifiques d'organes dans la maladie cardio-métabolique, notamment du foie avec les *Non Alcoholic Fatty Liver Diseases* (NAFLD)⁷.

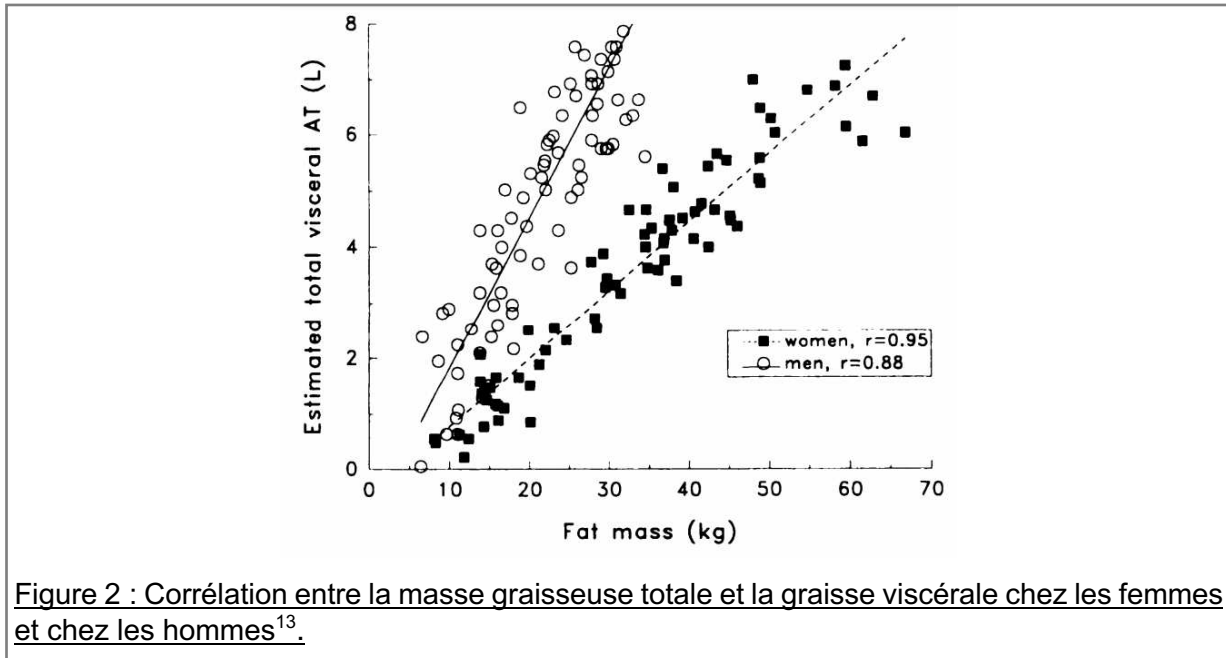
Dans la pratique clinique, il existe plusieurs définitions pour poser le diagnostic de syndrome métabolique⁸ (la relevance et l'implication de ces signes clinico-biologiques seront expliquées dans les parties suivantes) : 1) l'OMS propose la présence d'insulino-résistance avec au moins l'un des signes suivants : HDL-cholestérol bas ; triglycéridémie à jeun élevée ; tour de taille ou IMC élevé ; hypertension artérielle. 2) le NCEP propose la présence d'au moins trois des signes suivants : hyperglycémie ou traitement associé ; HDL-cholestérol bas ou traitement associé ; triglycéridémie à jeun élevé ou traitement associé ; tour de taille élevé ; hypertension artérielle ou traitement associé. 3) l'IDF propose la présence d'un tour de taille élevé avec au moins deux des signes suivants : hyperglycémie ou diagnostic de diabète ; HDL-cholestérol bas ou traitement associé ; triglycéridémie à jeun élevé ou traitement associé ; hypertension artérielle ou traitement associé.

Une étude importante publiée dans le New England Journal of Medicine (NEJM) en 2017, réalisée dans 195 pays et sur 25 ans, rapporte que 107 millions de mineurs (5%) et 600 millions d'adultes (12%) sont obèses et que les chiffres augmentent fortement⁹. D'après l'OMS, 420 millions d'adultes (9%) sont diabétiques de type 2 avec une hétérogénéité importante en fonction du sexe, du pays et de l'âge¹⁰. Le CDC reporte que 1 américain sur 3 a un syndrome métabolique¹¹. Il est difficile d'estimer le nombre de personnes atteintes de syndrome métabolique dans le monde, en prenant en compte que la prévalence serait trois fois plus fréquente que pour le DT2, plus d'un milliard de personnes seraient probablement porteuses d'un syndrome métabolique dans le monde. Toujours d'après l'étude publiée dans le NEJM la surmortalité due à l'obésité est de 28% (dont la mortalité cardiovasculaire). Cela correspond à 120 millions d'années d'espérance de vie corrigées à l'incapacité (*disability adjusted life-years – DALY*) perdues. Ainsi, le syndrome métabolique est un enjeu majeur de santé publique⁹ et représente un facteur de risque puissant pour de nombreuses pathologies réduisant l'espérance de vie. En d'autres termes, le syndrome métabolique est parfois qualifié de tueur silencieux.

I.i.b.L'obésité

Le surpoids et l'obésité se définissent comme une accumulation excessive de graisse viscérale. Cela est quantifié par IMC supérieur à 30g/cm². D'autre part, la répartition

de graisse androïde (obésité abdominale) est quantifiée par le tour de taille, qui augmente le risque d'apparition d'insulino-résistance jusque 6 par rapport à un individu d'IMC identique avec une répartition des graisses différente¹². Un dimorphisme sexuel de l'obésité est observé dans la population générale : les femmes ont tendance à stocker plus de graisse que les hommes, et les hommes accumulent plus de graisse viscérale que les femmes (**Fig.2**)¹³.



Cela peut s'expliquer en partie par l'œstrogène qui favoriserait les dépôts de lipides en sous cutané chez la femme en pré-ménopause *via* le système adrénergique^{14,15}. Plus précisément, les femmes stockent plus facilement les lipides au niveau de la cuisse, dans la région gluteo-femorale, où la Lipoprotéine Lipase (enzyme limitante dans le stockage des lipides circulants) est plus active, en comparaison à la région viscérale chez les hommes¹⁶. Les lipides sont plus disponibles chez la femme, induisant une meilleure insulino-sensibilité après la puberté que chez l'homme¹⁷. L'importance du tissu adipeux et de sa répartition explique, en partie, que les hommes sont plus susceptibles à l'insulino-résistance que les femmes. L'incidence de l'insulino-résistance s'explique également grâce à l'âge (**Fig.3a**) et au développement de la puberté (**Fig.3b**).

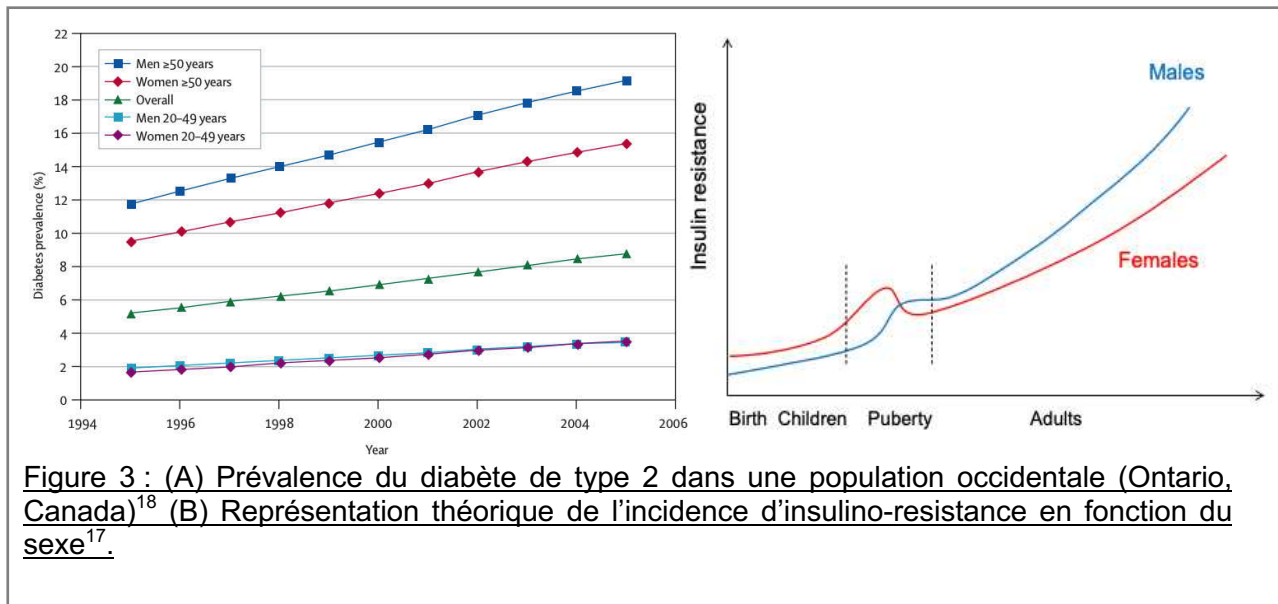


Figure 3 : (A) Prévalence du diabète de type 2 dans une population occidentale (Ontario, Canada)¹⁸ (B) Représentation théorique de l'incidence d'insulino-résistance en fonction du sexe¹⁷.

I.i.c. Le diabète de type 2

Le DT2 est un type de diabète se caractérisant par une hyperglycémie à jeun (>1,27g/L) et défini cliniquement par une polyurie-polydipsie. Cette insulino-résistance est un marqueur très puissant de la maladie cardio-métabolique¹⁹. Le mécanisme de l'insulino-résistance est complexe, organe-dépendant et multifactoriel²⁰. L'insuline est sécrétée par les cellules β des îlots pancréatiques de Langerhans en présence de glucose, et induit ses effets métaboliques et anorexigènes sur ses organes cibles *via* son récepteur transmembranaire possédant une activité tyrosine kinase^{21,22}. En cas d'obésité et de mauvais équilibre alimentaire, l'insuline est sécrétée constamment par le pancréas et sature les récepteurs à l'insuline, induisant une désensibilisation de ces récepteurs par divers mécanismes. Ainsi, la voie de signalisation à l'insuline n'est plus stimulable dans les organes clés du métabolisme comme le foie, le tissu adipeux blanc et le muscle. Cette perte de régulation métabolique est schématisée **figure 4**.

De nombreuses complications sont observées dans le DT2 chronique. Des microangiopathies diabétiques peuvent induire des rétinopathies, des neuropathies et des néphropathies, provoquant respectivement la cécité, des lésions nerveuses et une insuffisance rénale²³.

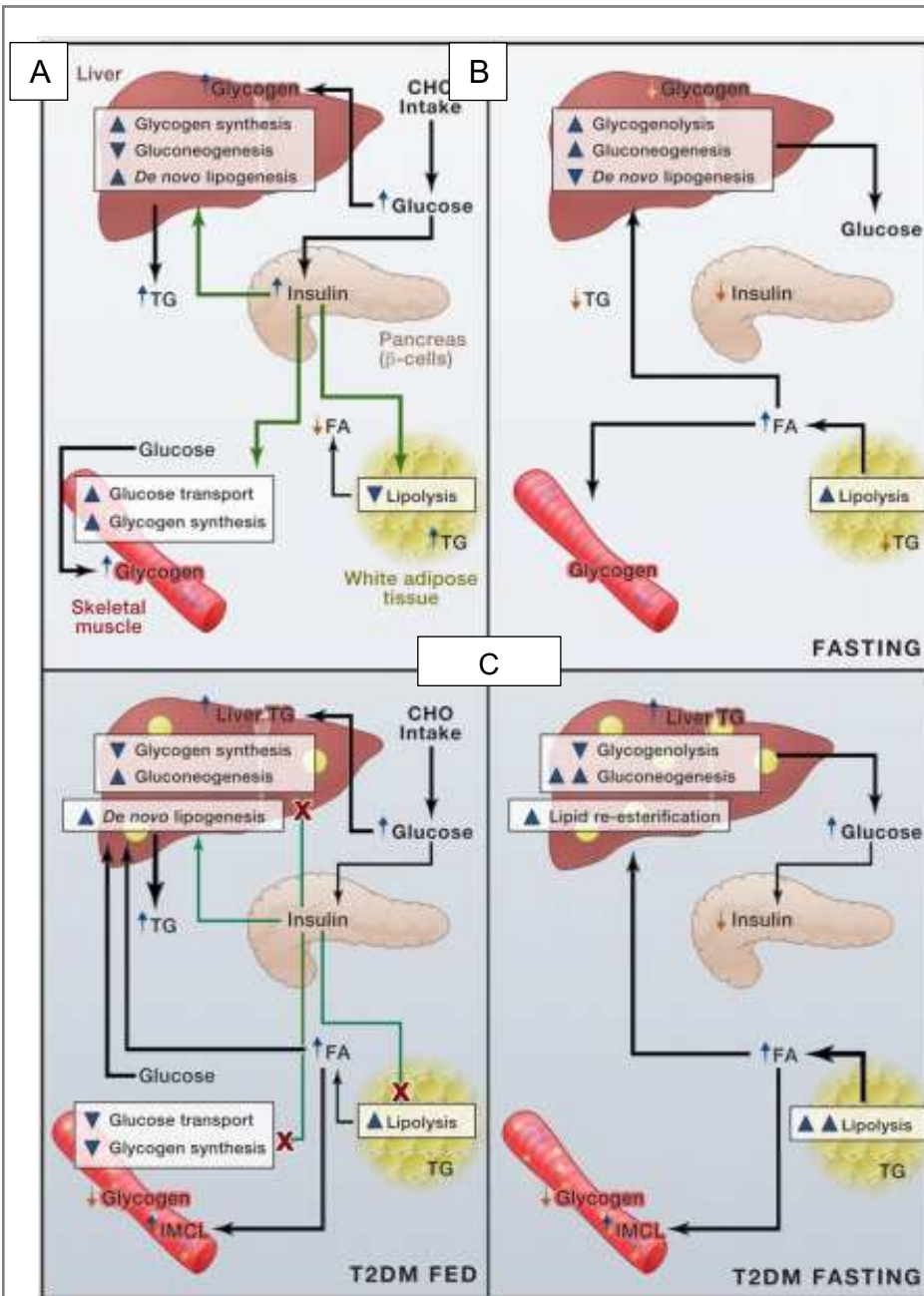


Figure 4 : Effet de l'insulino-résistance sur le métabolisme énergétique.

(A) Après un apport alimentaire, les glucides (CHO) augmentent la glycémie et favorise la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques. Dans le muscle squelettique, l'insuline régule positivement l'entrée du glucose et la synthèse du glycogène. Dans le foie, l'insuline favorise la synthèse du glycogène et la lipogenèse *de novo*, et inhibe la néoglucogenèse.

Dans le tissu adipeux, l'insuline inhibe la lipolyse et favorise la lipogenèse.

(B) A l'état de jeûne, la sécrétion d'insuline est diminuée. La gluconéogenèse hépatique et la glycogénolyse sont donc augmentées. La production hépatique de lipides diminue alors que la lipolyse

adipeuse augmente. (C) Dans le DT2, l'accumulation ectopique de lipides nuit à la signalisation de l'insuline (représentée par le "x" rouge). Avec l'accumulation de lipides intramyocellulaires (IMCL), l'absorption de glucose par le muscle squelettique médiée par l'insuline est altérée. Par conséquent, le glucose est détourné vers le foie. Dans le foie, l'augmentation des lipides hépatiques altère également la capacité de l'insuline à réguler la gluconéogenèse et la synthèse de glycogène. En revanche, la lipogenèse n'est pas affectée et l'augmentation de l'apport de glucose alimentaire entraîne une augmentation de la lipogenèse et l'aggravation de la stéatose hépatique. L'altération de l'action de l'insuline dans le tissu adipeux provoque une augmentation de la lipolyse qui va favoriser la réestérification des lipides dans d'autres tissus (comme le foie) et l'exacerbation de la maladie et de la résistance à l'insuline. Couplé à un déclin des cellules β pancréatiques (représentées par les lignes plus petites émanant du pancréas), l'hyperglycémie se développe. **D'après Samuel & Shulman Cell, 2012**²⁰.

Des macroangiopathies diabétiques s'installent dans des vaisseaux sanguins de diamètre supérieur à 200µm sous la toxicité de l'hyperglycémie potentialisant le risque d'athérosclérose ou aggravant une plaque d'athérome déjà formée^{24,25}, en opposition aux microangiopathies. Au niveau de la circulation coronarienne, cela provoque des ischémies myocardiques pouvant aboutir à des affections de gravités variées (de la dyspnée à l'effort, à l'angor jusqu'à l'infarctus du myocarde)²⁶. Au niveau de la circulation artérielle, cela augmente puissamment le risque d'accidents vasculaires cérébraux (AVC) potentiellement fatals ou très invalidants (hémiplégie, aphasie, apathie, démence ...)²⁷. Au niveau des membres inférieurs, cela provoque une artérite le plus souvent indolore mais pouvant aboutir à un trouble ischémique trophique du pied avec un risque d'amputation élevée²⁸. De plus, une corrélation est bien définie entre DT2 et différents types de cancers (colorectal, pancréatique ...)^{29,30}. Ainsi, la régulation chronique de la glycémie est d'importance majeure dans le DT2.

I.i.d. Les dyslipidémies

Parallèlement, une dérégulation des concentrations en lipides sanguins, appelée dyslipidémie, peut survenir avec une hypertriglycéridémie (>1,5g/L), une augmentation du LDL-cholestérol sanguin (>1,60g/L) et une diminution du HDL-cholestérol sanguin (<0,40g/L). Cette dyslipidémie induit un risque augmenté, jusque 3 fois plus, de maladies coronaires³¹ et d'AVC³².

I.i.e. L'hypertension

L'hypertension est définie comme une pression artérielle supérieure à 140mmHg en systolique et 90mmHg en diastolique. 80% des patients avec un syndrome métabolique sont hypertendus³³.

L'insulino-résistance induit une diminution de synthèse de monoxyde d'azote *via* une augmentation de l'activité du récepteur à l'angiotensine II³⁴. De plus, le tissu adipeux blanc secrète une hormone, la leptine, activant le système sympathique³⁵. Enfin, chez les patients obèses, une augmentation de la réabsorption rénale de sodium et une rétention sodique sont observées³⁶. Ainsi, ces mécanismes provoquent une augmentation de pression artérielle. Chez les hypertendus la mortalité cardiovasculaire et la grande majorité des événements cardiovasculaires sont augmentés³⁷.

I.i.f. Les Non Alcoholic Fatty Liver Diseases (NAFLD)

Il existe d'autres manifestations fréquentes et spécifiques d'organes dans la maladie cardio-métabolique, notamment les NAFLD qui sont des pathologies hépatiques évolutives se caractérisant par une stéatose, associée à une inflammation et une fibrose hépatique (**Fig.5**). Les NAFLD sont des pathologies hépatiques chroniques progressives d'une prévalence élevée (24 % de la population mondiale) et dont l'incidence augmente. Les NAFLD sont associées aux maladies cardio-métaboliques, notamment avec l'obésité et l'insulino-résistance, d'où l'appellation plus récente de *Metabolic Associated Fatty Liver Diseases (MAFLD)*³⁸. Les mutations de gènes clés codant pour des protéines comme PNPLA3 (lipase adipocytaire), TM6SF2 (protéine hépatique de fonction non définie à ce jour), ou encore GCKR (glucokinase hépatique) sont corrélées au développement de NASH³⁹. Les NAFLD débutent par le stade NAFL (*Non Alcoholic Fatty Liver*) caractérisé par une stéatose hépatique, c'est-à-dire un stockage de triglycérides et d'esters de cholestérol dans des gouttelettes lipidiques cytoplasmiques hépatocytaires⁴⁰. Cette stéatose commence par une microstéatose définie par plusieurs gouttelettes lipidiques de petite taille. Cela évolue progressivement vers une macrostéatose où les gouttelettes lipidiques fusionnent pour en former une unique de grande taille⁴⁰. L'origine de cette stéatose est multifactorielle : 1) un régime riche en calories et en graisses induit une obésité avec une augmentation de la masse du tissu adipeux blanc et de l'insulino-résistance du tissu adipeux et du foie, 2) l'insulino-résistance du tissu adipeux blanc provoque une lipolyse anormalement élevée et une libération importante d'acides gras non-estérifiés captés en partie par le foie, 3) l'insulino-résistance hépatique majore l'hyperglycémie, la lipogenèse hépatique, et diminue la β -oxydation des acides gras dans le foie⁴¹. Le stade NAFL évolue progressivement vers le stade NASH (Non Alcoholic Steato-Hepatitis) qui se caractérise par une stéatose et une inflammation hépatique⁴². Lors d'une NASH avancée, un phénomène de *ballooning* se développe, traduisant le gonflement des hépatocytes et une altération du cytosquelette pouvant engendrer une apoptose⁴⁰. La stéatose associée à l'insulino-résistance provoque une dysfonction mitochondriale et un stress oxydatif aboutissant à une nécro-inflammation⁴², caractérisée en histologie par la présence de cellules inflammatoires et d'hépatocytes *balloonisés*. A long terme, la concomitance de la mort hépatocytaire, de l'inflammation

et du stress oxydatif induit l'activation des cellules stellaires hépatiques (HSC) provoquant une synthèse accrue de collagène et la fibrose du tissu hépatique⁴². La NASH est un facteur de risque pour d'autres maladies cardio-métaboliques, et peut ultimement évoluer vers un stade de cirrhose et d'hépto-carcinome³⁸. La réversibilité des stades NALF et NASH, avant l'installation de la fibrose, permet d'envisager des traitements aux stades de stéatose et de stéatose-inflammatoire.

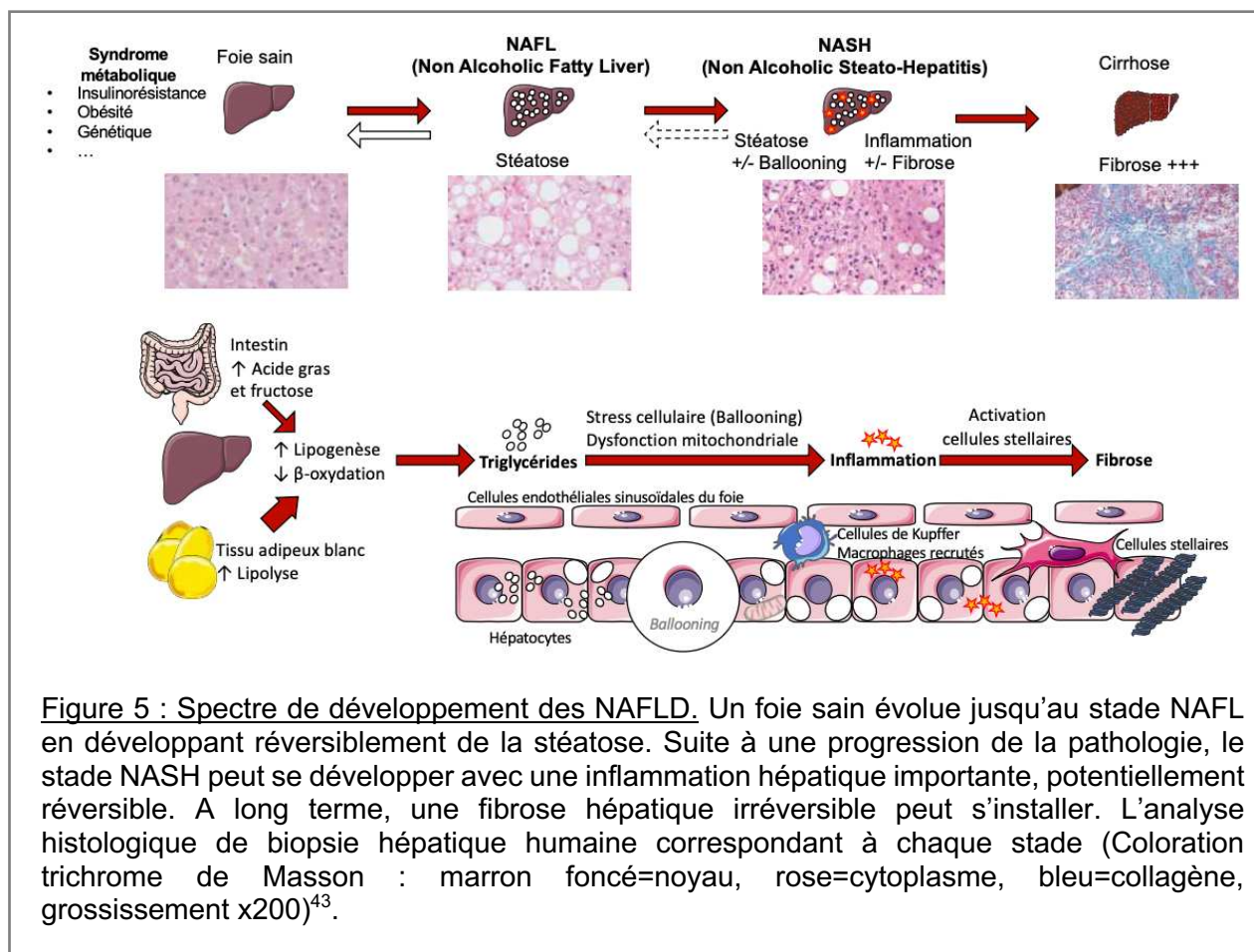


Figure 5 : Spectre de développement des NAFLD. Un foie sain évolue jusqu'au stade NAFL en développant réversiblement de la stéatose. Suite à une progression de la pathologie, le stade NASH peut se développer avec une inflammation hépatique importante, potentiellement réversible. A long terme, une fibrose hépatique irréversible peut s'installer. L'analyse histologique de biopsie hépatique humaine correspondant à chaque stade (Coloration trichrome de Masson : marron foncé=noyau, rose=cytoplasme, bleu=collagène, grossissement x200)⁴³.

I.i.g.Options thérapeutiques actuelles

A ce jour, aucun traitement pharmacologique n'est accepté pour l'obésité en France, bien que de nombreux essais cliniques soient en cours (environ 480 en phases 3 et 700 en phase 2). Ainsi, les règles hygiéno-diététiques sont à proposer en première intention, et sont efficaces quand l'observance du patient est suffisante⁴⁴.

La chirurgie bariatrique peut être envisagée en cas d'obésité sévère morbide, et montre une réduction du poids corporel significatif sur le long terme⁴⁵.

Concernant les dyslipidémies, un arsenal thérapeutique important est disponible en France (ATC C10 Hypolipémiants) : les inhibiteurs de la HMG-CoA reductase ; les agonistes du récepteur Peroxisome Proliferator-Activated Receptor *alpha* (PPAR α) ; les séquestrants d'acides biliaires ; les inhibiteurs d'absorption du cholestérol ; et plus récemment les anticorps mono-clonaux anti-PCSK9. Les antihypertenseurs sont aussi nombreux en France (ATC C02) : les diurétiques (diurétique thiazidique, diurétique de l'Anse, épargneurs du potassium, hydrochlorothiazide et apparentés) ; les bêtabloquants ; les inhibiteurs calciques ; les inhibiteurs de l'enzyme de conversion ; ou encore les antagonistes du récepteur à l'angiotensine.

Les options thérapeutiques dans le DT2 sont également nombreuses : les biguanides ; les sulfamides hypoglycémiantes ; les glinides ; les inhibiteurs des alphaglucosidases ; les inhibiteurs du cotransporteur SGLT2 ; les insulines ; et les thérapeutiques basées sur le GLP-1 comme les incrétinomimétiques (analogues du GLP-1) et les inhibiteurs de DPP-4 .

A ce jour, aucune spécialité pharmaceutique n'a comme indication le traitement des NAFLD. Plusieurs traitements pharmacologiques sont en développement clinique. L'acide obéticholique, un analogue d'acide biliaire agoniste du *Farnesoid X Receptor* (FXR) est développé par la société Intercept. A la suite des premiers résultats de la phase 3 (REGENERATE), la *Food and Drug Administration* (FDA) a demandé le 29 Juin 2020 des analyses supplémentaires sur le long terme, retardant probablement de plusieurs années son arrivée potentielle sur le marché. L'Elafibranor est une molécule de synthèse co-agoniste des récepteurs PPAR α et PPAR δ développée par Genfit. Malgré les résultats positifs sur le développement de la NASH en phase 2b (GOLDEN-505), un communiqué de presse (11 mai 2020) annonce que l'Elafibranor n'a pas atteint le critère d'évaluation principal lors de l'analyse intermédiaire de la phase 3. L'Elafibranor reste en développement pour la cholangite biliaire primitive avec la désignation de médicament orphelin⁴⁶.

Hors traitements médicamenteux, la chirurgie bariatrique a montré une efficacité sur la perte de poids chez les patients obèses et est bénéfique sur l'homéostasie glucidique, et par conséquent potentiellement favorable dans un contexte de NAFLD⁴⁵.

Une méta-analyse montre que la chirurgie bariatrique améliore la stéatose, l'inflammation et la fibrose hépatique⁴⁷. Cette observation clinique est corroborée par une étude lilloise⁴⁸. Les effets bénéfiques sur l'homéostasie glucidique précèdent la perte de poids, et peuvent être attribués en partie à l'augmentation de sécrétion de l'hormone intestinale Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1)⁴⁹, présentant de nombreux effets favorables dans le contexte des maladies cardio-métaboliques⁵⁰.

Comme détaillé précédemment, toutes ces affections représentent des expressions différentes d'un même syndrome métabolique. Ainsi, la stratégie idéale serait d'utiliser une cible thérapeutique unique bénéfique dans toutes ces maladies. Les thérapeutiques basées sur le GLP-1 sont de potentiels candidats médicaments pour cela, car le GLP-1 possède des propriétés bénéfiques pour le DT2, l'obésité, les NAFLD et les maladies cardio-vasculaires.

I.ii. GLP-1

I.ii.a. Découverte du GLP-1 et effet incrétine

La première description de l'axe intestin-pancréas dans la sécrétion d'hormones métaboliques et l'introduction de concept de secretine est réalisée au début du 20^{ème} siècle⁵¹. L'insuline, hormone hypoglycémisante, est découverte en 1921 au Canada par Banting, Best et MacLeod. En voulant purifier de l'insuline depuis des îlots de Langerhans pancréatiques, Kimball et Murlin découvrent en 1923 de manière fortuite une hormone hyperglycémisante nommée Glucagon, pour *glucose agonist*⁵⁰. Dans les années 1980, Joel Habener identifie à partir de la séquence ADN codant pour le glucagon deux nouveaux peptides nommés GLP-1 et GLP-2. Depuis, la communication inter-organe intestin-foie a été étudiée afin de mieux comprendre les mécanismes de sécrétion d'insuline par les îlots de Langerhans, à partir d'un stimulus intestinal, notamment par le GLP-1. Cette augmentation de la sécrétion d'insuline en réponse à un bolus de glucose par voie orale en comparaison à un apport isoglycémique par voie intraveineuse est appelé « effet incrétine » (**Fig.6**)⁵².

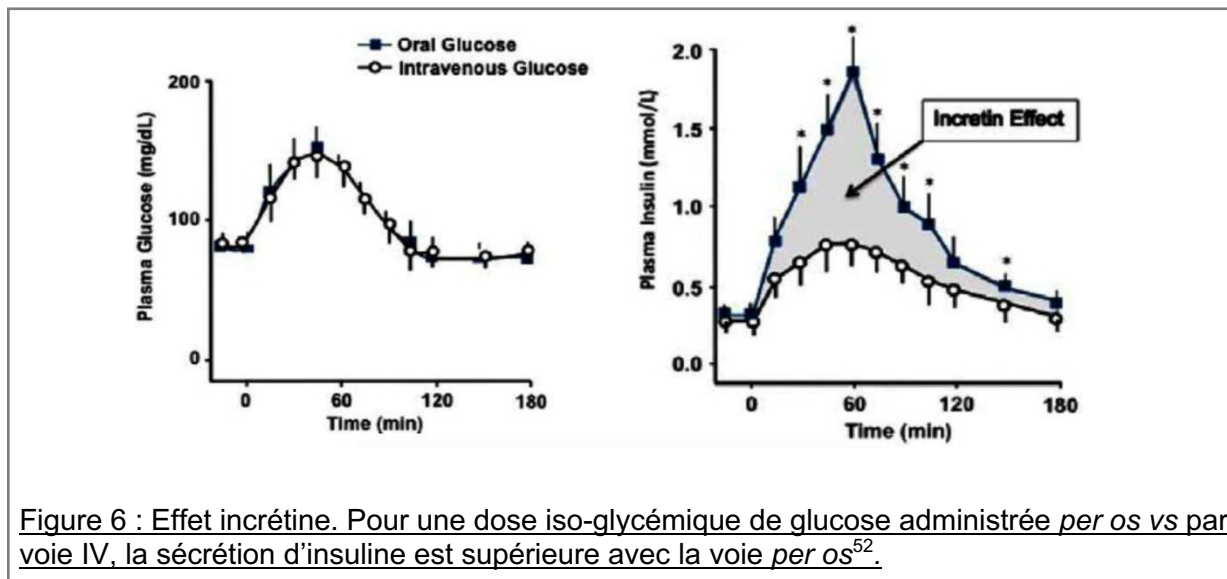


Figure 6 : Effet incrétine. Pour une dose iso-glycémique de glucose administrée *per os* vs par voie IV, la sécrétion d'insuline est supérieure avec la voie *per os*⁵².

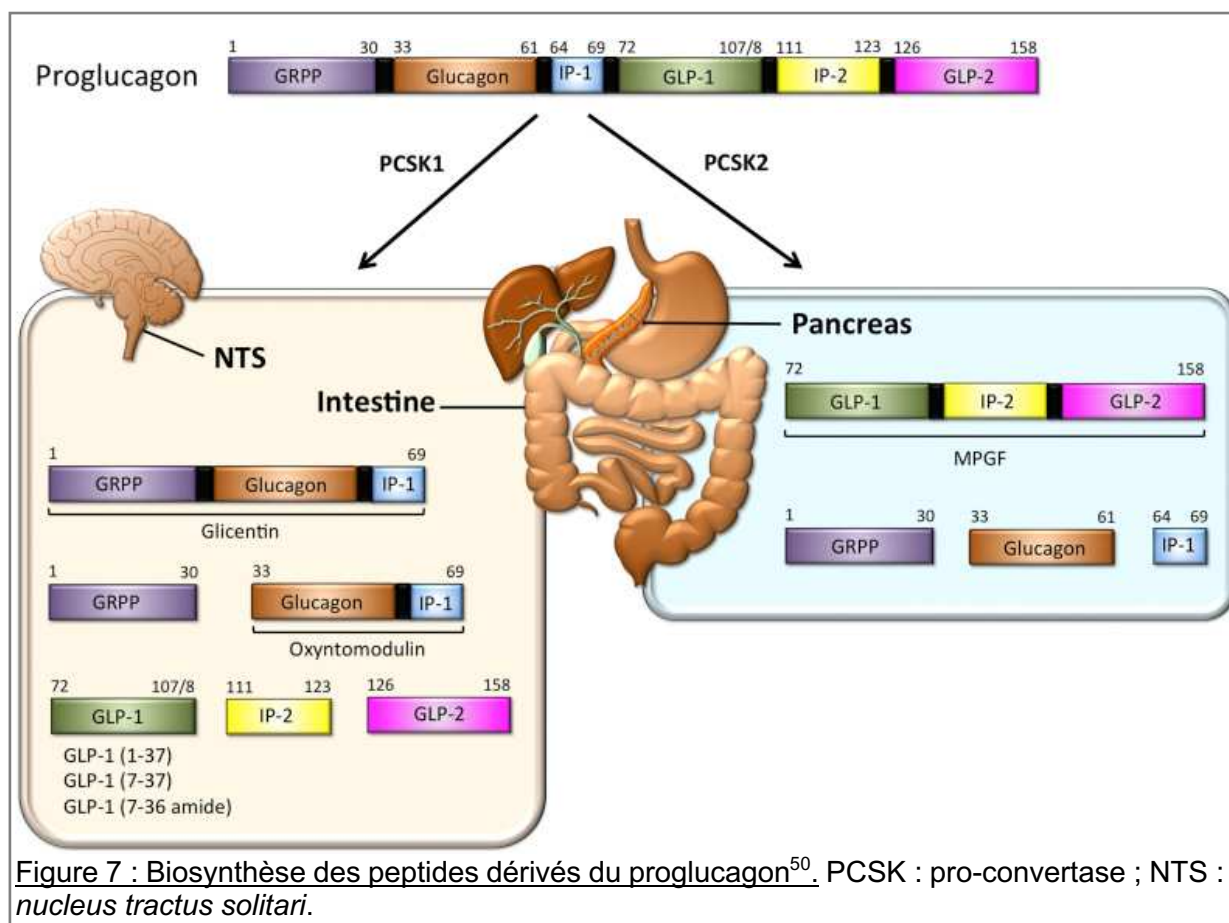
Le consensus scientifique en vigueur attribue cet effet incrétine à l'action de deux entéro-hormones : le Gastric Inhibitory Polypeptide (GIP) et le GLP-1, activant respectivement le GIP receptor (GIPR) et le GLP-1 receptor (GLP1R)⁵³. Chez les patients atteints de DT2, l'effet incrétine est fortement diminué alors que les taux plasmatiques de ces hormones sont similaires ou légèrement augmentés en comparaison à des patients sains, indiquant une « incrétino-résistance »⁵⁴. Néanmoins, un apport supraphysiologique de GLP-1 permet de surpasser cette incrétino-résistance, alors que l'apport supraphysiologique de GIP échoue à induire une inulino-sécrétion chez le patient DT2⁵⁵.

I.ii.b. Biosynthèse du GLP-1

Le GLP-1 est produit par un processus biologique singulier reposant sur l'expression d'une pro-hormone clivée spécifiquement selon l'organe et le type cellulaire afin de produire des peptides différentes⁵⁶. Ce mécanisme se différencie de l'épissage alternatif car, dans ce contexte, il s'agit d'une modification post-traductionnelle et non d'un épissage transcriptomique. La biosynthèse du GLP-1 et des autres peptides dérivés du proglucagon est schématisée **figure 7**. Le GLP-1 est produit à partir de la pro-hormone proglucagon, clivé par la pro-convertase 1/3 (PC1/3), produisant également l'Intervening peptide 2 (IP-2), le GLP-2, et l'oxyntomodulin.

L'expression protéique du GLP-1 est donc dépendante de l'expression de la PC1/3. Cette pro-convertase PC1/3 est mise en opposition à la pro-convertase PC2 aboutissant à l'expression protéique d'autres peptides dont le glucagon. Ces pro-convertases sont exprimées préférentiellement dans divers organes et types cellulaires (**Fig.7**). Néanmoins, elles ne peuvent pas être considérées comme spécifiques d'organes car des *switch* d'expression peuvent être observés, comme par exemple un *switch* de PC2 vers PC1/3 dans les cellules α pancréatiques induit par l'estradiol⁵⁷, apportant une explication supplémentaire à l'insulino-sensibilité améliorée chez les femmes vs hommes.

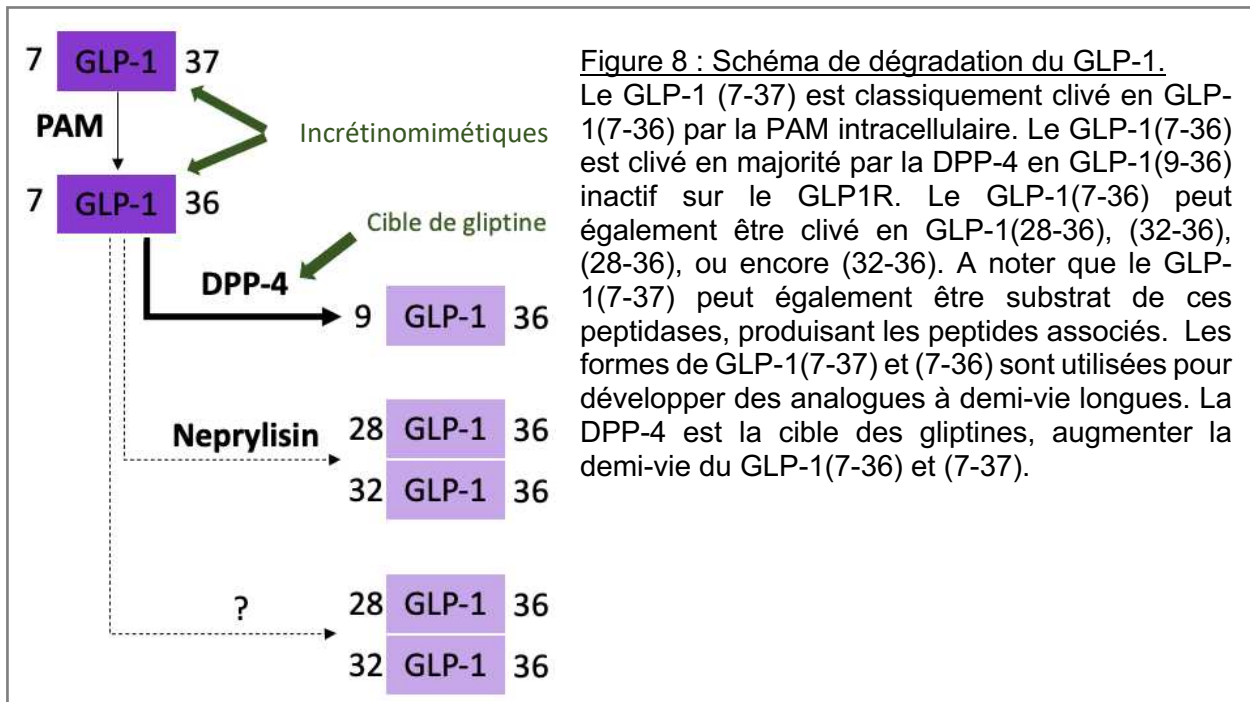
A l'état physiologique, la PC1/3 est exprimée dans les cellules entéro-endocrines L de l'intestin suivant un gradient positif du duodénum vers le colon, par les cellules pancréatiques α , et dans certains types de neurones du système nerveux central⁵⁸.



I.ii.c. Dégradation et élimination du GLP-1

Il existe deux formes dites « actives » du GLP-1 sur le GLP1R : le GLP-1(7-37) et sa forme amide GLP-1(7-36) obtenue après clivage par une Peptide Amidating Mono-oxygenase (PAM) intracellulaire^{59,60}. La forme circulante majoritaire est le GLP-1(7-36). Néanmoins, il n'existe pas de données indiquant une différence d'activité majeure entre ces deux formes. Le GLP-1(7-36) est dégradé en majorité en forme « inactive » non-insulinothropique GLP-1(9-36)⁶¹ par la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)⁵⁰, cible des gliptines (cf partie I.iii.a.). Le GLP-1(7-36) peut également être clivé par la neprilysin en GLP-1(28-36) et GLP-1(32-36)⁶², deux formes agonistes faiblement puissantes du GLP1R. Enfin, il a été rapporté la présence de GLP-1(7-35) et de GLP-1(7-34)⁶³ dans le plasma humain, mais l'enzyme responsable de leur formation n'a pas été identifiée à ce jour. Le schéma de dégradation est schématisé **figure 8**⁶⁴.

Toutes ces formes dégradées du GLP-1 sont éliminées par voie rénale.



La DPP-4 est une exopeptidase impliquée dans l'inactivation ou l'activation de nombreux substrats⁶⁵. La DPP-4 est exprimée sous deux formes : une forme transmembranaire (majoritaire) et une forme circulante plasmatique (minoritaire). Dans l'intestin, la DPP-4 est fortement exprimée par les cellules endothéliales de la bordure en brosse. La DPP-4 est également fortement exprimée dans le foie en périportal. Ainsi, le GLP-1 sécrété par les cellules entéro-endocrines L est dégradé à 85%

avant d'atteindre le foie, puis seulement 10% du GLP-1 sécrété atteint la circulation systémique⁶⁶. Ainsi, la demi-vie du GLP-1 est d'environ 1 à 2 minutes⁶⁷.

I.ii.d. Localisation tissulaire et effets biologiques du GLP1R

Le GLP1R est un récepteur couplé aux protéines G dont l'activation induit une augmentation de la concentration intracellulaire en AMP cyclique, l'activation de la voie PKA, PI3-K, MAPK ou encore la voie Erk1/2⁶⁸ (**Fig.9**). Le GLP1R est exprimé par les cellules β pancréatiques et son activation induit une biosynthèse et une sécrétion d'insuline⁶⁹, l'effet le plus étudié avec le GLP-1.

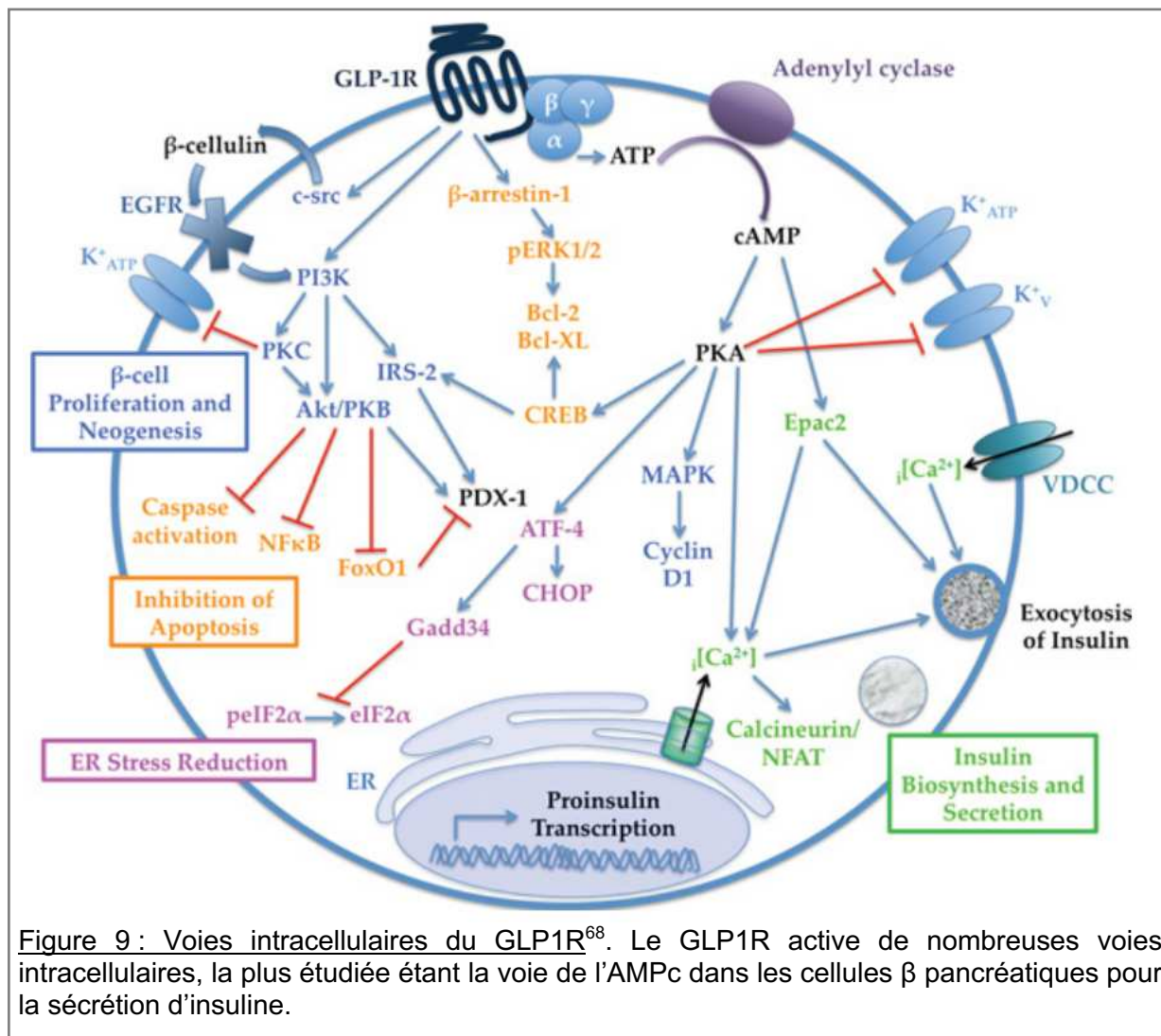
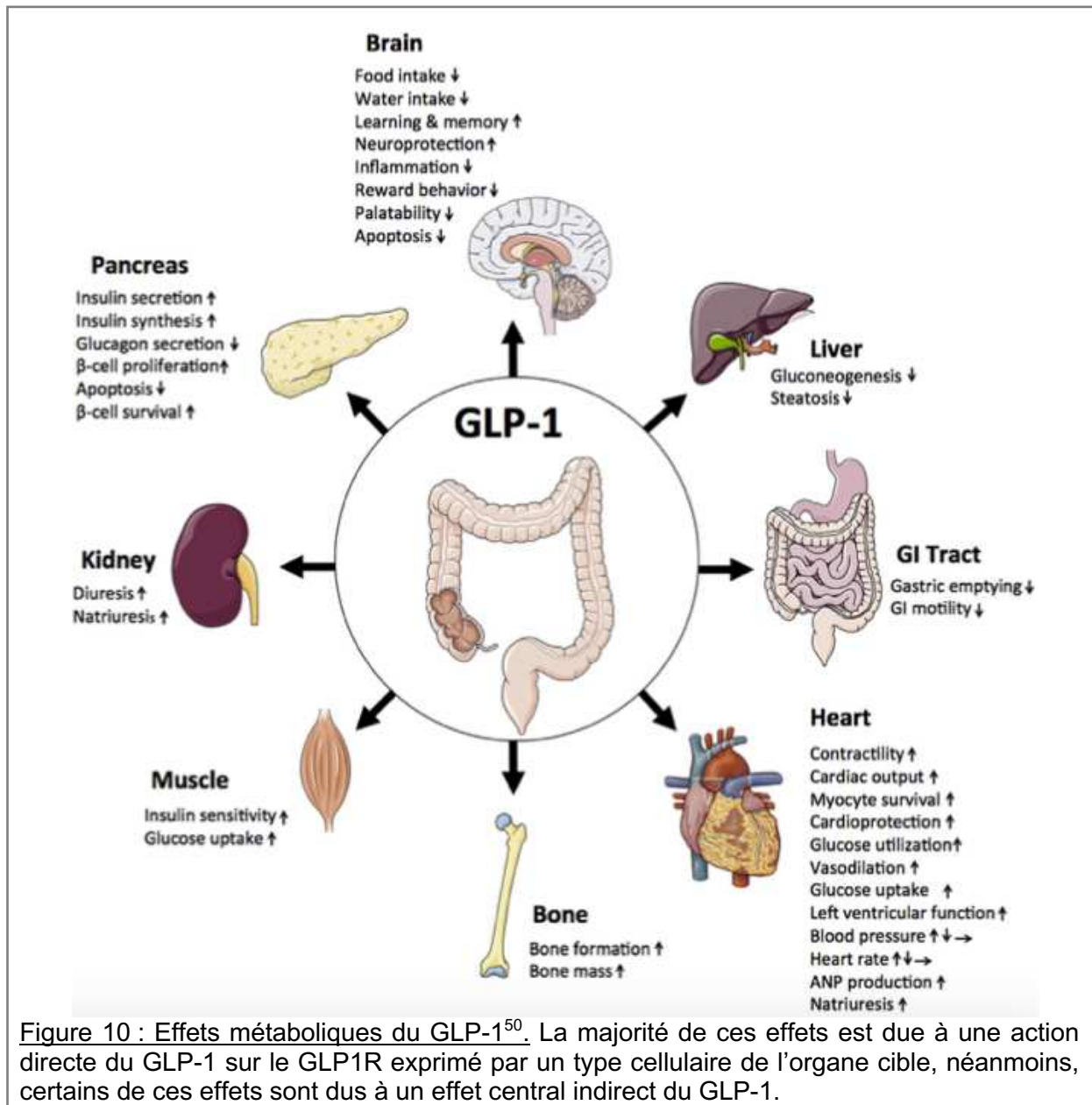


Figure 9 : Voies intracellulaires du GLP1R⁶⁸. Le GLP1R active de nombreuses voies intracellulaires, la plus étudiée étant la voie de l'AMPc dans les cellules β pancréatiques pour la sécrétion d'insuline.

Les effets métaboliques connus à l'heure actuelle du GLP-1 sont schématisés **figure 10**.



De manière notable dans le contexte du syndrome métabolique, le GLP1R est exprimé par les neurones du nerf X vagal afférent induisant un effet neuronal anorexigène et régulant les effets homéostatiques périphériques *via* le système nerveux central⁷⁰. Cet effet anorexigène est très important dans un contexte d'obésité, afin de réduire l'apport alimentaire. De plus, le GLP1R est exprimé par les cellules intestinales induisant une croissance cellulaire et une diminution de la sécrétion de lipoprotéines⁷¹ ; par les cellules immunitaires myéloïdes comme les macrophages circulants ou hépatiques (cellules de Kupffer) ou par les lymphocytes intra-épithéliaux (IELs) induisant une

diminution de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires⁷² ; par les cellules endothéliales artérielles rénales induisant l'augmentation de la natriurèse⁷³ ; par les cellules δ pancréatiques induisant une sécrétion de somatostatine connue pour réduire la sécrétion de l'hormone orexigène hyperglycémiant glucagon⁷⁴ ; par les cardiomyocytes induisant une augmentation de la captation et du métabolisme du glucose⁶⁹ ; par les cardiomyocytes du nœud sino-atrial induisant un effet inotrope positif, une amélioration de la contractibilité du ventricule gauche, et donc une cardioprotection⁷⁵ ; par les hépatocytes induisant un effet anti-stéatosique⁷⁶. Le GLP1R est également exprimé par le tissu adipeux brun, l'estomac, et le muscle squelettique. Ainsi, le GLP1R est une cible intéressante pour le traitement de diverses maladies métaboliques et leurs comorbidités, dont le DT2 et la NASH.

I.iii. Approches pharmacologiques pour agir sur le système du GLP-1

De nombreux médicaments ont été développés afin de profiter de tous les effets bénéfiques décrits ci-dessus sur le métabolisme. Le GLP-1 ne semble pas être soumis à une forme de résistance chez les patients atteints de syndrome métabolique, à l'inverse du GIP ou de l'insuline⁷⁷, permettant d'utiliser le GLP-1 comme cible thérapeutique sans craindre de résistance.

Deux classes thérapeutiques ont plusieurs médicaments ayant obtenus des Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) : les inhibiteurs de la DPP-4 (ATC : A10BH) et les analogues du GLP-1 (ATC : A10BJ). Aucun agoniste synthétique du GLP1R n'a obtenu d'AMM à ce jour, avec plusieurs candidats-médicaments comme le PF-06882961 de Pfizer ou encore le LY3502970 de Chugai Pharmaceutical et Lilly.

I.iii.a. Les inhibiteurs de la DPP-4

Comme le GLP-1 a une demi-vie courte (environ 1 à 2 minutes), le GLP-1 d'origine intestinale peut activer le GLP1R en majorité exprimé au niveau intestinal (nerf vagal, cellules immunes, cryptes ...), et seulement une faible proportion peut atteindre le pancréas. Une inhibition de la protéase permet d'augmenter fortement (jusque 4 fois plus) les concentrations circulantes de GLP-1 en augmentant sa demi-vie jusque 13 minutes, et donc l'exposition du pancréas pour favoriser la sécrétion d'insuline. Des

inhibiteurs mimant les substrats de la DPP-4 ont été développés par Merck avec des dérivés de la thiazoline, mais ces inhibiteurs présentaient une mauvaise sélectivité, inhibant également la DPP-8 dont l'inhibition provoque des thrombocytopénies, des anémies, ou encore des splénomégalies en pré-clinique. D'autres inhibiteurs mimant le substrat de la DPP-4 ont été développés avec des dérivés 2-cyanopyrrolidine associés à une adamantine pour augmenter la demi-vie (Galvus®, AMM de Novartis en 2007 ; Onglyza®, AMM d'Astrazeneca en 2009). Enfin, des inhibiteurs synthétiques ne mimant pas le substrat ont été développés, notamment un dérivé de la piperazine, la sitagliptine (première AMM : Januvia®, AMM de MSD en 2007), ou encore un dérivé de la xanthine : la linagliptine (Trajenta®, AMM de Boehringer Ingelheim en 2011). Leurs structures et avis de la Haute Autorité de Santé (HAS) sont récapitulés table 1. La commission de transparence de la HAS rend un avis sur les médicaments après que l'ANSM ait accordé une AMM. Cet avis, constitué du Service Médical Rendu (SMR, de important à insuffisant) et de l'Amélioration du Service Médical Rendu (ASMR, de I à V), permet de fixer le taux de remboursement puis le prix du médicament. De plus, cet avis permet de déterminer la place dans la stratégie thérapeutique et l'impact sur la santé publique.

Néanmoins, malgré ces différentes structures chimiques, toutes ces spécialités ont obtenu une amélioration de l'ASMR de niveau IV ou V par rapport à l'utilisation de biguanide comme la metformine (AMM initiale en 1959, Glucophage®, Merck) dans le contexte de contrôle glycémique chez des patients DT2. Ainsi, ces molécules sont efficaces pour traiter ces patients, mais aucune n'arrive à surpasser les effets de la metformine indiquant l'importance de la metformine dans la thérapeutique actuelle, mais également le manque d'amélioration de gestion de la glycémie pour ces patients depuis plus de 60 ans. Lors de protocole pré-clinique, l'omarigliptine est utilisée car ses propriétés pharmacocinétiques sont décrites dans un modèle murin (rat)⁷⁸ et chez l'humain⁷⁹. L'omarigliptine n'est pas commercialisée en pratique clinique, excepté au Japon depuis 2015 (Marivez®, Merck).

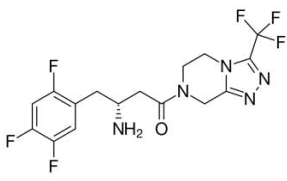
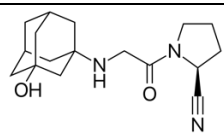
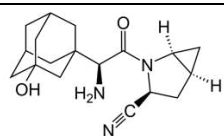
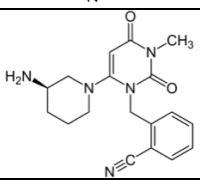
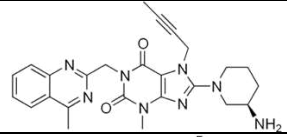
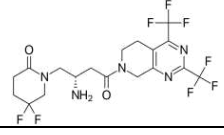
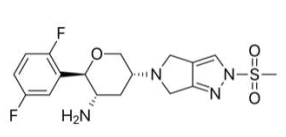
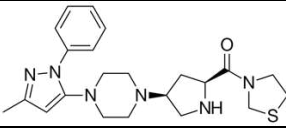
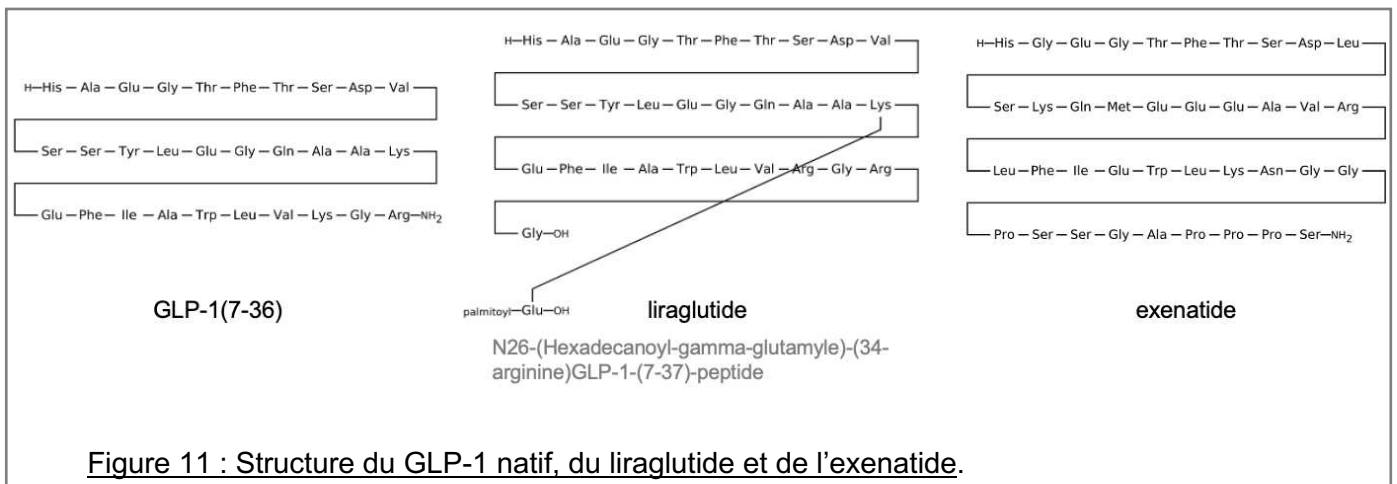
DCI	Structure	Spécialité en France (laboratoire)	SMR	ASMR
sitagliptine		Januvia® (MSD)	<u>Important</u> : bithérapie avec metformine ou trithérapie <u>Insuffisant</u> : + insuline	IV
		Xelevia® (Pierre Fabre)	<u>Important</u> : bithérapie avec metformine ou trithérapie <u>Insuffisant</u> : + insuline ou SU	V
vildagliptine		Galvus® (Novartis)	<u>Important</u> : bithérapie avec metformine ou trithérapie <u>Insuffisant</u> : + insuline	V
saxagliptine		Onglyza® (AstraZeneca)	<u>Important</u> : bithérapie avec metformine ou trithérapie <u>Insuffisant</u> : + insuline	V
alogliptine		Non disponible en France		
linagliptine		Non disponible en France		
gemigliptine		Non disponible en France		
omarigliptine		Non disponible en France		
teneligliptine		Non disponible en France		

Tableau 1 : Structures d'inhibiteurs de la DPP-4.

I.iii.b. Les analogues du GLP-1 à demi-vie longue

La première preuve de concept qu'un analogue de GLP-1 à longue demi-vie permet une amélioration du profil glycémique est obtenue en 1998 chez le cochon par NovoNordisk et l'université de Copenhague⁸⁰. Le GLP-1 humain est combiné avec un acide gras à longue chaîne (palmitate, **Fig.11**) afin de permettre la liaison du GLP-1 à l'albumine est donc empêcher sa dégradation par la DPP-4. Suite à l'optimisation réalisée, le liraglutide a une demi-vie de 13 heures et une concentration efficace médiane (EC₅₀) de 61pM pour le GLP-1R humain (EC₅₀ GLP-1 = 55pM)⁸¹. L'AMM est obtenue en 2009 pour le liraglutide en forme injectable sous-cutanée (Victoza®).



Alors que NovoNordisk a choisi de développer ses médicaments en se basant sur le GLP-1 humain, AstraZeneca a choisi de développer un médicament à partir de l'exendin-3 (issu du Lézard Heloderma, 53% d'homologie avec le GLP-1 humain), ayant une demi-vie de 30 minutes chez l'humain, afin de produire l'exenatide (forme synthétique de l'exendin-3, **Fig.11**), avec un EC₅₀ de 100pM par administration sous-cutanée. L'AMM est obtenue en 2006 (Byetta®). Étant donné que cette forme d'administration présente un inconvénient quotidien pour le patient, en 2018 un autre analogue du GLP-1 humain, le semaglutide, est approuvé par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) par voie orale (Rybelsus®) mais obtient un SMR insuffisant en 2020, même en trithérapie, principalement à cause du manque de robustesse des essais cliniques mais également à cause de la variabilité interindividuelle de l'absorption. La majorité des analogues du GLP-1, tout comme les inhibiteurs de DPP-4, malgré des effets bénéfiques justifiant un SMR important, ont reçu une ASMR de niveau IV ou V.

DCI	T _{1/2}	Spécialité en France (laboratoire)	Voie d'admin.	Nombre d'admin.	Concentration plasmatique	SMR	ASMR
exenatide	0,5-2,5h	Bydureon® (AstraZeneca)	Sous-cutanée	1/semaine (libération prolongée)	151-265pg/mL (steady state)	<u>Important</u> : bithérapie ou trithérapie <u>Insuffisant</u> : + insuline	V
		Byetta® (AstraZeneca)	Sous-cutanée	2/jour (libération immédiate)	211pg/mL (Cmax)	<u>Important</u> : bithérapie ou trithérapie +/- insuline <u>Insuffisant</u> : + insuline	IV
liraglutide	13h	Saxenda® (NovoNordisk)	Sous-cutanée	1/jour	31nmol/L (steady state)	Non remboursable (indication dans le contrôle du poids)	
		Victoza® (NovoNordisk)	Sous-cutanée	1/jour	34nmol/L (steady state)	<u>Important</u> : bithérapie ou trithérapie <u>Insuffisant</u> : + insuline	IV
lixisenatide	3,5h	Lyxumia® (Sanofi)	Sous-cutanée	1/jour	37-187pg/mL (Cmax)	Non disponible en France	
albiglutide	120h	Eperzan® (GSK)	Sous-cutanée	1/semaine	1,74µg/mL	Non disponible en France	
dulaglutide	90h	Trulicity® (Lilly)	Sous-cutanée	1/semaine	114ng/mL (Cmax)	<u>Important</u> : trithérapie +/- insuline <u>Insuffisant</u> : bithérapie + insuline	V
semaglutide	160h	Ozempic®	Sous-cutanée	1/semaine	16-30nmol/L (steady state)	<u>Important</u> : bithérapie ou trithérapie <u>Insuffisant</u> : + insuline	V
	160h	Rybelsus®	Orale	1/jour	30-50 nmol/L (steady state)	Non disponible en France	

Tableau 2 : Liste des incrétinomimétiques commercialisés.

Bithérapie : varie en fonction des avis de la HAS (+metformine ou +sulfamide hypoglycémiant). Trithérapie (Metformine + Sulfamide hypoglycémiant ou bithérapie + insuline basale). Selon la HAS « L'utilisation des analogues du GLP-1 étant envisageable dans des situations particulières, notamment en cas d'IMC≥30 et d'écart à l'objectif d'HbA1c>1 % » par rapport aux comparateurs cliniquement pertinents.

Le semaglutide est actuellement approuvé en voie sous-cutanée une fois par semaine. Plus récemment, le semaglutide a été développé pour une administration orale (Rybelsus®). Pour rendre l'absorption intestinale possible, cette forme de GLP-1 est co-formulée avec du N-(8-(2-hydroxybenzoyl) amino) caprylate de sodium. Comme l'absorption intestinale est faible avec cette formulation, cette forme orale est administrée quotidiennement au lieu d'hebdomadairement pour son équivalent sous-cutané. A doses équivalentes, le semaglutide sous-cutané et le semaglutide oral ont des effets similaires sur l'HbA1c, le poids corporel et les effets indésirables gastro-intestinaux⁸². En 2019, la FDA approuve ce nouveau traitement dans l'indication du

DT2⁸³. Néanmoins, cette spécialité n'est pas disponible en France, certainement à cause de l'avis défavorable rendu par la commission de la transparence fin 2020⁸⁴. Les incrétinomimétiques commercialisés sont répertoriés **tableau 2**.

Ces analogues du GLP-1 à demi-vie longue sont très étudiés pour leurs effets bénéfiques dans de nombreuses pathologies cardio-métaboliques et neurologiques (20/01/21 : 165 essais cliniques en phase 2 ou 3 en majorité pour le DT2 et l'obésité, mais également pour l'AVC, Parkinson, Alzheimer, MICI ...). L'arsenal thérapeutique pour les NAFLD étant inexistant à l'heure actuelle, plusieurs études randomisées en double aveugle se sont intéressées à l'efficacité du liraglutide dans ces pathologies hépatiques métaboliques. Notamment, une étude de phase 2 (55 patients) de Armstrong et collègues⁸⁵ en 2016 ayant montrée une diminution de l'avancement de la NASH. Les mécanismes d'actions sous-jacents ne sont pas connus, et sujets à controverses. De plus, ces analogues du GLP-1 sont grandement utilisés en recherche pré-clinique afin de mieux comprendre les effets du GLP-1 *in vivo*.

Ainsi, le grand intérêt thérapeutique et fondamental porté sur le GLP-1 incite à optimiser les stratégies existantes ou à trouver de nouveaux moyens d'induire l'activation du GLP1R, notamment *via* la promotion de la sécrétion du GLP-1 endogène.

II. TGR5, cible pour promouvoir la sécrétion endogène de GLP-1 ?

II.i. Découverte et historique de TGR5

Le récepteur Takeda G-Receptor 5 (TGR5) est « désorphanisé » en 2002⁸⁶, après la découverte du récepteur nucléaire Farnesoid X Receptor (FXR) en 1999⁸⁷. TGR5 un récepteur couplé aux protéines G (GPCR) activé par les acides biliaires. Son appellation officielle, pour Homo sapiens, est G-Protein Bile acid Activated Receptor (GP-BAR1) d'après le comité HGNC. Le gène codant pour TGR5 porté par le chromosome 2 est constitué de 993 paires de bases codant pour la protéine (330 acides aminés) qui s'ancre dans la membrane plasmique en formant 7 hélices transmembranaires et une hélice C-terminale du côté interne de la membrane

cellulaire, caractéristique des GPCRs. Il existe une homologie de séquence supérieure à 80% entre le rongeur et l'humain⁸⁸. Les ligands naturels de TGR5 sont les acides biliaires. La grande variété d'acides biliaires permet une modulation de son activation grâce aux différents EC50, l'acide lithocholique (LCA) étant le plus puissant (EC₅₀ humain= 0,8 µM, donnée U1011). L'ARNm de TGR5 est détecté dans différents organes comme l'intestin, l'estomac, le foie, les poumons, le placenta, la rate et le tissu adipeux brun, et dans les cellules immuno-inflammatoires de la lignée myéloïde^{89,90}.

En 2006, Watanabe et collègues⁹¹ ont démontré que l'activation de TGR5 au niveau du tissu adipeux brun permet d'augmenter le métabolisme basal en promouvant l'activation intracellulaire de l'hormone thyroïdienne T4 par l'iodothyronine deiodinase de type 2⁹¹. Cette publication avance donc TGR5 comme une cible thérapeutique potentielle pour le traitement de l'obésité, et des pathologies associées. Ainsi, de nombreux laboratoires académiques ou pharmaceutiques ont développé des agonistes de TGR5 comme candidats-médicaments.

II.ii. Agonistes systémiques de TGR5 et risque de toxicité

Afin d'activer TGR5 au niveau du tissu adipeux brun, la molécule doit se distribuer dans l'organisme de manière systémique. Plusieurs agonistes de synthèse ont été développés pour être systémiques (**tableau 3**).

Publication(s)	Laboratoire	Lead
Pellicciari J. Med. Chem 2009 ⁹²	Universita di Perugia (Italie)	INT-777
Budzik Bioorg. Med. Chem. Lett. 2010 ⁹³	GlaxoSmithKline (USA)	
Piotrowski Med. Chem. Lett. 2012 ⁹⁴	Pfizer (USA)	
Martin ChemMedChem 2013 ⁹⁵	F.Hoffmann-La Roche (Suisse)	
Dehmlow Bioorg Med Chem Lett 2013 ⁹⁶		RO5527239
Phillips J. Med. Chem 2014 ⁹⁷	Novartis (USA)	
Briere PloS One 2015 ⁹⁸	Eli Lilly (USA)	
Agarwal ACS Med Chem Lett 2016 ⁹⁹	Zyduscadila (Inde)	
Zhang ACS Med Chem Lett 2017 ¹⁰⁰	Janssen (USA)	

Tableau 3 : Agonistes systémiques de TGR5.

Cela s'explique principalement par un effet indésirable majeur des agonistes de TGR5 qui augmentent le volume de la vésicule biliaire. Il a été montré que l'activation de TGR5 dans la vésicule biliaire provoque son gonflement *via* des échanges ioniques au niveau des cholangiocytes¹⁰¹, et l'empêche de se vider correctement en diminuant la contractilité des cellules musculaires lisses¹⁰². De plus, l'activation de TGR5 sur les cholangiocytes induit une prolifération *via* la voie Erk1/2 et une inhibition de l'apoptose *via* la voie CD95¹⁰³ et donc un risque de cancer. Pour une molécule à visée thérapeutique, ces effets sont considérés comme limitants pour la suite du développement d'un médicament à administration chronique en raison de la cholestase et du risque de cholangiocarcinomes.

II.iii. Agonistes topiques intestinaux de TGR5 et sécrétion de GLP-1

Dans l'axe intestin-pancréas et l'effet incrétine, le GLP-1 est sécrété au niveau intestinal en majorité par les cellules L exprimant le proglucagon, la prohormone dont la maturation conduit à la synthèse de GLP-1 et du GLP-2. Or, TGR5 est exprimé selon un gradient croissant du duodénum jusqu'au colon¹⁰⁴ par les cellules entéro-endocrines L du côté baso-latéral de l'épithélium intestinal¹⁰⁵. A l'aide de modèles précliniques, il est montré que l'activation pharmacologique de TGR5 dans l'intestin chez la souris induit une sécrétion d'hormones dont le GLP-1¹⁰⁶ et le GLP-2¹⁰⁷.

Publication(s)	Laboratoire	Lead
Duan J Med Chem 2015 ¹⁰⁸	SIMM Shanghai (Chine)	15c
Cao Sci Rep 2016 ¹⁰⁹		26a
Ma Acta Pharmacol Sin 2016 ¹¹⁰		OL-3 (avec activité inhibiteur de la DPP-4)
Lasalle J. Med. Chem. 2017 ¹⁰⁶	EGID (U1011) + Drugs and Molecules for Living Systems (U1177) (France)	BDM72881
Chen J Med Chem 2018 ¹¹¹	Ardelyx (USA)	RDX8840
Finn, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2019 ¹⁰⁷		

Tableau 4 : Agonistes topiques intestinaux de TGR5

Ainsi, l'activation pharmacologique de TGR5 dans l'intestin permettrait de favoriser l'effet incrétine et donc de stimuler la sécrétion d'insuline tout en profitant des effets bénéfiques du GLP-1, en évitant les effets sur la vésicule biliaire (**Fig.12**).

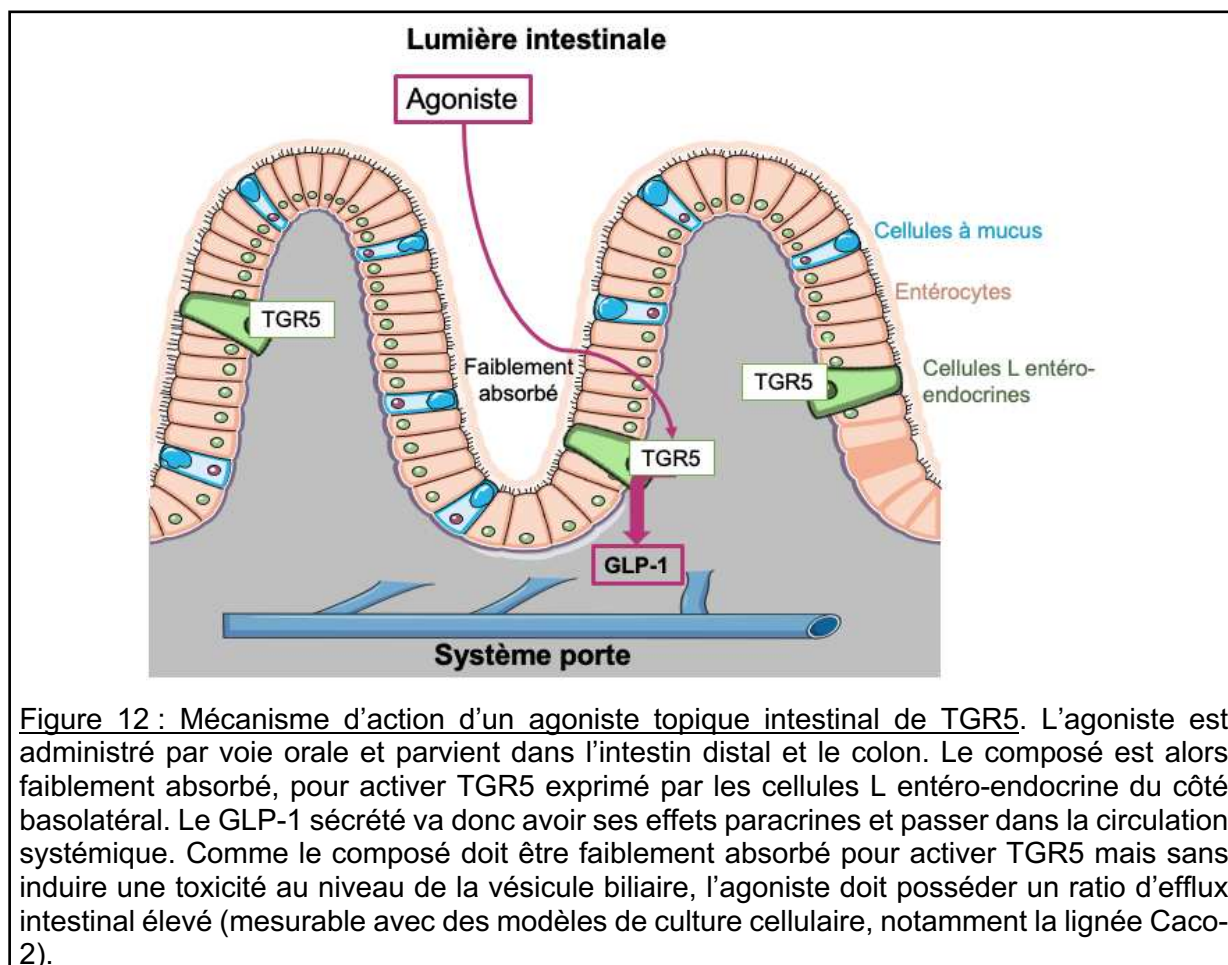


Figure 12 : Mécanisme d'action d'un agoniste topique intestinal de TGR5. L'agoniste est administré par voie orale et parvient dans l'intestin distal et le colon. Le composé est alors faiblement absorbé, pour activer TGR5 exprimé par les cellules L entéro-endocrines du côté basolatéral. Le GLP-1 sécrété va donc avoir ses effets paracrines et passer dans la circulation systémique. Comme le composé doit être faiblement absorbé pour activer TGR5 mais sans induire une toxicité au niveau de la vésicule biliaire, l'agoniste doit posséder un ratio d'efflux intestinal élevé (mesurable avec des modèles de culture cellulaire, notamment la lignée Caco-2).

Plusieurs laboratoires développent des agonistes synthétiques de TGR5 très faiblement absorbés au niveau intestinal ayant démontrés une sécrétion de GLP-1 tout en limitant l'exposition de la vésicule biliaire : le laboratoire de *Drug Research* du *Shanghai Institute of Materia Medica* (SIMM), la BioTech ARDELYX basée aux USA, et l'association du laboratoire UMR1011 et *Drugs and Molecules for Living Systems* (U1177) à Lille (**tableau 4**). De tels agonistes sont appelés « topiques intestinaux ».

Le paragraphe suivant a pour but de détailler les principales stratégies adoptées par ces différents laboratoires. Néanmoins, nous devons considérer que, probablement, de nombreuses équipes de recherche ne rendent pas publiques leurs résultats

négatifs. La majorité des études publiées ont pour but de caractériser les effets de la molécule après une administration unique, néanmoins, rien n'est décrit pour des traitements chroniques. Ainsi, nous considérons que l'absence de données est le reflet d'une absence de résultats probants pour ces agonistes de TGR5.

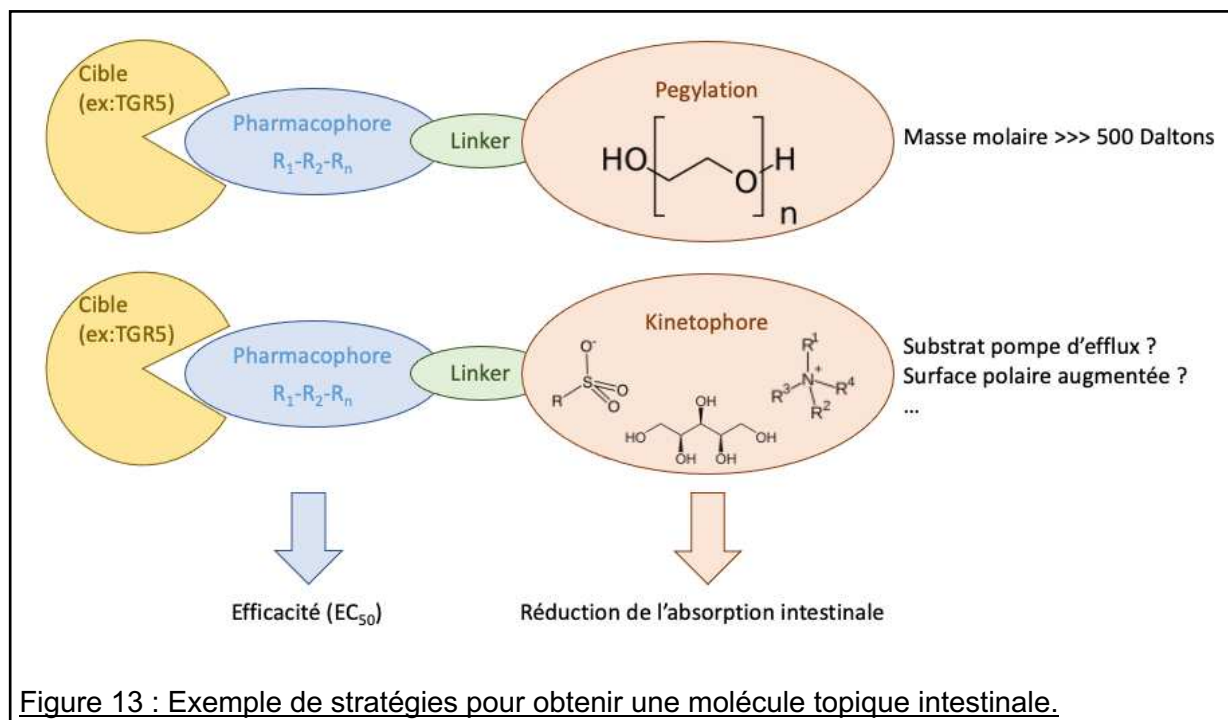
II.iii.a. Caractéristiques des molécules topiques intestinales

Lors de la prise par voie orale d'une molécule, la première étape de pharmacocinétique est l'absorption intestinale. Cette étape regroupe le passage de la barrière intestinale, mais également le rôle de protéines d'efflux telle la glycoprotéine P. Le paramètre indiquant qu'une molécule est absorbée est donc sa présence dans la circulation portale, ou dans la circulation systémique. Ainsi, une molécule franchissant la barrière intestinale afin d'atteindre une cible côté basolatérale (comme TGR5) puis prise en charge par une protéine d'efflux, ou métabolisée par les cellules intestinales, peut être considérée comme topique intestinale.

Les deux paramètres principaux à mesurer pour caractériser une molécule topique intestinale sont donc : 1) la concentration de la molécule dans la circulation systémique ou portale, 2) le pourcentage de la dose administrée retrouvée dans les *feces*, si la molécule est non métabolisée (*fecal recovery*).

Afin d'obtenir une telle molécule, la stratégie consiste à rompre la règle de 5 de Lipinski (liaisons hydrogène donneur ≤ 5 , accepteurs de liaison hydrogène ≤ 10 , masse moléculaire < 500 daltons, coefficient de partage octanol/eau $\text{LogP} < 5$). Il est possible d'adopter différentes stratégies pour rompre cette règle (**Fig.13**). Une manière bien documentée de briser cette règle est de coupler la molécule, en l'occurrence un agoniste de TGR5, à un dérivé de polymère de polyéthylène glycol (PEG). Ces couplages ont été réalisés par l'équipe du SIMM¹⁰⁸ et par l'équipe Lilloise¹¹². L'avantage de l'utilisation de PEG est sa description dans différentes pharmacopées, néanmoins ces composés peuvent présenter des problématiques d'allergies chez l'humain bien qu'ils soient globalement correctement tolérés. Une autre stratégie est de coupler un agoniste de TGR5 (pharmacophore) à une structure connue pour réduire fortement l'absorption intestinale (kinetophore), comme un

ammonium quaternaire¹⁰⁹, une chaîne polyol¹¹¹, ou encore un sulfonate¹⁰⁶ étant la stratégie choisie dans notre laboratoire.



L'optimisation de l' EC_{50} ou de l' IC_{50} se fait par criblage « classique » et une amélioration par relation structure/activité, en utilisant un modèle *in vitro* de transfection transitoire de TGR5 avec révélation à la luciférase, dans le cas de protéines couplées aux protéines G comme TGR5. L'optimisation du kinetophore peut être réalisée en utilisant un modèle *in vitro* de barrière intestinale (Caco-2).

Une fois la molécule optimisée *in vitro*, une preuve de concept est à réaliser *in vivo* avec une mesure de l'activité dose-dépendante, comme la sécrétion de GLP-1 dans le contexte d'agoniste de TGR5. Afin de déterminer si la molécule peut être considérée comme topique intestinale, le *fecal recovery* et la concentration plasmatique sont à mesurer dans une étude de pharmacocinétique.

II.iii.b. Agonistes développés par le SIMM

Cette équipe de recherche a débuté la synthèse d'une série de composés pegylés dans le but d'améliorer la tolérance au glucose dans un contexte de diabète de type 2. La molécule sélectionnée, nommée 15c, est puissante envers TGR5 ($EC_{50} \sim 25nM$) et présente un passage faible apical vers basolatéral sur cellules Caco-2 avec un ratio

d'efflux important indiquant que cette molécule peut être considérée comme topique intestinale. Ces résultats sont résumés **figure 14**¹⁰⁸.

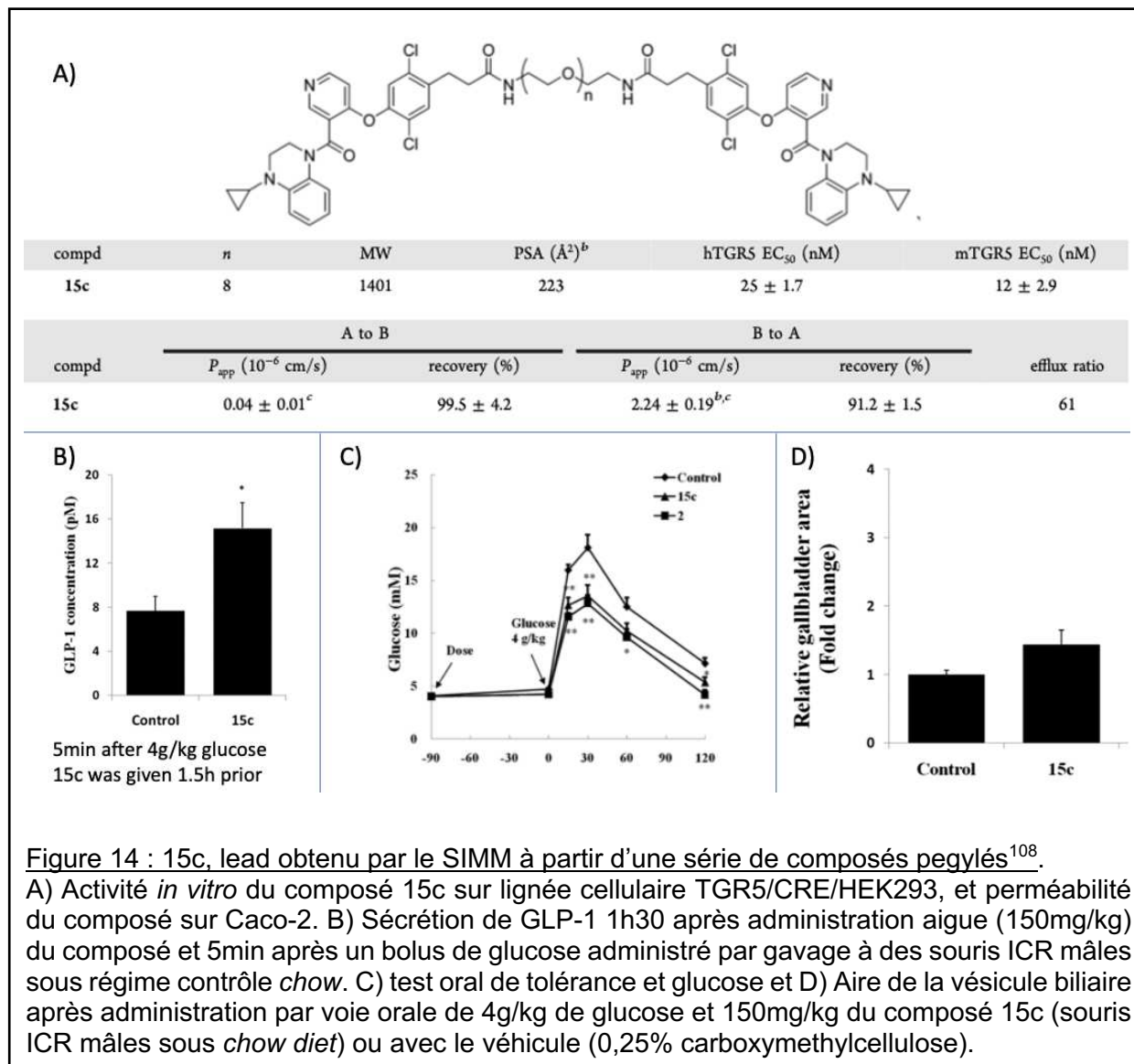
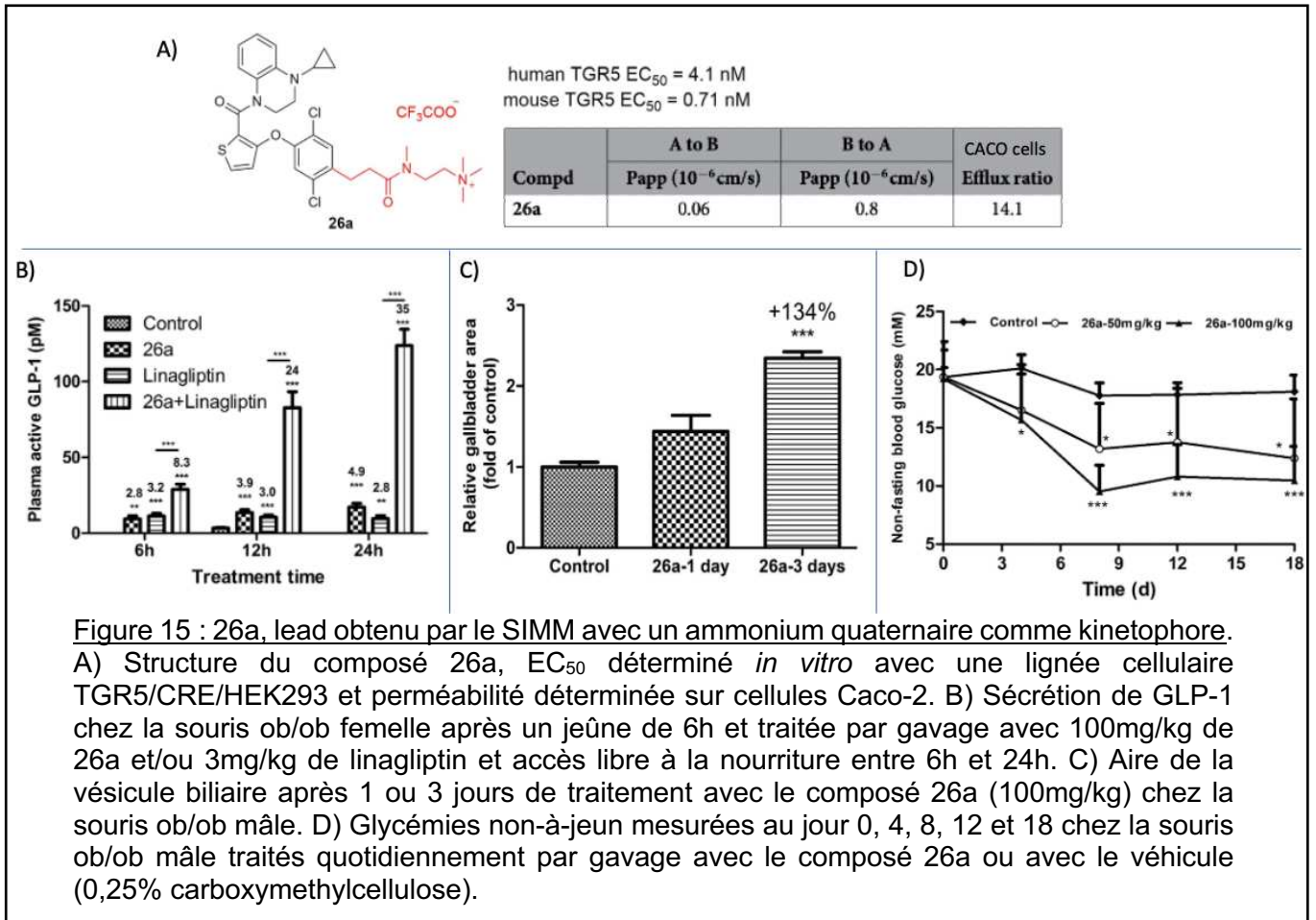


Figure 14 : 15c, lead obtenu par le SIMM à partir d'une série de composés pegylés¹⁰⁸.

A) Activité *in vitro* du composé 15c sur lignée cellulaire TGR5/CRE/HEK293, et perméabilité du composé sur Caco-2. B) Sécrétion de GLP-1 1h30 après administration aiguë (150mg/kg) du composé et 5min après un bolus de glucose administré par gavage à des souris ICR mâles sous régime contrôle *chow*. C) test oral de tolérance et glucose et D) Aire de la vésicule biliaire après administration par voie orale de 4g/kg de glucose et 150mg/kg du composé 15c (souris ICR mâles sous *chow diet*) ou avec le véhicule (0,25% carboxymethylcellulose).

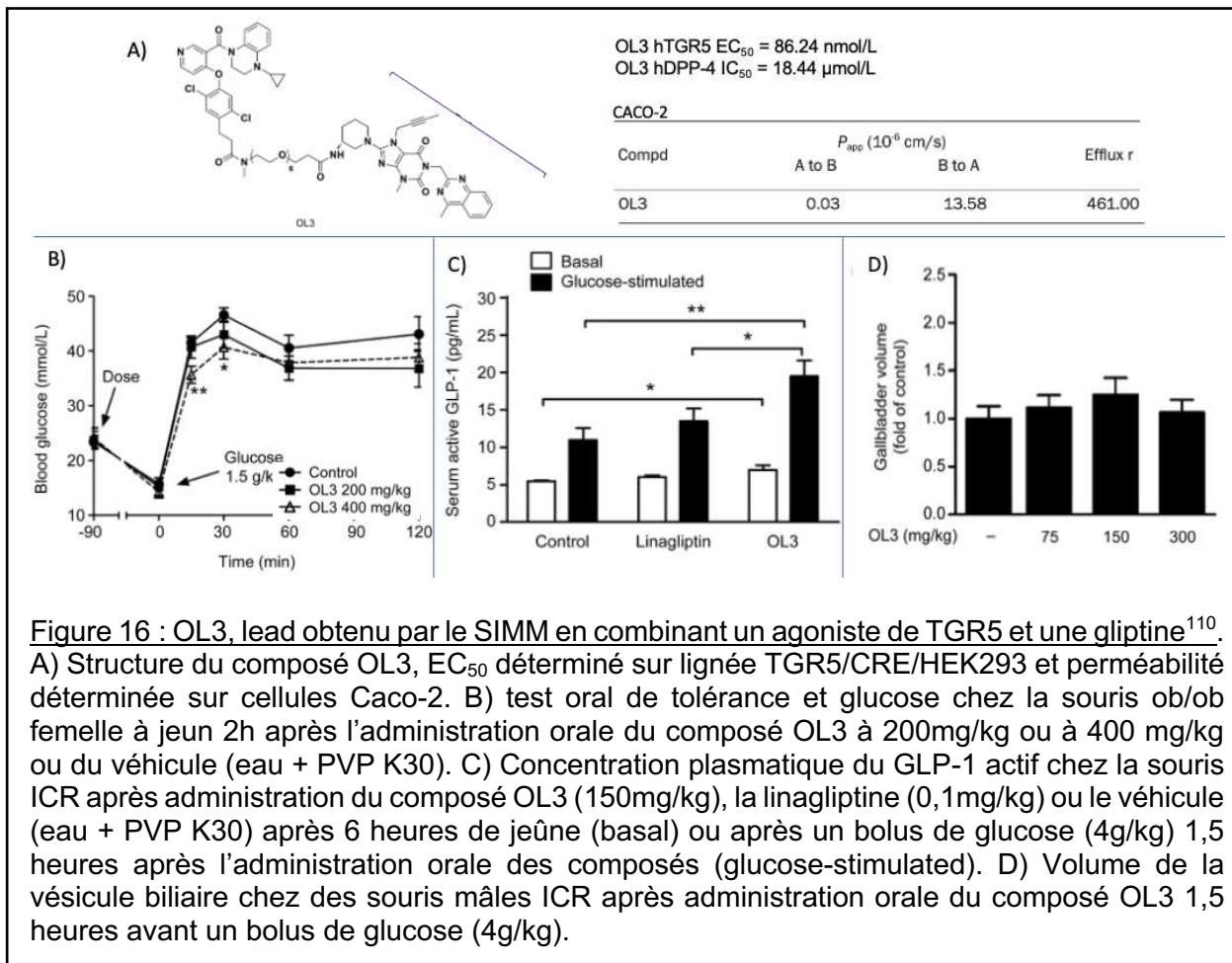
Chez le rat après un bolus de glucose, cette molécule induit une amélioration de la tolérance au glucose et une augmentation de la sécrétion en GLP-1, *versus* véhicule (traitement aigu). De plus, la molécule présente de faibles concentrations plasmatiques et une absence d'augmentation de volume de la vésicule biliaire, *versus* véhicule. Néanmoins, les auteurs ne présentent pas de relation dose-réponse. Cette molécule 15c « n'a montré aucun effet significatif dans un modèle de souris diabétique *ob/ob* » comme le rapportent les auteurs eux-mêmes, sans préciser sur quels paramètres¹⁰⁹.

Ainsi, cette équipe a utilisé le même pharmacophore que pour le 15c en ajoutant un ammonium quaternaire comme kinetophore, également dans le but de développer un lead dans le contexte de DT2. Ce lead, nommé 26a, possède un EC₅₀ amélioré de 4nM et une perméabilité faible sur cellules Caco-2¹⁰⁹. Les principaux résultats obtenus avec ce composé 26a sont résumés **figure 15**.



Chez la souris ob/ob, un traitement aigue par le composé 26a, associé ou non à la linagliptine, augmente significativement les concentration de GLP-1 et améliore la tolérance au glucose. De faibles concentrations de l'agoniste sont mesurées dans le plasma, et une augmentation de volume de la vésicule biliaire est observée après 3 jours de traitement indiquant une faible activité de l'agoniste dans la circulation biliaire. Les effets sur la glycémie à jeun ou non sont conservés après un traitement chronique de 18 jours, sans modification de l'HbA1c ou des concentrations plasmatiques en triglycérides, ASAT ou ALAT.

A la suite de ces résultats, l'équipe du SIMM a décidé de stopper le développement de cet agoniste à cause du stockage de ce dernier dans la vésicule biliaire. Ainsi, les chercheurs ont repris une nouvelle fois le pharmacophore d'intérêt, en le pégylant avec la linagliptine (un inhibiteur de la DPP-4)¹¹⁰. Les principaux résultats obtenus avec ce nouveau composé OL3 sont résumés **figure 16**.



Ce nouveau composé, nommé OL3, possède donc une activité d'agoniste de TGR5 et d'inhibition de la DPP-4 tout en ayant une absorption intestinale faible. L'EC₅₀ de ce composé envers le TGR5 humain est de 86nM, donc moins puissant que leurs précédents agonistes. Le composé possède un IC₅₀ de 18μM envers la DPP-4 humaine (EC₅₀ linagliptine seule = 1nM). Chez les souris ob/ob, le composé induit significativement une faible amélioration de la tolérance au glucose. Les concentrations de GLP-1 sont significativement augmentées, mais dans un ordre de grandeur inférieur à l'utilisation d'un précédent agoniste co-administré avec la linagliptine seule dans le même modèle (**Fig.16**). Ainsi, malgré l'absence

d'augmentation de volume de la vésicule biliaire, l'efficacité de cette molécule semble limitée dans le contexte du DT2.

II.iii.c. Agoniste développé par Ardelyx

Les équipes de recherche d'Ardelyx ont développé un agoniste de TGR5 pour limiter l'absorption intestinale. Cet agoniste, nommé RDX-12, a un EC₅₀ de 143nM envers le récepteur TGR5 humain. Le composé est très faiblement retrouvé dans le plasma de souris 8 heures après une administration aigue. Une augmentation de la concentration de GLP-1 est observée jusque 16h après une administration du composé chez des souris obèses (DIO) à jeun (**Fig.17**). Des tests de relaxation de la vésicule biliaire à l'*egg yolk* ne montrent pas de différence de relaxation *versus* placebo¹¹¹.

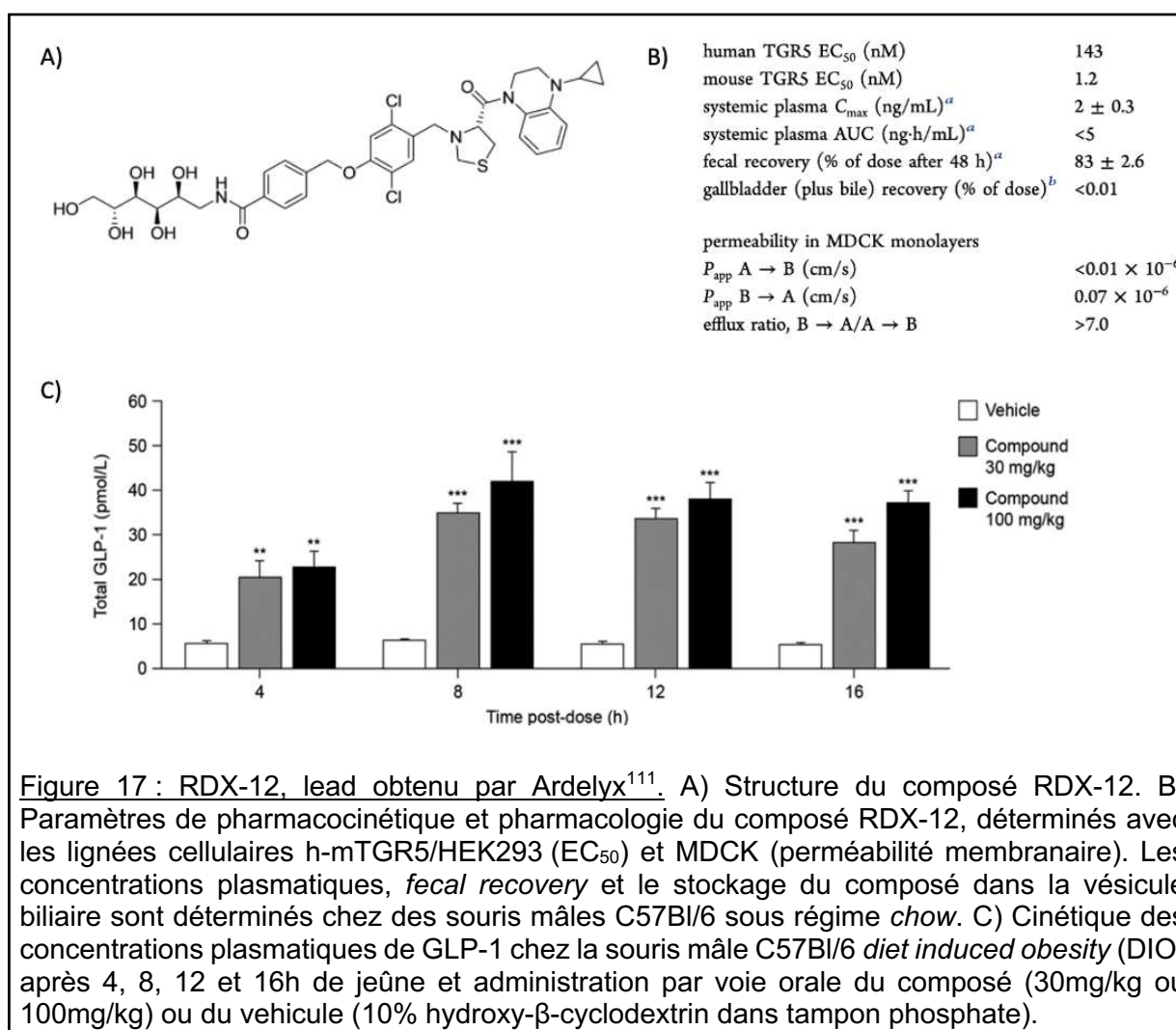


Figure 17 : RDX-12, lead obtenu par Ardelyx¹¹¹. A) Structure du composé RDX-12. B) Paramètres de pharmacocinétique et pharmacologie du composé RDX-12, déterminés avec les lignées cellulaires h-mTGR5/HEK293 (EC₅₀) et MDCK (perméabilité membranaire). Les concentrations plasmatiques, *fecal recovery* et le stockage du composé dans la vésicule biliaire sont déterminés chez des souris mâles C57Bl/6 sous régime *chow*. C) Cinétique des concentrations plasmatiques de GLP-1 chez la souris mâle C57Bl/6 *diet induced obesity* (DIO) après 4, 8, 12 et 16h de jeûne et administration par voie orale du composé (30mg/kg ou 100mg/kg) ou du véhicule (10% hydroxy-β-cyclodextrin dans tampon phosphate).

A la suite de cette publication, Ardelyx publie un nouveau papier avec un autre agoniste de TGR5 topique intestinal, mais la structure exacte de cet agoniste n'est pas communiquée. Ce composé, à la différence de ceux décrits précédemment, a pour but d'améliorer la fibrose et la stéatose hépatique dans un contexte de NASH¹⁰⁷. Le RDX8940 est puissant pour le récepteur TGR5 humain ($EC_{50} = 2,5nM$), et a une absorption faible sur cellules Caco-2. Les chercheurs d'Ardelyx ont utilisé un modèle murin de « *western diet* » connu pour induire une stéatose et une insulino-résistance chez la souris. Ce composé induit une augmentation des concentrations en GLP-1 après un traitement bi-journalier de 4 jours (**Fig.18**). Néanmoins, en comparaison à l'injection d'un analogue du GLP-1 (liraglutide), le composé a de faibles effets sur la stéatose hépatique, sur le poids corporel et sur l'insulinémie.

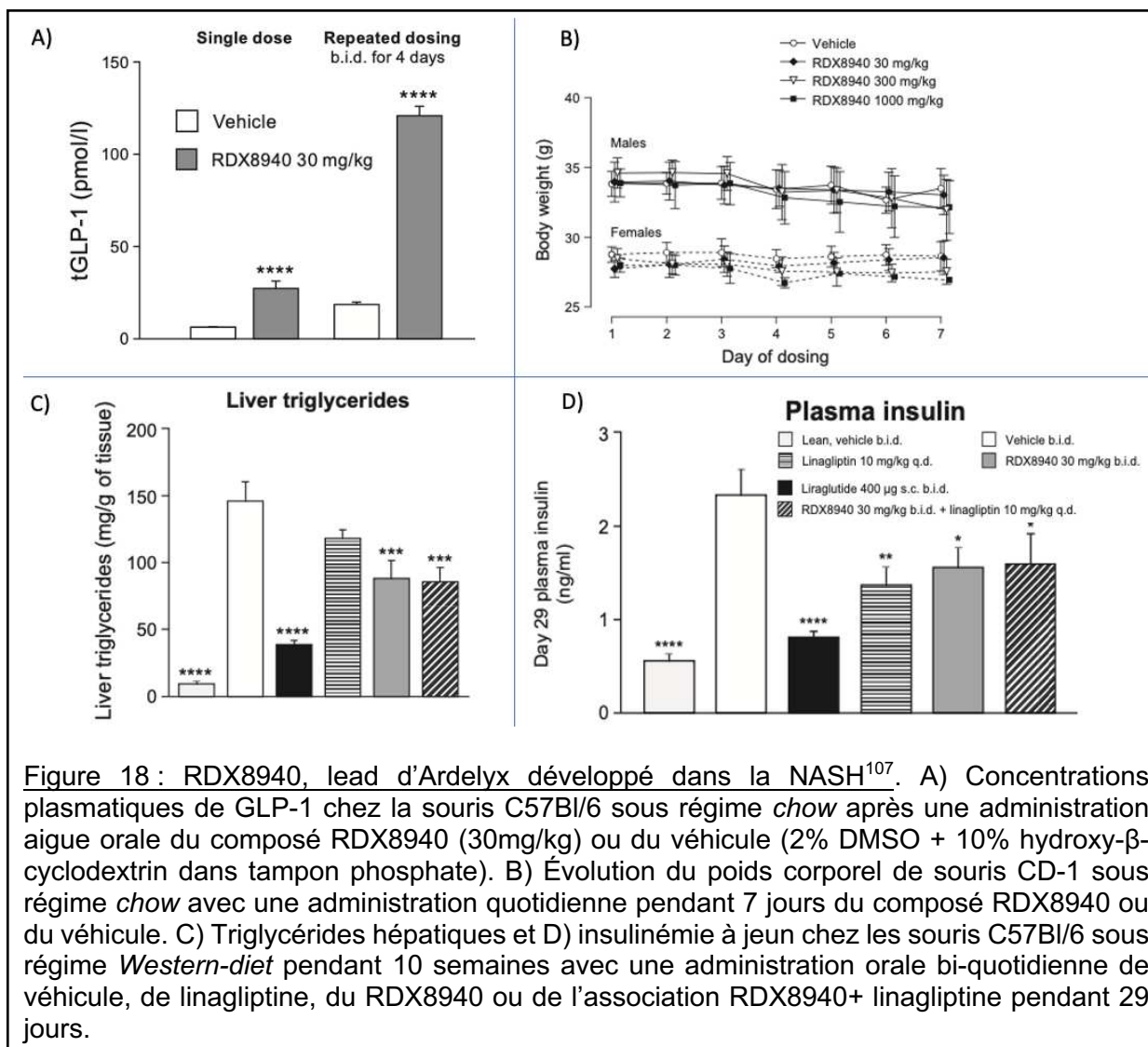
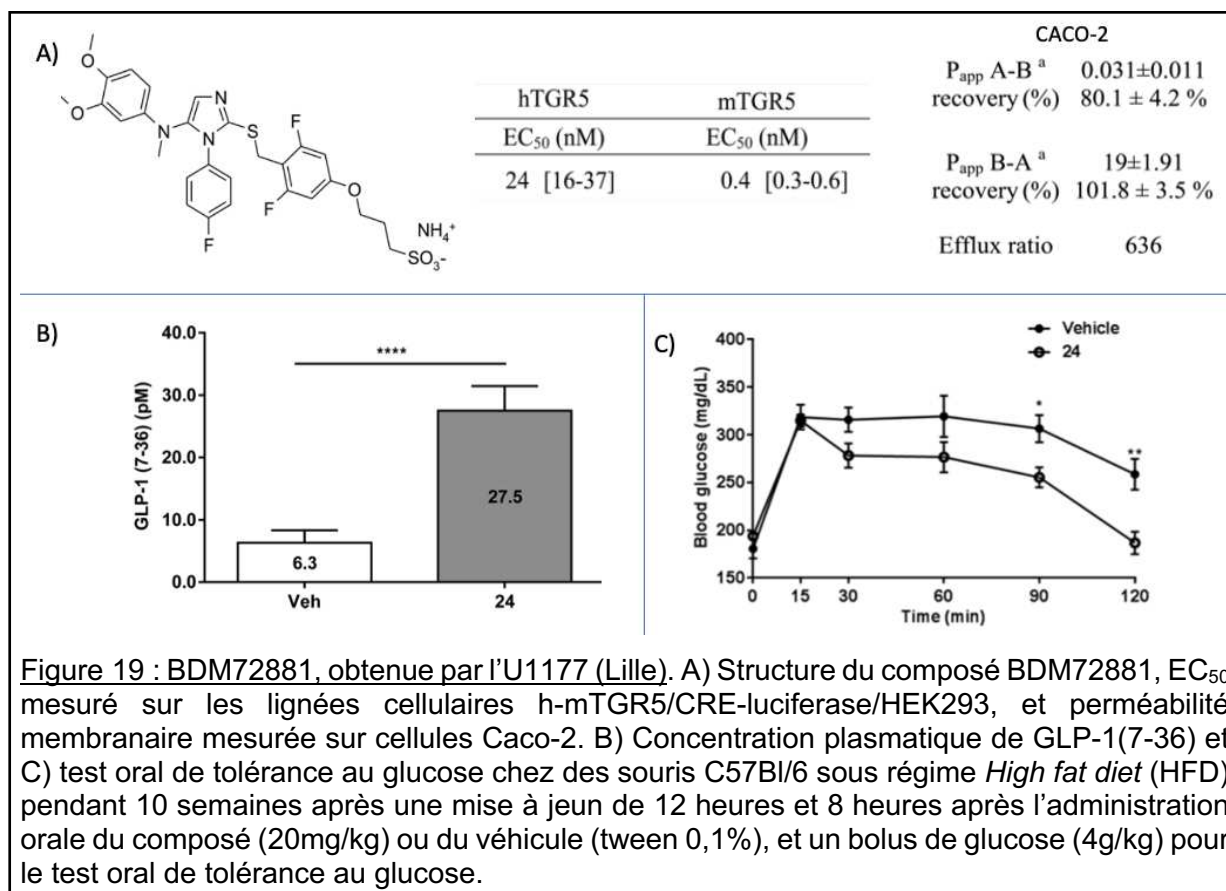


Figure 18 : RDX8940, lead d'Ardelyx développé dans la NASH¹⁰⁷. A) Concentrations plasmatiques de GLP-1 chez la souris C57Bl/6 sous régime *chow* après une administration aiguë orale du composé RDX8940 (30mg/kg) ou du véhicule (2% DMSO + 10% hydroxy-β-cyclodextrin dans tampon phosphate). B) Évolution du poids corporel de souris CD-1 sous régime *chow* avec une administration quotidienne pendant 7 jours du composé RDX8940 ou du véhicule. C) Triglycérides hépatiques et D) insulinémie à jeun chez les souris C57Bl/6 sous régime *Western-diet* pendant 10 semaines avec une administration orale bi-quotidienne de véhicule, de linagliptine, du RDX8940 ou de l'association RDX8940+ linagliptine pendant 29 jours.

Les résultats peu convaincants de cette publication ont certainement provoqués l'arrêt du développement de ce lead, Ardelyx ne faisant plus mention de ce composé dans leur pipeline.

II.iii.a. Agoniste développé par l'UMR1177 et l'UMR1011

A Lille, un laboratoire spécialisé dans les maladies cardio-métaboliques (U1011) et un laboratoire spécialisé dans la chimie thérapeutique (U1177) ont collaboré afin de développer un agoniste de TGR5 topique intestinal depuis une série de composés triazolés. Le pharmacophore a été optimisé par l'étude des relations structure-activité puis un kinétophore de type sulfonate a été ajouté. Ce composé, BDM72881, présente un EC_{50} de 24nM envers le récepteur TGR5 humain, ainsi qu'un ratio d'efflux de 636 sur cellules Caco-2. Dans un modèle murin (souris C57Bl6), le composé atteint sa concentration maximale après 8 heures dans l'iléum et dans le colon (où TGR5 est majoritairement exprimé), et induit au même moment une sécrétion de GLP-1 presque 10 fois supérieure comparée au véhicule (6,2pM vs 62,6pM de GLP-1(7-36) plasmatique) après administration d'une dose de 20 mg/kg¹⁰⁶¹⁰⁶ (**Fig.19**).



Dans un modèle de souris sous régime riche en graisse (C57bl6 *High Fat Diet*), la sécrétion de GLP-1 est environ 4,4 fois supérieure comparée au véhicule (6,3pM vs 27,5pM de GLP-1 plasmatique). De plus, des études de pharmacocinétiques indiquent que le composé est très faiblement absorbé ($C_{\text{plasmatique}} = 63\text{ng/mL}$, $T_{\text{max}} = 45$ minutes).

Malgré une augmentation du volume de la vésicule biliaire, la relaxation de celle-ci n'est pas entravée, réduisant grandement les risques de cholestase¹⁰⁶. La concentration de GLP-1 plasmatique retrouvée après administration de ce composé est inférieure à ce qui est atteint avec un incrétinomimétique comme le liraglutide (cf partie I.iii.b). Néanmoins, la comparaison aux concentrations plasmatiques du liraglutide retrouvées chez l'humain est délicate car le liraglutide se lie à 98% à l'albumine. Comme une amélioration de la tolérance au glucose est observée chez des souris sous *High Fat diet* (HFD) après une administration, la quantité de GLP-1 sécrétée est alors considérée comme suffisante pour induire un effet biologique marqué. Enfin, une *fecal recovery* de 100% est observée en 24h.

Le BDM72881 semble être un candidat médicament intéressant dans le contexte des maladies cardio-métaboliques. Comme vu précédemment, le besoin thérapeutique dans la NASH est grand, et les autres agonistes topiques intestinaux de TGR5 ne semblent pas être efficaces dans un contexte de diabète. Ainsi, les études sur le BDM72881 s'inscrivent dans le contexte de NASH. Le BDM72881 est testé avec ou sans omarigliptine, inhibiteur de la DPP-4, dans l'objectif de potentialiser les effets du GLP-1 sécrété.

III. Développement du BDM72881 dans un modèle murin de NAFLD

III.i. Design de l'étude

III.i.a. Choix du modèle animal

Plusieurs types de modèles précliniques sont utilisés dans le contexte des NAFLD : les modèles alimentaires obésogènes ou déficients en nutriments, les modèles génétiques, ou les modèles combinés. Les régimes obésogènes sont généralement riches en graisses, en sucre, supplémentés en cholestérol – appelés *Western-like diet*

-ce qui provoque une NAFLD suivant des mécanismes proches de ce qui est observé chez l'humain¹¹³. De nombreux *western-like diet* existent et varient en terme de compositions et de durée de régime nécessaire pour atteindre progressivement un stade NASH, généralement en environ 24 semaines¹¹⁴. Un régime riche en graisses – appelé HFD – sans supplémentation en sucre ou en cholestérol va induire une augmentation du poids corporel et une insulino-résistance sans induire d'atteinte hépatique marquée.

Les régimes basés sur la déficience en acides aminés (Methionine and Choline-Deficient diet : MCD ; Choline-deficient L- amino-acid-defined diet : CDAA) sont utilisés car la méthionine et la choline sont des intermédiaires utilisés dans la synthèse des lipoprotéines, le stockage et la métabolisation des lipides¹¹⁵. Néanmoins, ils ont une utilisation limitée car ils provoquent une perte de poids corporel et donc ne reproduisent pas l'histoire naturelle de la pathologie observée chez l'humain¹¹⁶. Il est également possible d'induire une fibrose hépatique rapidement avec l'injection d'une faible dose hebdomadaire de tétrachlorure de carbone (CCl₄) par voie intrapéritonéale, pouvant être associée à un régime HFD¹¹⁷.

Divers modèles génétiquement modifiés sont également utilisés pour étudier la NAFLD, particulièrement pour analyser la pathophysiologie des NAFLD, donc peu utilisés dans un contexte de développement pharmacologique.

Le choix du modèle utilisé dépend de plusieurs paramètres : l'expertise du laboratoire avec une souche particulière, le besoin de modèle génétiquement modifié, la réponse au régime utilisé, etc. Généralement, les rongeurs mâles sont préférés aux femelles car ils répondent mieux aux régimes alimentaires, et l'absence de cycle hormonal évite un biais potentiel. Néanmoins, de nombreuses données montrent que le dimorphisme sexuel est important dans le syndrome métabolique (cf partie I.i.a) et donc l'intégration de mâles et de femelles dans une même étude permet d'explorer un potentiel effet du sexe¹¹⁸. Majoritairement, ce sont les *western-like diet* qui sont le plus utilisés, avec divers souches de rongeurs comme les rats Sprague-Dawley et les souris C57Bl6¹¹⁹. De manière notable, il n'existe pas de modèle standardisé pour étudier les NAFLD, induisant une forte hétérogénéité des modèles et donc des résultats. Dans le

développement du BDM72881, un modèle de souris C57Bl6 sous *western-like diet* est utilisé, induisant une NAFL (stéatose hépatique) puis une NASH (stéatose + inflammation hépatique) en approximativement 24 semaines. Le stade NAFL est atteint à 8 semaines de régime, le stade NASH est atteint à 24 semaines. Les désordres métaboliques associés correspondent à l'histoire naturelle de la pathologie¹²⁰. Le régime induisant la NASH - appelé ND - est composé de 44,6% kcal de lipide, 40,7% kcal de glucides dont 35% sucrose, 14 % kcal de protéines, supplémenté avec 1% du poids total en cholestérol. Le régime contrôle (*chow diet*) est composé de 8,4 % kcal de lipides, de 72,4 % kcal de carbohydate, 19,3 % kcal de protéines¹²⁰.

III.i.b. Protocoles expérimentaux

Dans un premier protocole (protocole 1 NAFL), les effets des traitements sur l'évolution vers le stade NAFL obtenu après 8 semaines de régime sont analysés. Dans un second protocole (protocole 2 NASH), les effets des traitements sur l'évolution vers le stade NASH obtenu après 31 semaines de régime sont analysés. Ainsi, dans les deux protocoles, il est nécessaire d'avoir un groupe contrôle sous régime standard (groupe *chow diet*) à comparer avec un groupe de souris sous régime ND pour valider que le régime a bien induit une NAFL après 8 semaines de régime, et une NASH après 24 semaines de régime. Les composés (BDM72881 +/- omarigliptine) sont administrés une fois par jour le matin à la dose de 20 mg/kg pour l'agoniste de TGR5 et de 2 mg/kg pour l'inhibiteur de DPP-4, comme validé dans les précédents protocoles. Le gavage quotidien de souris induit un stress qui peut affecter la prise alimentaire et donc la progression de la pathologie¹²¹. Ainsi, la présence d'un groupe contrôle gavé quotidiennement avec le véhicule est nécessaire pour : 1) la comparaison aux 3 groupes traités (BDM72881 seul, omarigliptine seul, BDM72881+omariogliptine), 2) vérifier les effets du gavage sur le développement de la NAFL ou de la NASH, en comparant ce groupe au groupe sous ND sans gavage. Ainsi, 6 groupes sont nécessaires pour chacun des deux protocoles : souris sous *chow diet* (sans gavage, CD), souris sous ND (sans gavage), souris sous ND + gavage quotidien de véhicule, souris sous ND + gavage quotidien du BDM72881, souris sous ND + gavage quotidien

de l'omarigliptine, souris sous ND + gavage quotidien du BDM72881+omarigliptine (n=10 par groupe) (**Fig.20**).

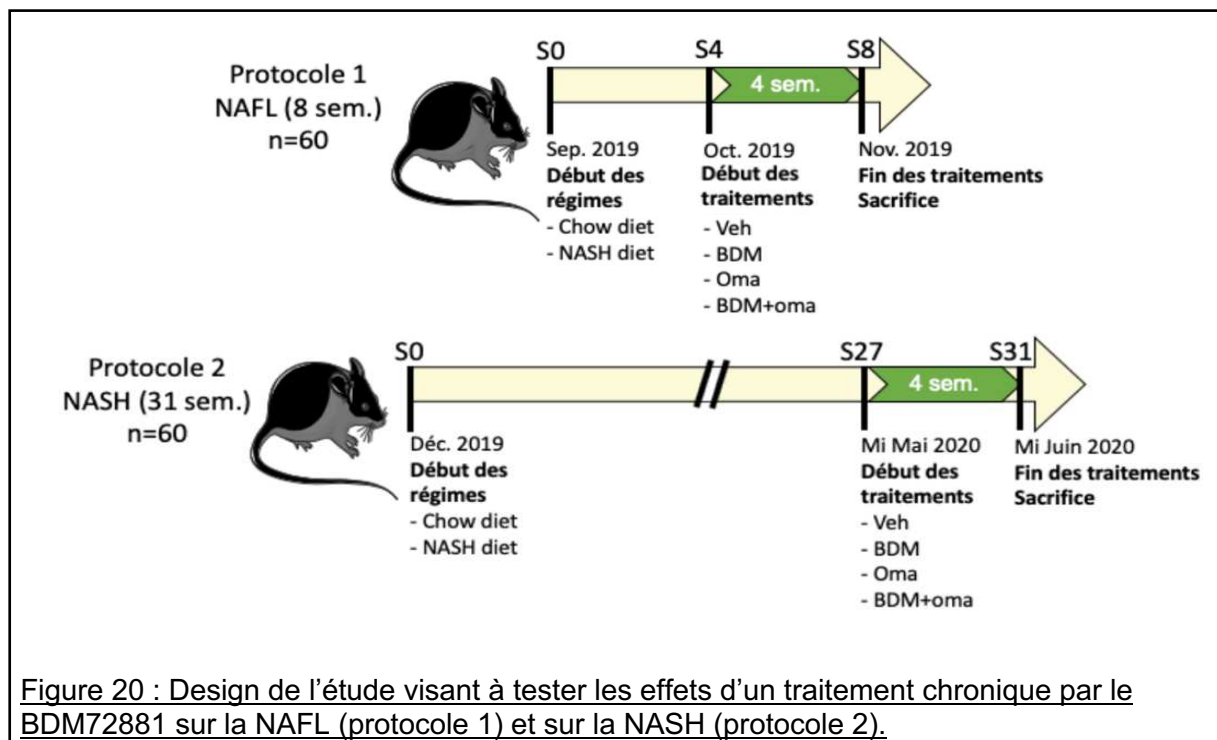


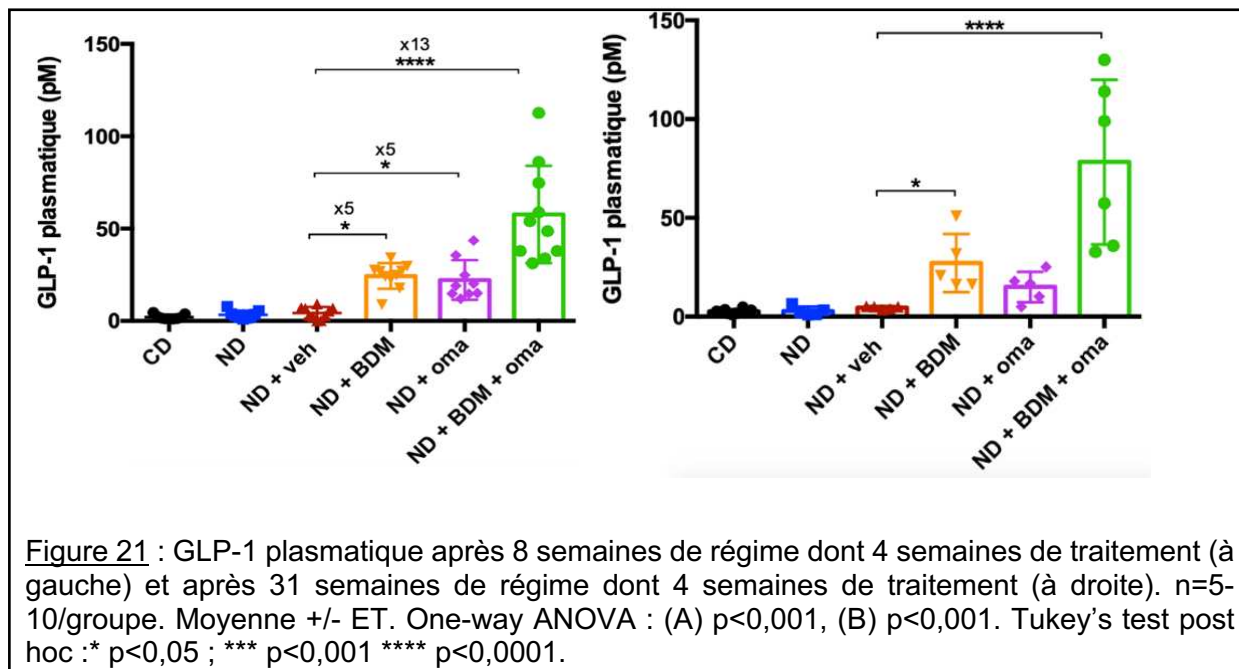
Figure 20 : Design de l'étude visant à tester les effets d'un traitement chronique par le BDM72881 sur la NAFL (protocole 1) et sur la NASH (protocole 2).

III.ii. Mise en évidence de la sécrétion de GLP-1

Afin de vérifier que les molécules administrées sont pharmacologiquement actives dans ces deux protocoles, la concentration plasmatique de GLP-1 est mesurée.

Effets du régime : les souris du groupe ND ne présentent pas de différence significative dans la concentration plasmatique de GLP-1, après 8 semaines ou 31 semaines de régime par rapport aux souris du groupe CD (**Fig.21**).

Effets des traitements : comme attendu, les traitements (groupes ND+BDM, ND+oma) augmentent les concentrations plasmatiques en GLP-1 par rapport au véhicule (ND+veh), et leurs effets sont additifs (ND+BDM+oma), à 8 et 31 semaines de régime (**Fig.21**). Ainsi, les deux molécules utilisées seules et en association sont pharmacologiquement actives.



III.iii. Protocole 1 : stade NAFL

III.iii.a. Effets sur le poids corporel et sur l'insulino-résistance

Lors de ces protocoles *in vivo*, le suivi du poids corporel est d'importance majeure afin de valider que le régime riche en graisse induit un surpoids, et également afin d'observer les potentiels effets anorexigènes du GLP-1. Il est également nécessaire d'évaluer si les souris développent une insulino-résistance en réponse au régime et, le cas échéant, si les traitements diminuent cette insulino-résistance.

Effets du régime : les souris du groupe ND sont significativement en surpoids en comparaison aux souris du groupe CD, à partir de la 3^{ème} semaine de régime (**Fig.22 A et B**). Néanmoins, il ne semble pas que les souris développent une insulino-résistance en réponse au régime WD avec des concentrations plasmatiques d'insuline similaires entre les groupes CD et ND pour une glycémie similaire (**Fig.22 C et D**).

Effets des traitements : Les souris des groupes sous traitements n'ont pas de diminution de poids corporel par rapport aux souris traitées par le véhicule. Étant donné que le régime ND n'a pas induit d'insulino-résistance en 8 semaine de régime, il est impossible de déterminer si les traitements améliorent le contrôle glycémique (**Fig.22**).

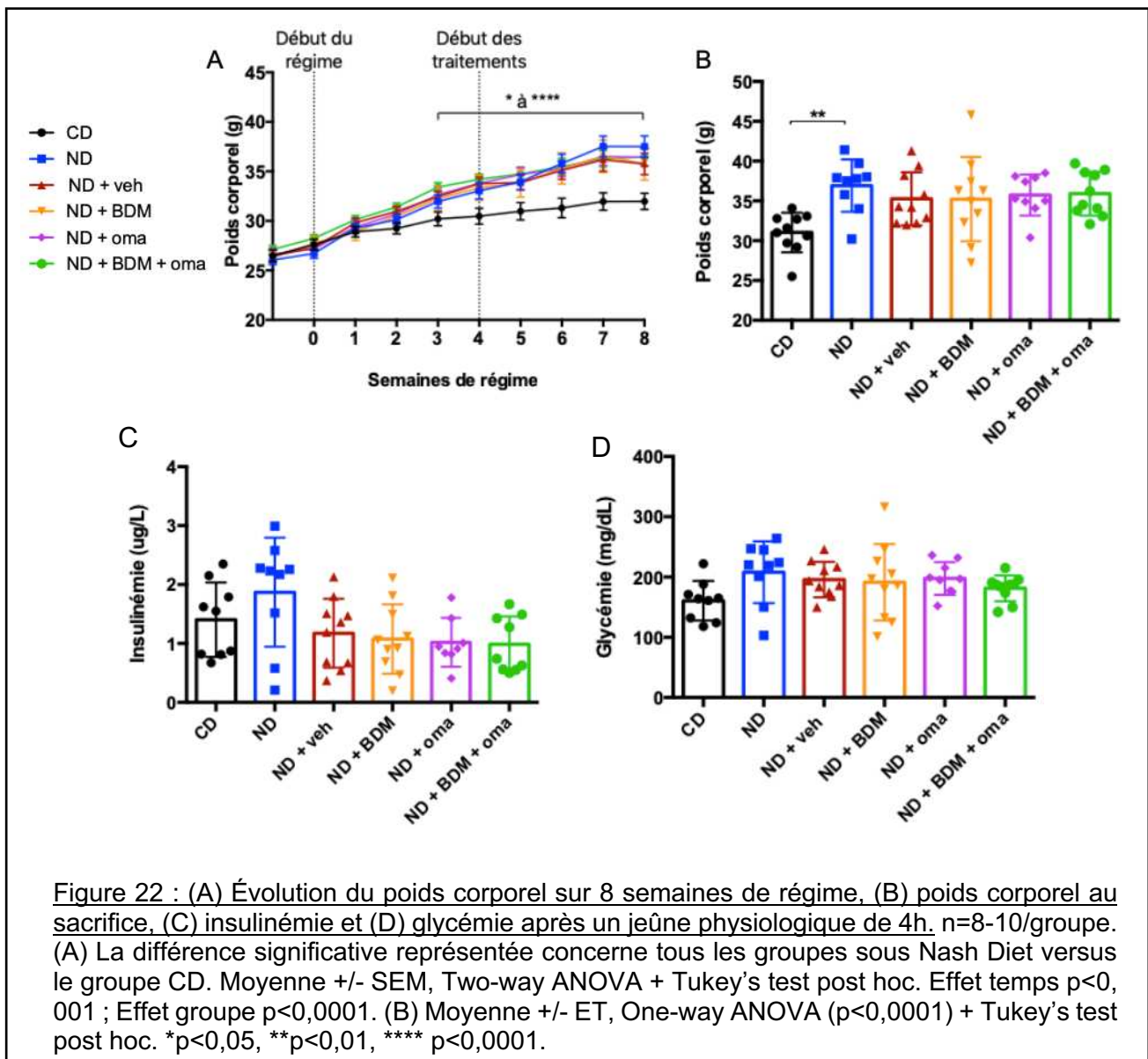
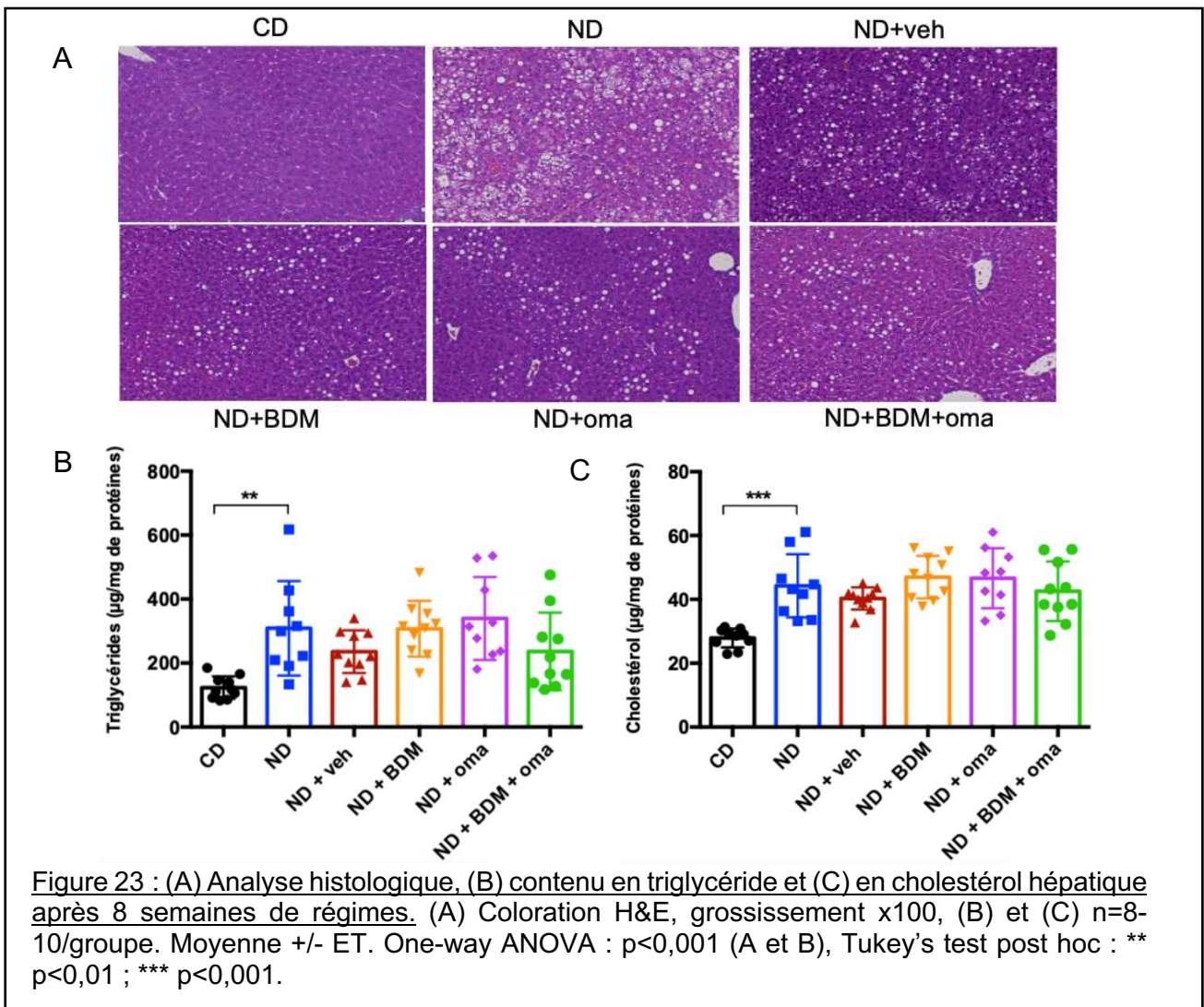


Figure 22 : (A) Évolution du poids corporel sur 8 semaines de régime, (B) poids corporel au sacrifice, (C) insulïnémie et (D) glycémie après un jeûne physiologique de 4h. n=8-10/groupe. (A) La différence significative représentée concerne tous les groupes sous Nash Diet versus le groupe CD. Moyenne +/- SEM, Two-way ANOVA + Tukey's test post hoc. Effet temps $p < 0,001$; Effet groupe $p < 0,0001$. (B) Moyenne +/- ET, One-way ANOVA ($p < 0,0001$) + Tukey's test post hoc. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$.

III.iii.b. Effets sur la stéatose

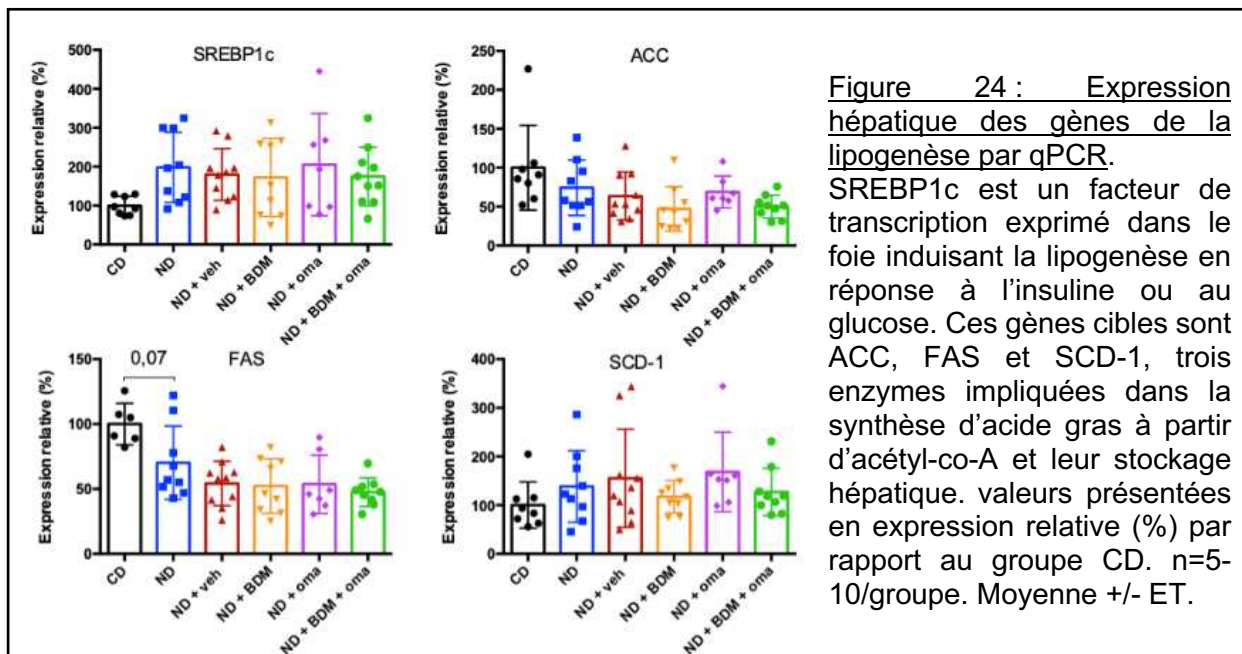
Dans le protocole 1, l'objectif est d'induire par le régime une atteinte hépatique légère avec la présence de stéatose sans inflammation. De cette manière, nous pouvons observer les potentiels effets du traitement sur la stéatose hépatique de manière isolée. L'analyse histologique avec la coloration H&E permet de visualiser la stéatose quantitativement et qualitativement. Il s'agit de la coloration recommandée par certains guides cliniques comme le NAS¹²², utilisée par les anatomo-pathologistes pour diagnostics humains. De plus, l'expression hépatique des gènes de la lipogénèse et le contenu intra-hépatique de cholestérol et triglycérides hépatique sont explorés afin de conforter les observations histologiques.

Effets du régime : aucune stéatose n'est visible chez les souris du groupe CD (Fig.23A). La stéatose observée dans le groupe ND est présente en accord avec les taux de triglycérides et cholestérol hépatiques (Fig.23 B et C). Elle se caractérise par une macro-stéatose et une micro-stéatose réparties de manière homogène sur la coupe. Aucun phénomène de *ballooning* ou d'infiltrat inflammatoire n'est observé comme attendu dans ce protocole. Ces observations confirment que 8 semaines de régime conduisent au stade NAFL. Le régime ND ne modifie pas l'expression des gènes clés impliqués dans la lipogenèse. Seule l'expression génique de FAS montre une tendance à la diminution (Fig.24).



Effets des traitements : l'analyse histologique et le contenu intra-hépatique de triglycérides et cholestérol ne montrent pas de modification quantitative ou qualitative du stockage des lipides hépatiques en réponse aux traitements par rapport au véhicule (**Fig.23 A, B et C**). Néanmoins, la stéatose des foies du groupe ND+véhicule semble plus limitée que celle observée avec les foies du groupe ND. Cet « effet gavage » pourrait donc masquer les effets des traitements. Ce point important pour le design d'essais précliniques sera discuté partie III.V.

D'autre part, les traitements ne modifient pas l'expression des gènes clés de la lipogenèse hépatique en comparaison au véhicule après 8 semaines de régime (**Fig.24**). Ainsi, l'analyse de l'expression génique et histologique hépatique montre que, malgré une augmentation de la sécrétion de GLP-1, aucun effet bénéfique sur la stéatose hépatique n'est observé dans notre modèle par notre molécule.



Ainsi, en conclusion de ce premier protocole, le régime ND induit un stade NAFL en 8 semaines, malgré l'absence de dérégulation d'expression génique attendue en réponse au fructose pour les gènes de la lipogenèse¹²³. Les traitements ne montrent pas d'amélioration de la stéatose.

III.iv. Protocole 2 : stade NASH

Dans ce protocole, l'objectif du régime est d'induire une atteinte hépatique avec la présence de stéatose, d'inflammation et possiblement de fibrose. De cette manière, nous pouvons observer les potentiels effets du traitement sur la NASH, au regard des effets bénéfiques observés avec des incrétinomimétiques chez l'humain. Les souris sont sous régime pendant 31 semaines. Dans les groupes ND+veh, ND+BDM, ND+oma et ND+BDM+oma, les souris sont traitées de la semaine 27 à la semaine 31. Comme vu précédemment, nos traitements augmentent fortement les concentrations plasmatiques de GLP-1 (**Fig.21**).

III.iv.a. Effets sur le poids corporel et sur l'insulino-résistance

Effets du régime : les souris du groupe ND ont une prise de poids supérieure en comparaison aux souris du groupe CD, résultant en une obésité marquée à la fin du régime (**Fig.25 A et B**). Après 31 semaines de régime, pour une glycémie similaire, l'insulinémie est significativement augmentée dans le groupe ND vs CD. Cela indique une insulino-résistance induite par le régime *NASH diet* (**Fig.25 C et D**).

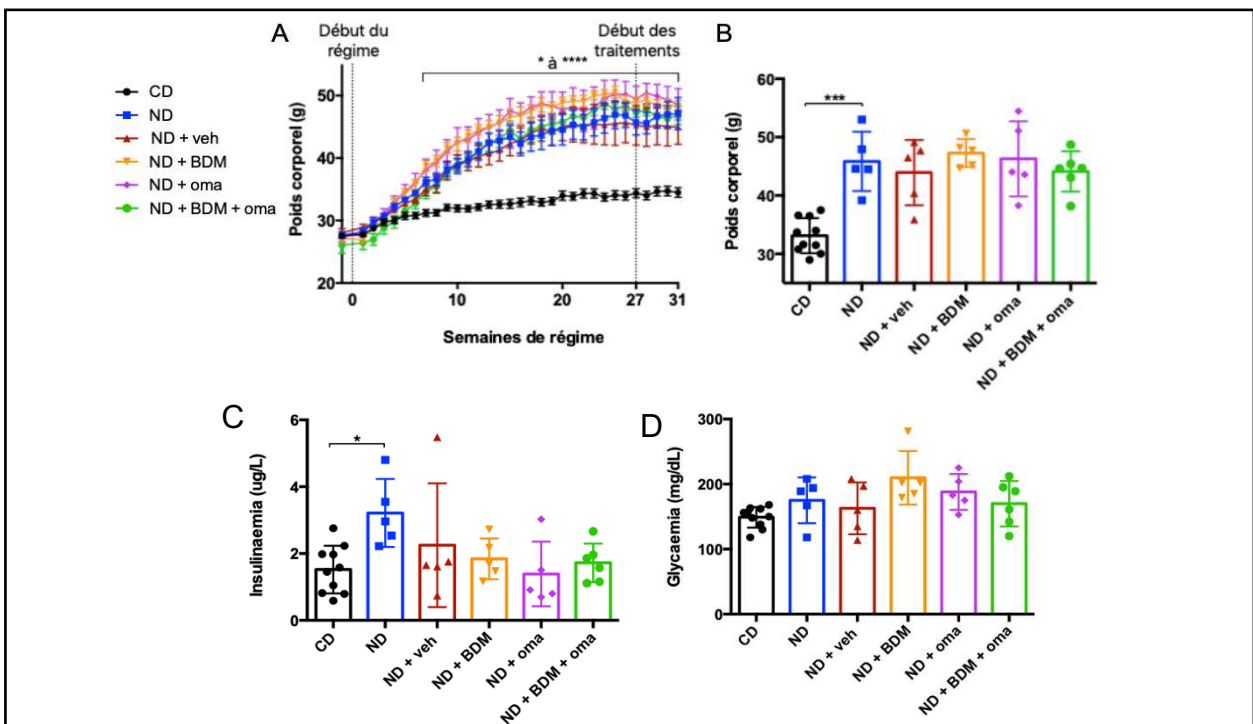
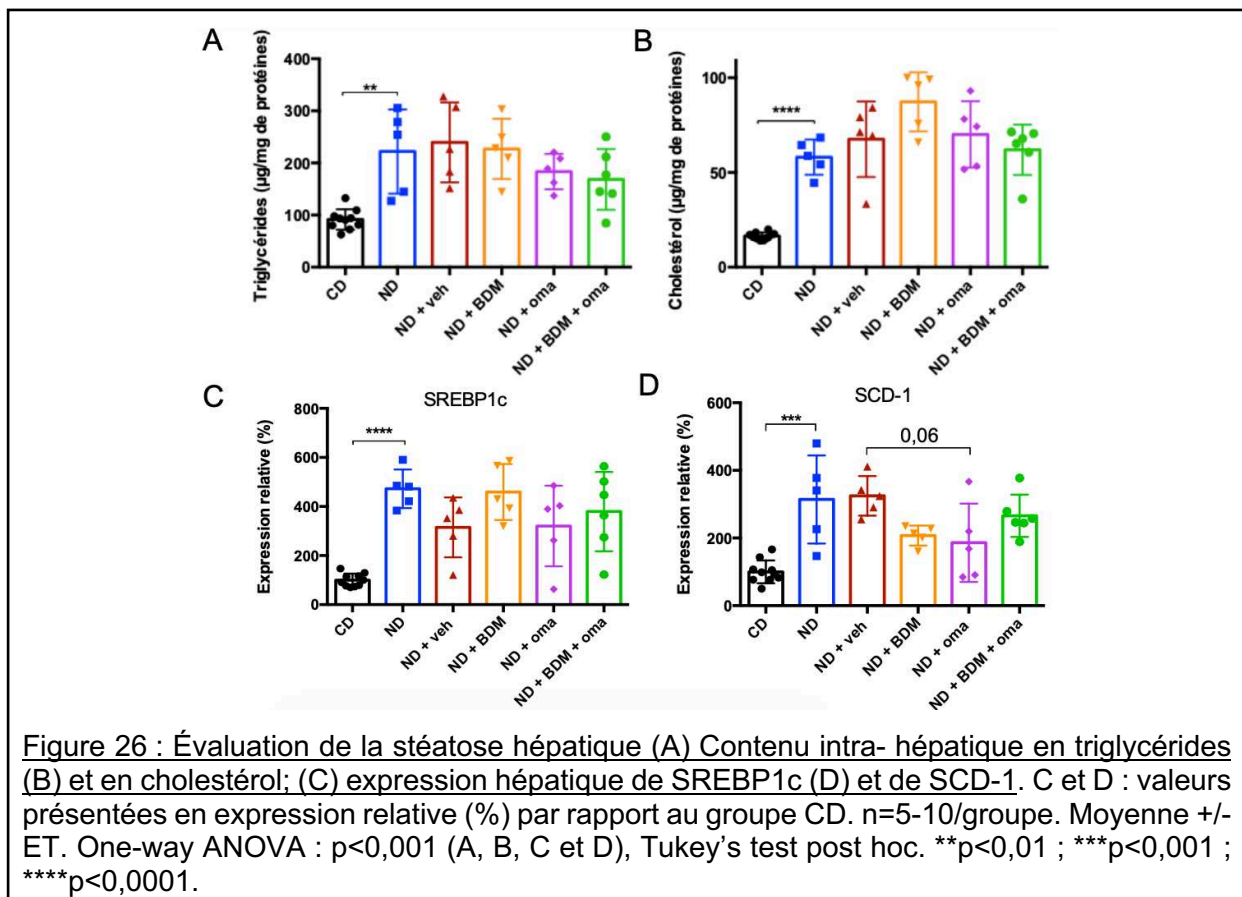


Figure 25 : (A) Évolution du poids corporel sur 31 semaines de régime, (B) poids corporel au sacrifice, (C) insulinémie et (D) glycémie après un jeûne physiologique de 4h. n=8-10/groupe. (A) La différence significative représentée concerne tous les groupes sous Nash Diet versus le groupe CD. Moyenne +/- SEM, Two-way ANOVA + Tukey's test post hoc. Effet temps $p < 0,001$; Effet groupe $p < 0,0001$. (B) Moyenne +/- ET, One-way ANOVA ($p < 0,0001$) + Tukey's test post hoc. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$.

Effets des traitements : Les souris des groupes sous traitements n'ont pas de diminution de poids corporel par rapport aux souris traitées par le véhicule (**Fig.25 A et B**). Dans le groupe ND+veh, l'insulinémie à jeun est diminuée par rapport au groupe ND (**Fig.25 C**), altérant le phénotype induit par le régime *NASH diet*. Ainsi, il n'est pas possible de conclure sur les effets des traitements sur l'insulino-résistance avec ces données.

III.iv.a. Effets sur la stéatose

Effet du régime : le régime ND induit une augmentation significative des concentrations intra-hépatiques de triglycérides et de cholestérol (**Fig. 26**). On observe une augmentation de l'expression de certains gènes de la lipogenèse. L'analyse histologique (coloration H&E), montre une stéatose hépatique dans le groupe ND caractérisée par une macro-stéatose répartie de manière homogène, avec de rares hépatocytes en *ballooning*, en accord avec les taux de lipides hépatiques mesurés.



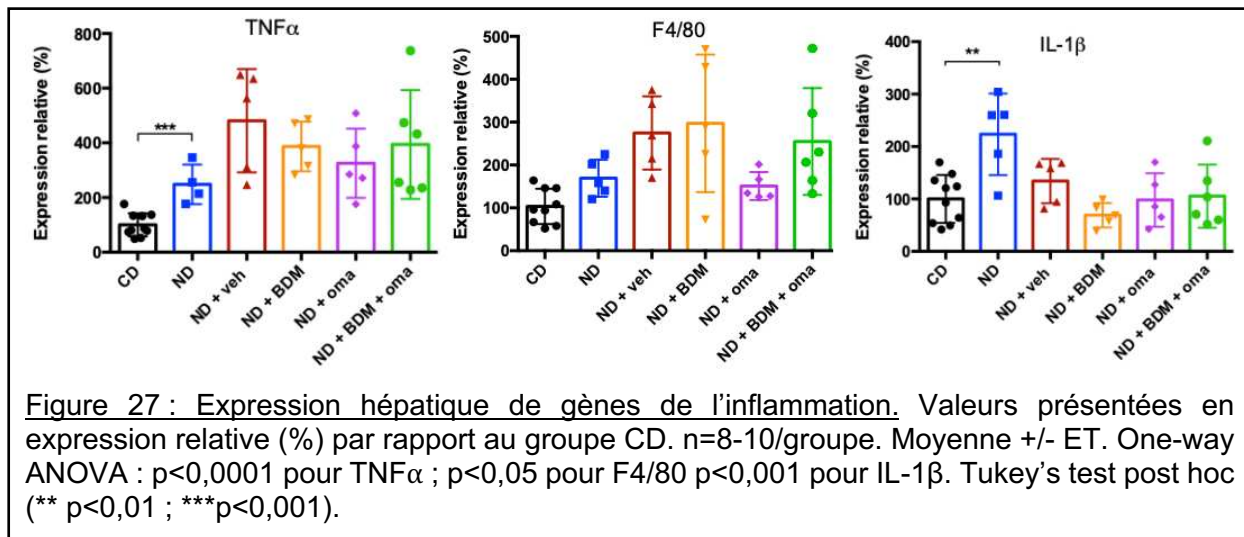
Effet des traitements : les traitements ne modifient pas les concentrations intra-hépatiques de triglycérides et de cholestérol (**Fig.26**). Une analyse en aveugle des coupes de foie en coloration H&E ne permet pas de différencier les foies de souris sous véhicule des souris traitées. Ainsi, le régime ND après 31 semaines induit une forte stéatose, mais les traitements ne montrent pas d'effets significatifs.

III.iv.b. Effets sur l'inflammation

L'exploration de l'inflammation dans un contexte préclinique de NASH, consiste à analyser en histologie le nombre de foyers inflammatoires, similaire à ce qui est réalisé lors de diagnostics cliniques. Il est également important d'étudier l'expression génique d'un marqueur de macrophages et de cellules de Kupffer (F4/80), d'une cytokine sécrétée ces cellules ($TNF\alpha$), et d'une cytokine reflétant l'activité de l'inflammasome (IL-1 β).

Effets du régime : le ND induit une augmentation de l'expression génique de $TNF\alpha$ et de l'IL-1 β (**Fig.27**). En histologie H&E (non montré), des foyers inflammatoires sont observables.

Effets des traitements : l'analyse d'expression génique et histologique (non montré) indique que les traitements ne modifient pas l'inflammation hépatique induite par le régime (**Fig.27**).



Cette étude de l'inflammation montre que nos traitements ne permettent pas, dans ce modèle, de réduire l'inflammation induite par le régime ND après 31 semaines.

III.iv.c. Effets sur la fibrose

La fibrose est analysée d'une part avec l'étude d'expression génique et d'autre part en histologie en évaluant les zones fibrosées avec une coloration *Sirius Red Fast Green*. L'étude de l'expression génique porte au moins sur 3 gènes : le TGF β 1 qui est un reflet de la transition épithilio-mésenchymateuse¹²⁴, α SMA qui est un marqueur de l'activation de cellules stellaires hépatiques¹²⁵, le collagène (de type 1 et 3) qui est le marqueur principal de fibrose sous forme fibrillaire¹²⁶. Les anatomo-pathologistes évaluent la fibrose en histologie avec la coloration trichrome de Masson, néanmoins cette coloration sous-estime légèrement la fibrose est n'est donc pas adaptée à une quantification précise.

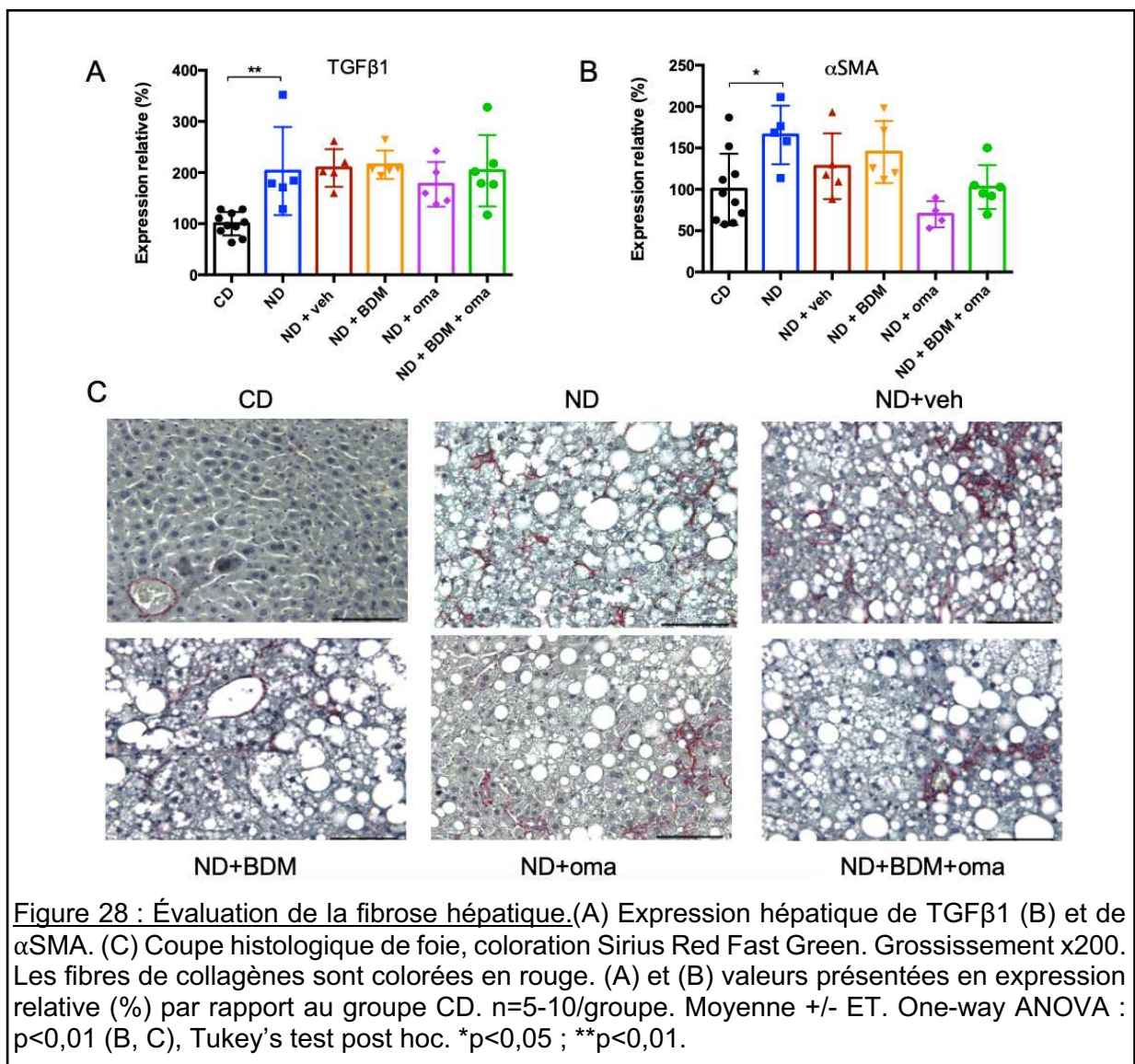


Figure 28 : Évaluation de la fibrose hépatique.(A) Expression hépatique de TGF β 1 (B) et de α SMA. (C) Coupe histologique de foie, coloration Sirius Red Fast Green. Grossissement x200. Les fibres de collagènes sont colorées en rouge. (A) et (B) valeurs présentées en expression relative (%) par rapport au groupe CD. n=5-10/groupe. Moyenne +/- ET. One-way ANOVA : p<0,01 (B, C), Tukey's test post hoc. *p<0,05 ; **p<0,01.

Effets du régime : le régime ND induit une augmentation de l'expression des gènes de la fibrose comme TGF β 1 et α SMA. L'analyse histologique en coloration Sirius Red Fast Green montre un développement de fibrose dans le groupe ND avec un départ vasculaire (**Fig.28**).

Effets des traitements : l'analyse d'expression génique et l'analyse histologique indiquent que les traitements ne modifient pas la fibrose hépatique.

Ces observations indiquent que les traitements ne permettent pas de diminuer le début de fibrose induit par le régime ND après 31 semaines. Compte-tenu de l'absence d'effet sur le poids corporel, la stéatose et l'inflammation hépatique, ces observations sur la fibrose ne sont pas surprenantes.

III.v. Conclusions de l'étude préclinique

Cette étude préclinique visant à montrer un effet bénéfique sur la NASH du BDM72881 a pour critères d'évaluations principaux : 1) une régression de la stéatose hépatique, 2) une diminution de la l'inflammation hépatique, 3) une diminution de la fibrose hépatique.

III.v.a. Validation du régime et des traitements

Dans les deux protocoles, les traitements ont été efficaces pour augmenter les concentrations plasmatiques de GLP-1, à la dose optimale déterminée auparavant¹⁰⁶. Le régime ND a induit un stade NAFL en 8 semaines et un stade NASH en 31 semaines, avec un surpoids corporel. En accord avec les données internes du laboratoire (U1011), les souris ne sont pas insulino-résistantes à 8 semaines, et le sont à 31 semaines. Cela peut expliquer pourquoi il n'y a pas de modifications de l'expression des gènes hépatiques de la lipogenèse à ce stade NAFL (**Fig.24**).

III.v.b. Effets des traitements

Effet « gavage » : Lors des périodes de traitements, les souris subissent un geste de gavage quotidien et répété. Dans le protocole 1 (NAFL), un effet dû à cette répétition de gavage est observé en histologie du foie et dans l'expression hépatique de gènes de l'inflammation. Cet effet sur le contenu hépatique en triglycéride et en histologie a déjà été documenté avec un gavage quotidien pendant 8 semaines chez des souris sous régime HFD¹²¹. Notre hypothèse est que le gavage pendant les quatre dernières semaines de régime provoque une très légère diminution non statistiquement significative de la prise de poids. Lors d'un protocole de courte durée (protocole 1 NAFL), cet effet serait observable car le foie est faiblement atteint, tandis que dans un protocole de longue durée (protocole 2 NASH), cet effet n'est plus observable car le foie est plus sévèrement altéré. Ainsi, ce résultat montre l'importance et la nécessité du contrôle de l'effet du gavage lors d'étude préclinique pharmacologique dans le contexte de maladies cardio-métaboliques.

Le BDM72881, seul ou associé à l'omarigliptine, n'a pas d'effets sur le poids corporel. Avant cette étude préclinique, cette molécule a été testée dans d'autres modèles précliniques de régimes alimentaires riches en graisses, modèles génétiques, avec des temps de traitements et des doses de composés différents. Dans tous ces modèles, aucun effet n'a été observé sur le poids corporel, ou sur les marqueurs d'insulino-résistance (insulinémie à jeun, glycémie à jeun) (**tableau 5**). Ces observations ne corroborent pas les effets anorexigènes et sur le poids corporel attribués au GLP-1.

Néanmoins, dans la littérature, les effets bénéfiques du GLP-1 sont décrits par des études utilisant des analogues du GLP-1 à demi vie longue, comme le liraglutide, et non pas *via* une sécrétion endogène de GLP-1. De plus, les effets anti-stéatosiques du liraglutide sont accompagnés d'une perte de poids^{85,127}. Ainsi, nos résultats suggèrent une différence d'action entre le GLP-1 endogène intestinal et le liraglutide. Nos résultats ne sont pas les seuls à mettre en évidence une zone d'ombre sur nos connaissances du GLP-1 intestinal, et cela sera discuté partie IV.

Modèle	Dose de BDM72881	Durée du traitement	GLP-1 plasmatique	Résultats
db/db (8 semaines)	5mg/kg (2/jour)	4 jours	↑↑↑	Poids corporel =
db/db (16 semaines)	20mg/kg (1/jour)	8 jours	↑↑↑	
10 semaines HFD	1mg/kg (1/jour) 2mg/kg (1/jour) 20mg/kg (1/jour)	4 semaines	↑↑↑	Insulinémie à jeun =
8 semaines HFD	20mg/kg (2/jour)	7 jours	↑↑↑	
10 semaines HFD	20mg/kg +/- omarigliptine (1/jour)	7 semaines	↑↑↑	Glycémie à jeun =
12 semaines HFD	20mg/kg +/- omarigliptine (1/jour)	14 jours	↑↑↑	
8 semaines ND	20mg/kg +/- omarigliptine (1/jour)	4 semaines	↑↑↑	
31 semaines ND	20mg/kg +/- omarigliptine (1/jour)	4 semaines	↑↑↑	

Tableau 5 : Aucun effet n'est observé sur le poids corporel, l'insulinémie à jeun et la glycémie à jeun avec le BDM72881 dans différents modèles avec des traitements chroniques, malgré une augmentation de la concentration en GLP-1 plasmatique. Les résultats sont en comparaison aux groupes traités au véhicule. db/db = modèle génétique d'insulino-résistance et d'obésité. HFD = High Fat Diet. ND = NASH diet.

Le BDM72881, seul ou associé à l'omarigliptine, n'a pas d'effets sur la NAFL ou sur la NASH. Les traitements n'améliorent pas la stéatose et ne modifient pas qualitativement la taille des gouttelettes lipidiques hépatiques. Ainsi, nos résultats diffèrent de ceux publiés par Finn et al. (2019)¹⁰⁷ montrant une diminution de la stéatose hépatique en réponse à un agoniste topique intestinal de TGR5 en traitement chronique (RDX8940) comme vu précédemment. Néanmoins dans cette publication, les effets de l'agoniste sont très modestes, bien que significatifs, et les conclusions ne sont formulées que grâce au dosage des triglycérides hépatiques sans présenter de résultats d'analyses histologiques qui est la technique de choix pour l'évaluation des NAFLD. Ainsi, malgré la forte augmentation du GLP-1 plasmatique chez les souris traitées, nous n'observons pas les effets anti-stéatosiques attendus.

III.v.c. Perspectives pour le BDM72881

Seuls les effets GLP-1-sécrétagogue ont été discutés, néanmoins les agonistes topiques intestinaux de TGR5 ont de nombreux autres potentiels effets. La sécrétion de GLP-1 par les cellules L entéro-endocrine de l'intestin s'accompagne également de la sécrétion d'hormones anorexigènes comme le GLP-2 et le PYY et de bien d'autres peptides¹²⁸. Le GLP-1 et le GLP-2 possèdent des effets anti-inflammatoires. En effet, les lymphocytes intra-épithéliaux de l'intestin expriment le récepteur au GLP-1 et les macrophages intestinaux expriment le récepteur au GLP-2. L'activation de ces récepteurs permet de diminuer l'expression et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, montré respectivement *in vivo*¹²⁹ et *in vitro*¹³⁰. De plus, il est montré que TGR5 peut réguler la fonction de barrière épithéliale en contrôlant l'expression protéique à la membrane de JAM-A, une protéine de jonction serrée¹³¹, bien que cette régulation ne soit pas encore démontrée dans l'intestin. Ainsi, l'utilisation d'un agoniste topique intestinal, comme le BDM72881, pourrait améliorer les fonctions immunitaires et de barrière de l'intestin. Or, ces deux fonctions sont dérégulées dans le contexte de Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin (MICI). Il serait donc possible de repositionner ces agonistes topiques intestinaux dans un modèle préclinique de MICI, avec l'hypothèse qu'un traitement chronique pourrait diminuer la sévérité de la maladie.

IV. Vers la recherche fondamentale : paradoxe du manque d'efficacité du GLP-1 intestinal par rapport aux incrétinomimétiques

Le GLP-1 est une hormone décrite comme anorexigène, insulino-sécrétagogue, diminuant l'insulino-résistance, anti-stéatosique et anti-inflammatoire notamment grâce à des études utilisant le liraglutide. L'utilisation dans des modèles précliniques de NASH d'agonistes topiques intestinaux de TGR5 induit une augmentation importante de la concentration plasmatique de GLP-1.

Malgré cela, aucun effet attendu du GLP-1 n'est observé dans nos protocoles (UMR1011 – BDM72881) sur le poids corporel, sur l'insulino-résistance et sur les caractéristiques de la NAFL et de la NASH (partie III). En plus des autres protocoles réalisés dans le laboratoire consistants avec ces observations (**tableau 5**) utilisant

divers modèles précliniques, aucun effet probant n'est reporté dans la littérature scientifique (partie II.iii). Il semble donc que l'utilisation de tous ces modèles pré-cliniques différents échoue à démontrer les effets attendus du GLP-1 malgré la forte sécrétion endogène de GLP-1 intestinal.

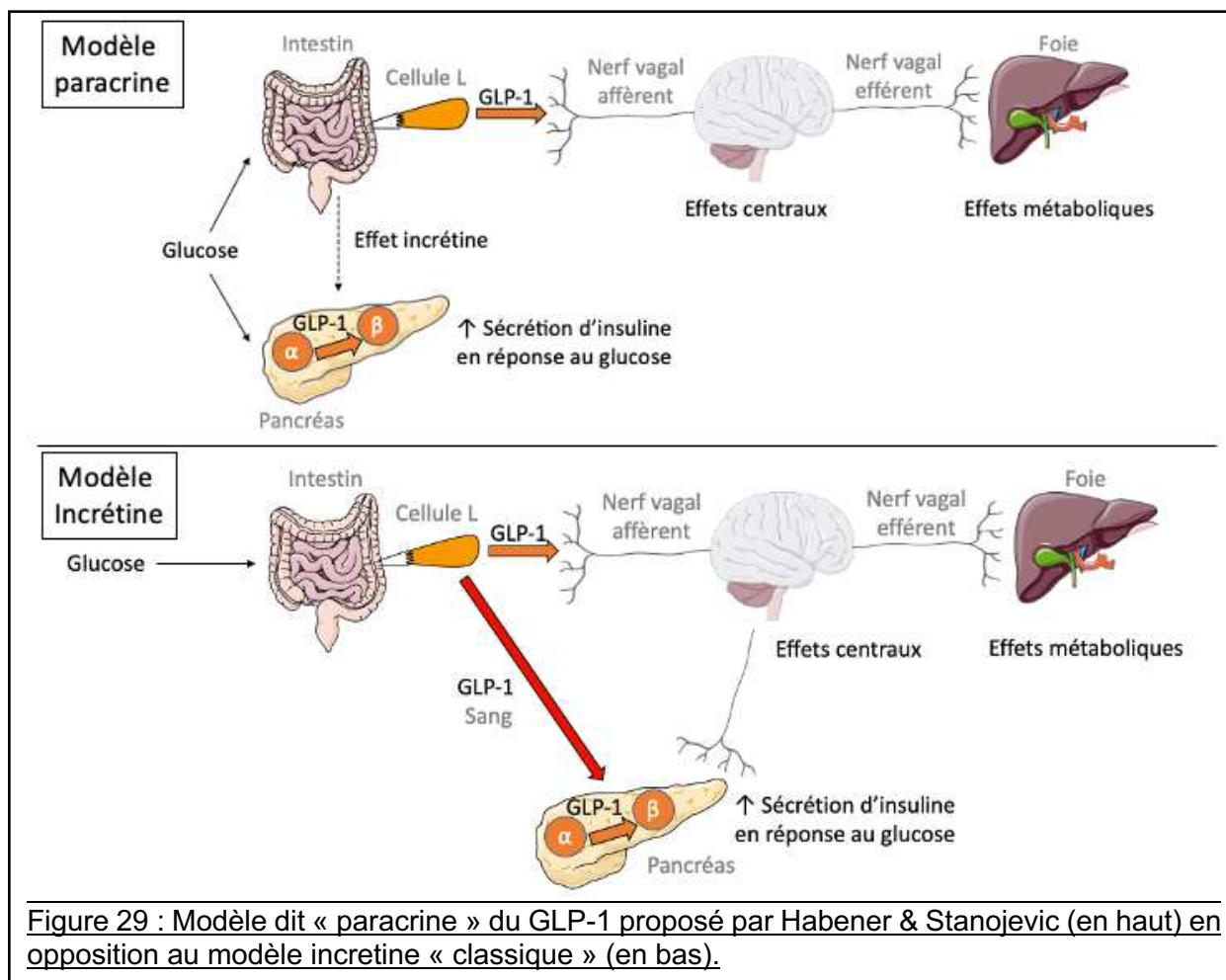
Ainsi, il existe un paradoxe entre les effets attribués au GLP-1 et le manque d'effets observés avec une forte sécrétion intestinale de GLP-1. Plusieurs hypothèses sont envisagées pour répondre à ce paradoxe.

IV.i. Y a-t-il une différence d'activité entre les analogues du GLP-1 utilisés en clinique et le GLP-1 intestinal endogène ?

IV.i.a. Capacité du GLP-1 intestinal à induire une sécrétion d'insuline

Le GLP-1 intestinal est connu pour induire une sécrétion d'insuline en réponse à la présence de glucose, nommé l'effet incrétine (partie I.ii.a). Dans ce paradigme, le GLP-1 intestinal et le GLP-1 pancréatique sont tous les deux capables d'induire une sécrétion d'insuline et une meilleure tolérance au glucose. Néanmoins, un article publié en 2017 par Chambers et collègues montre à l'aide d'un modèle murin que le GLP-1 intestinal seul n'est pas capable de promouvoir une amélioration de la tolérance au glucose¹³². A la suite de cet article, J.F.Habener & V.Stanojevic ont proposé un modèle dit « paracrine »¹³³ (**Fig.29**). Dans ce modèle, le GLP-1 est produit par les cellules α dans les îlots pancréatiques, et agit sur le GLP1R des cellules- β de manière paracrine pour induire une sécrétion d'insuline en réponse au glucose.

Dans l'intestin, le GLP-1 sécrété par les cellules L entéro-endocrines agit sur le GLP1R situé sur les terminaisons nerveuses afférentes du nerf vague de manière paracrine, envoyant des signaux de voie neuronale dans le 3^{ème} ventricule au noyau solitaire et à l'hypothalamus pour contrôler l'effet anorexigène, la vidange gastrique, et la production hépatique de glucose. Cette hypothèse est schématisée **figure 29**. Cette hypothèse où le GLP-1 agit de manière paracrine expliquerait pourquoi le GLP-1 intestinal sécrété en réponse aux agonistes de TGR5 n'induit pas d'amélioration de l'insulino-résistance.



Les études réalisées chez l'humain s'intéressant aux incrétinomimétiques prennent comme critère d'évaluation le contrôle glycémique (HbA1c, glycémie à jeun ...) et montrent avec succès un meilleur contrôle glycémique et une diminution du poids corporel, par exemple pour l'exénatide¹³⁴⁻¹⁴³ et le liraglutide^{135,144-154} dans de nombreuses études avec des résultats consistants. Ces traitements augmentent la première phase de sécrétion d'insuline, pour l'exénatide¹⁵⁵ et pour le liraglutide^{144,146,156}. Plusieurs études montrent que les incrétinomimétiques augmentent la survie des cellules β pancréatiques¹⁵⁷⁻¹⁶¹ en passant par le GLP1R exprimé dans les îlots de Langerhans. D'autre part, il a été montré que le liraglutide est capable d'induire une sécrétion de somatostatine par les cellules δ pancréatiques¹⁶². Compte tenu de la longue demi-vie plasmatique permettant l'exposition du pancréas et de l'intestin aux incrétinomimétiques, cette hypothèse de l'action paracrine est tout à fait compatible avec les observations réalisées en clinique avec ces médicaments.

Ainsi, si cette hypothèse est confirmée, le GLP-1 endogène d'origine intestinale et les incrétinomimétiques auraient des modes d'actions différents. La grande majorité des études mécanistiques précliniques s'intéressant au GLP-1 utilisent des agonistes du GLP1R à demi-vie longue comme l'exendin-4 ou le liraglutide, ainsi de nombreux effets sont attribués au GLP-1 endogène intestinal par extrapolation sans preuve directe. De plus, un agoniste de TGR5 induit une sécrétion de GLP-1 reflétant la dégranulation du stock de GLP-1 endogène. Or, dans les études utilisant le GLP-1 en préclinique, les doses utilisées sont très souvent supra-physiologiques. Ainsi, l'utilisation d'un agoniste topique intestinal de TGR5 peut permettre d'étudier les effets du GLP-1 intestinal à des concentrations physiologiques.

IV.i.b. Capacité du GLP-1 à passer la BHE

L'expression au niveau de la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE) du GLP1R¹⁶³ semble indiquer une utilité du GLP-1 plasmatique au niveau central. Le troisième ventricule est une cavité située dans le diencephale sécrétant le liquide céphalorachidien à partir du plasma sanguin, à proximité de l'hypothalamus. Le noyau arqué de l'hypothalamus est considéré comme une des structures responsables de la prise alimentaire et du métabolisme énergétique grâce à son réseau de neurones neuroendocrines à la Proopiomelanocortin (POMC) ou à l'Agouti-Related Peptide (AgRP), respectivement anorexigène et orexigène¹⁶⁴. La BHE au niveau du troisième ventricule est partiellement constituée de tanocytes, un type cellulaire dont les corps cellulaires tapissent le plancher du troisième ventricule¹⁶⁵. Ces tanocytes sont connus pour être le capteur métabolique de nutriments et d'hormones nutritionnelles comme le glucose, la leptine ou la ghreline¹⁶⁶. L'idée que les incrétinomimétiques puissent franchir la BHE au niveau du troisième ventricule est bien documentée, bien que les mécanismes cellulaires ne soient pas encore parfaitement connus¹⁶⁷⁻¹⁶⁹. Comme le GLP1R est exprimé par les tanocytes¹⁶³, le GLP-1 plasmatique pourrait avoir un effet central. Cependant, cette hypothèse entre en contradiction avec l'idée d'une action paracrine, et non endocrine, du GLP-1. Nous pouvons ainsi supposer que : d'une part, le GLP-1 sécrété par les cellules L a pour but d'induire une réponse rapide du GLP1R au niveau intestinal, d'autre part, que le GLP-1 plasmatique peut activer le GLP1R exprimé par la BHE dans un second temps (**Fig.30**).

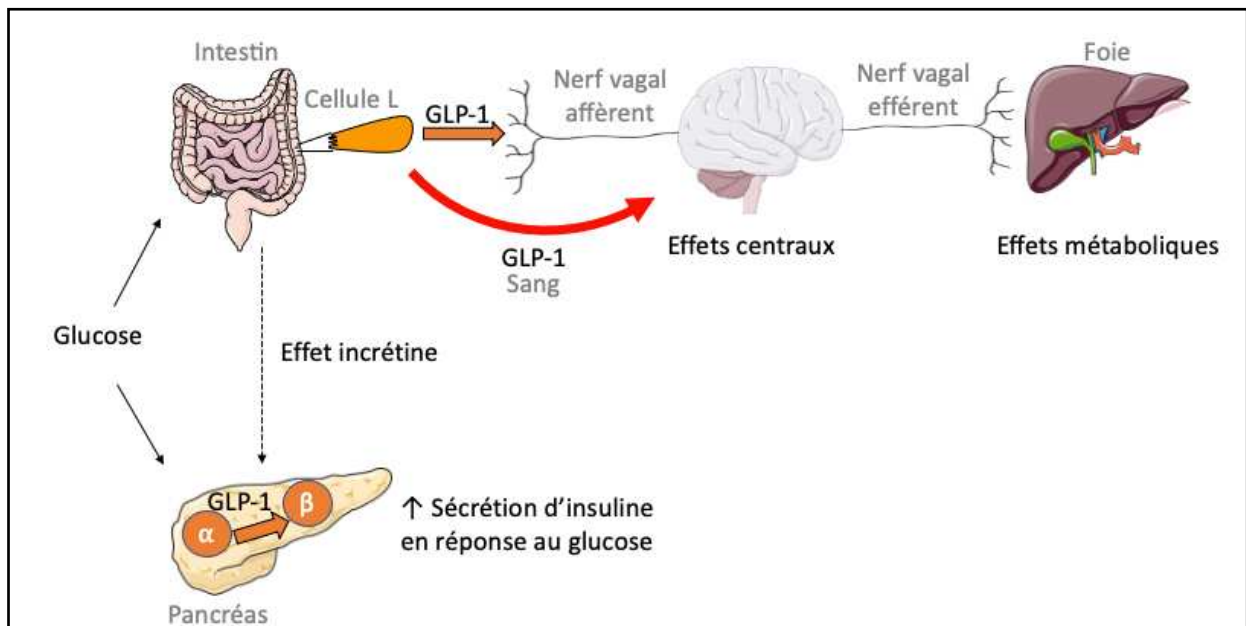


Figure 30 : Modèle de l'action du GLP-1 en paracrine puis activation du GLP1R exprimé au niveau de la BHE. Dans ce modèle, les hypothèses du modèle « paracrine » sont conservés (Fig.29) avec l'effet mineur du GLP-1 intestinale sur la sécrétion de l'insuline en réponse au glucose, mais avec une activité au niveau de la BHE, notamment sur la satiété. A noter que le GLP-1 sécrété par le système nerveux central n'est pas pris en compte dans ce schéma.

Les incrétinomimétiques ont des demi-vies plasmatiques beaucoup plus longues que le GLP-1 endogène, et peuvent donc potentiellement saturer le GLP1R de la BHE plus intensément et plus longtemps que le pic plasmatique de GLP-1 en réponse au glucose. Ainsi, les incrétinomimétiques pourraient exacerber les effets centraux du GLP-1, expliquant potentiellement la différence manifeste d'effets avec le GLP-1 intestinal endogène.

Afin de dissocier les effets centraux et les effets périphériques, il serait possible de réaliser une vagotomie dans un modèle préclinique. Néanmoins il est impossible de distinguer le nerf afférent de l'efférent et donc impossible de couper uniquement le sens de communication de l'intestin vers le cerveau. Si les effets centraux de diminution de la vidange gastrique et de perte de poids passent par le nerf vague efférent, alors les effets centraux seraient également perdus avec ce modèle. Ainsi, induire une délétion de l'expression du GLP1R au niveau du nerf vague afférent serait un modèle potentiellement intéressant, bien que complexe.

IV.i.c. L'activation de TGR5 induit-elle une sécrétion d'autres peptides gastro-intestinaux dont les effets pourraient s'opposer à l'action du GLP-1 ?

La sécrétion du GLP-1 est induite suite à l'activation de TGR5 sur les cellules entéro-endocrines L. Comme vu précédemment, le GLP-1 est une hormone avec des propriétés anorexigènes et insulinosécrétagogues. Dans ces cellules entéro-endocrines L, le GLP-1 est co-stocké et co-sécrété avec de nombreux peptides¹⁷⁰. Notamment l'Insl5, une hormone orexigène¹⁷¹ à l'inverse du GLP-1, qui pourrait atténuer ou inhiber les effets du GLP-1 si elle était co-sécrétée. D'autre part, le GLP-2 est co-sécrété par les cellules L en même quantité que le GLP-1. Plusieurs études rapportent des observations contradictoires sur les effets du GLP-2 dans le contexte de stéatose^{107,172,173}. Ainsi, le rôle du GLP-2 dans un contexte de NAFLD n'est pas élucidé à ce jour, il est méconnu si ce GLP-2 pourrait atténuer les effets hépatiques bénéfiques du GLP-1. Le PYY, une autre hormone anorexigène comme le GLP-1 est également co-sécrétée. Utilisant un modèle pré-clinique murin, il semble que dans l'association GLP-1+PYY, le GLP-1 régulerait de manière plus importante la tolérance au glucose et le PYY l'apport alimentaire. A noter que le récepteur au PYY modulant cet apport alimentaire (Y2R) présente un risque de désensibilisation persistante¹⁷⁴ pouvant avoir lieu dans les modèles pré-cliniques d'activation pharmacologique de TGR5 si le PYY est également fortement sécrété. Enfin, le GIP (anorexigène) est également co-sécrété, mais son récepteur présente un risque de désensibilisation comme vu précédemment (cf partie I.ii.a)⁵⁵. Il est possible de réaliser une mesure structurelle en spectrométrie de masse des peptides co-sécrétés avec le GLP-1, notamment de l'Insl5, mais la mise en œuvre d'un tel dosage *in vivo* n'est pas envisageable. Si un de ces peptides sécrétés en grande quantité contre-carre les effets du GLP-1 intestinal, il serait cohérent de ne pas observer les mêmes effets que par l'apport exogène d'une forme unique du GLP-1 à longue demi-vie comme le liraglutide.

IV.ii. Le modèle murin est-il un bon modèle de *proof-of-concept* dans le contexte de la maladie métabolique ?

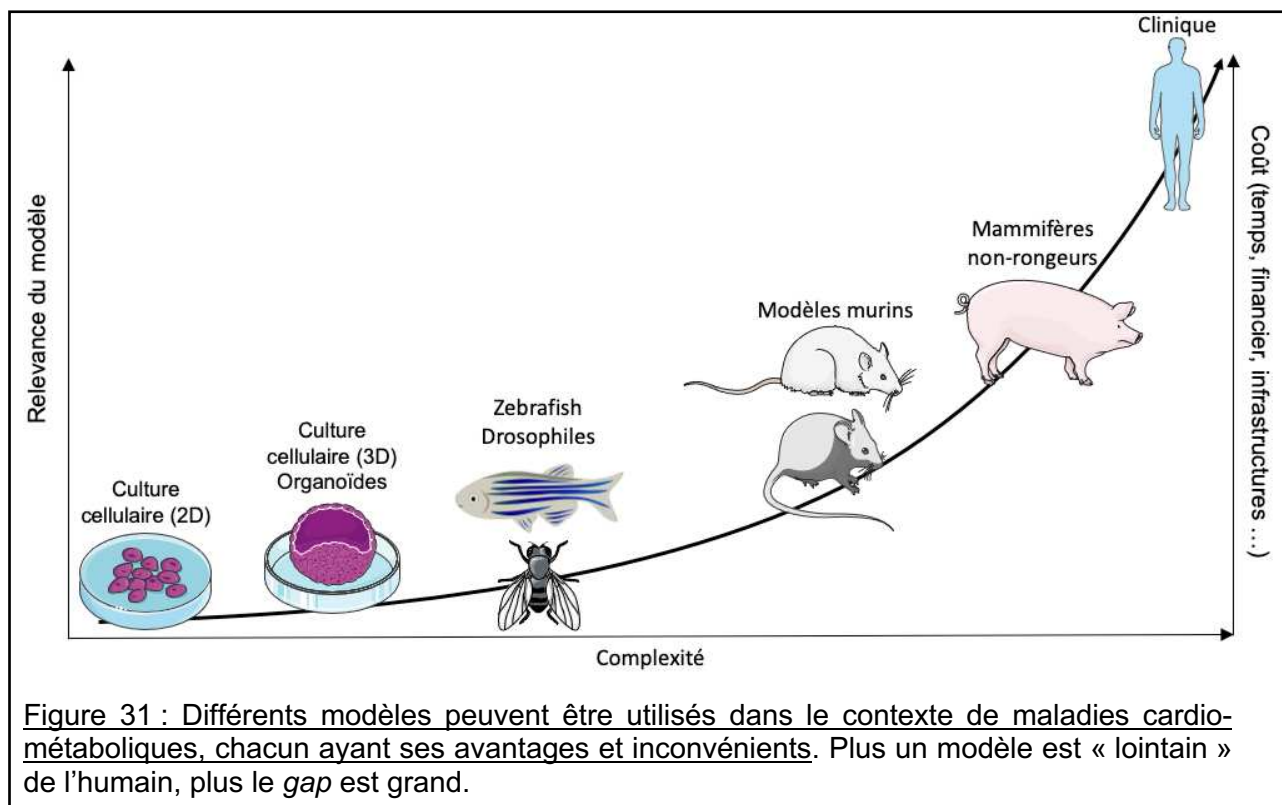
Tout modèle pré-clinique, donc par définition non-humain, présente un « écart à la réalité clinique » appelé *gap*. Plus un modèle est proche de l'humain, plus le *gap* est petit, mais plus la complexité et le coût de l'étude augmente (**Fig.31**).

Il existe des modèles de cultures cellulaires, plus ou moins complexes, *in-vitro* : 1) les lignées de cellules immortalisées sont régulièrement utilisées car rapides à se diviser (en comparaison au temps de reproduction avec un modèle animal) et facilement manipulables génétiquement et dans la composition du milieu de culture, néanmoins le *gap* est le plus grand car il s'agit de cellules non organisées. 2) les cultures cellulaires primaires sont des cellules isolées non immortalisées, réduisant légèrement le *gap*. 3) les organoïdes sont des cultures cellulaires en 3 dimensions, mimant une fonction bien particulière d'un organe présentant donc l'avantage d'une organisation tissulaire plus complexe. Ces modèles d'organoïdes sont récents^{175,176} et offrent une réduction du *gap* très intéressante. 4) l'isolement de structure *ex-vivo*, par exemple l'isolement d'îlot de Langerhans humains. Ce modèle a l'avantage d'être très proche du fonctionnement d'un organe humain, mais il faut avoir accès aux tissus d'un donneur d'organes avec une diversité génétique non-évitable.

Dans le contexte de la recherche cardio-métabolique tous ces modèles cellulaires présentent le désavantage de n'avoir aucune communication inter-organe, pourtant clé dans la physiopathologie du syndrome métabolique ou dans le fonctionnement d'hormones comme le GLP-1 avec une activité multi-organe.

Les modèles *in-vivo* sont très utilisés en recherche cardio-métabolique. Les modèles murins principalement utilisés sont les rats et les souris, et de nombreuses revues de la littérature s'intéressent à la variété de modèles et à leurs avantages/inconvénients¹⁷⁷⁻¹⁸⁰. Ces modèles murins, principalement la souris, ont l'avantage notable d'être facilement manipulables, génétiquement modifiés pour étudier une protéine particulière (le GLP-1 ou le GLP1R par exemple), peuvent être nourris de tous types de régimes riches en graisse ou en sucre. Néanmoins, ces modèles ont des inconvénients dus à l'espèce. Par exemple, l'anatomie du pancréas, organe clé dans le syndrome métabolique est sous forme diffuse, non bien-défini comme chez l'humain¹⁸¹. La constitution des espèces d'acides biliaires est très

différente chez le rongeur par rapport à l'humain¹⁸², éléments laissant penser à des rôles légèrement différents du métabolisme et de l'activité des acides biliaires, notamment avec les récepteurs comme TGR5. Lors d'essais précliniques pharmacologiques avec administration d'un composé par gavage, la dose administrée est parfaitement contrôlée. Néanmoins, les rongeurs sont coprophages et peuvent donc ingérer le composé pharmacologique si son élimination est fécale (ce qui est le cas des agonistes topiques intestinaux de TGR5), induisant une possible variabilité de la dose réellement ingérée. Enfin, les rongeurs ont un cycle circadien inversé par rapport à l'humain, les expérimentations étant donc réalisées dans leurs phases de repos. Ce facteur confondant s'est déjà révélé très important dans des essais précliniques réussis mais infructueux au passage chez l'humain dans le cas des AVC¹⁸³. Le rythme circadien est de grande importance dans le contexte des maladies cardio-métaboliques, l'absence d'horaires biologiques fixes étant un facteur de risque important pour ces maladies^{184,185,186}. De plus, la sécrétion de GLP-1 est également dépendante du cycle circadien chez la souris et chez l'humain¹⁸⁷⁻¹⁹⁰. Ainsi, les expérimentations réalisées chez la souris lors de leurs phases de repos représentent potentiellement un élargissement du *gap* important.



Il est possible d'utiliser des modèles de mammifères non rongeurs comme le porc. Néanmoins, ces modèles sont rarement utilisés car il n'est pas possible de rendre un porc insulino-résistant, obèse ou d'induire une NASH. De plus, les effectifs nécessaires lors d'essais précliniques sont trop importants par rapport au nombre de porcs réellement utilisables. Ainsi, ces modèles sont plutôt utilisés dans des contextes de chirurgie, notamment la chirurgie bariatrique¹⁹¹.

D'autres modèles d'animaux non-mammifères existent dans le contexte des maladies cardio-métaboliques, en particulier du diabète, comme le zebrafish¹⁹² ou la drosophile¹⁹³ mais sont très rarement utilisés car le *gap* est plus important qu'avec un modèle de mammifère rongeur.

Ainsi, avec ces données, le meilleur modèle actuellement disponible pour étudier le GLP-1 reste un modèle rongeur sous une alimentation riche en graisse et en sucre, bien que des incohérences pourraient être observées entre ce modèle et l'humain, notamment en thérapeutique avec l'importance du moment de la journée ou les différences biologiques intrinsèques aux espèces. Il serait donc possible et judicieux de raffiner ces modèles, notamment en « humanisant » la composition des acides biliaires dans l'étude du récepteur TGR5 et en travaillant dans le moment de la journée active de la souris à l'aide d'armoire à lumières inversées par exemple.

V. Conclusions

V.i. Les incrétinomimétiques dans le syndrome métabolique

Comme vu précédemment, les incrétinomimétiques sont efficaces dans le traitement de diverses manifestations du syndrome métabolique, notamment l'obésité, le diabète et la NASH. Plusieurs éléments laissent penser que le réel mécanisme d'action de ces molécules n'est pas simplement d'induire une amélioration de la sécrétion de l'insuline en réponse au glucose. Un aspect très important et central de ces molécules est la diminution du poids corporel, passant très certainement par un effet central. L'autorité américaine du médicament, la FDA, a d'ailleurs récemment approuvé l'utilisation du Saxenda® (liraglutide) pour la gestion chronique du poids corporel chez les patients obèses ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) de 12 ans et plus. De manière générale, dans les essais cliniques, l'amélioration des paramètres métaboliques semblent être fortement

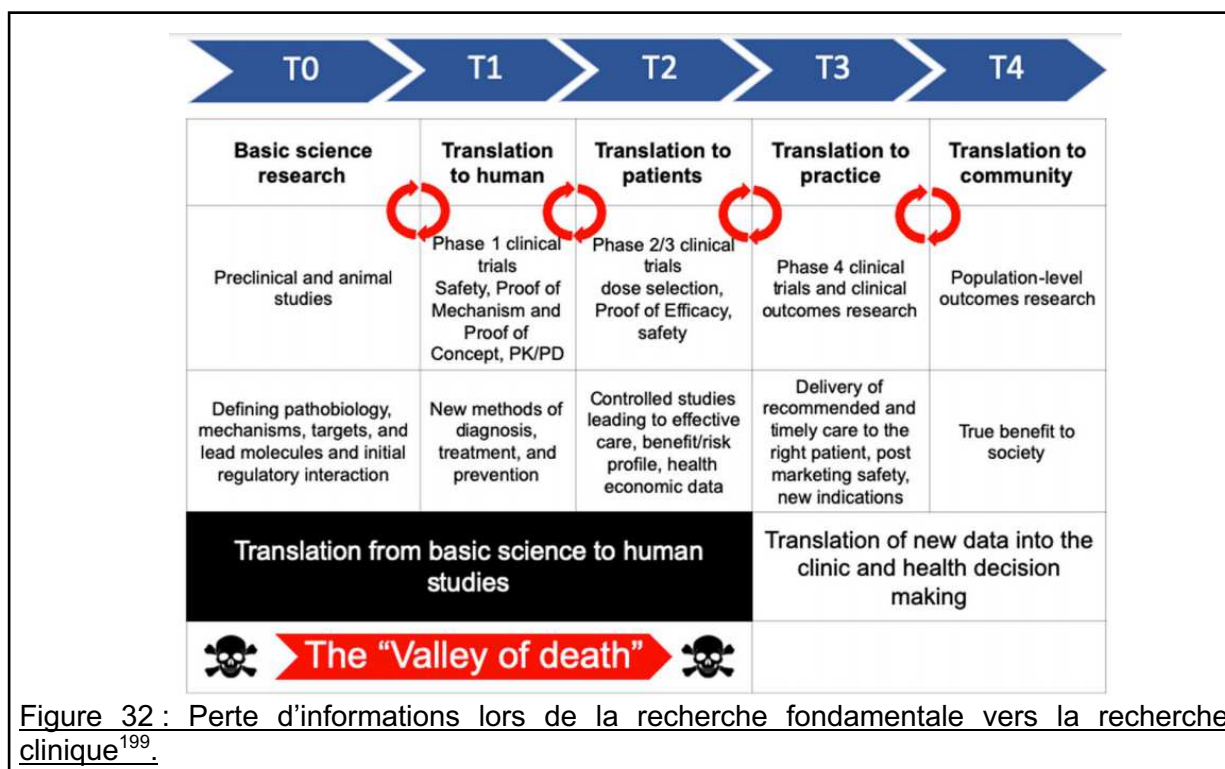
corrélés à la diminution du poids corporel¹⁹⁴, d'environ 2 à 6kg en moyenne¹⁹⁵, bien que tous les effets bénéfiques ne soient pas uniquement dus à la perte de poids⁸⁵. De manière notable, les incrétinomimétiques induisent une réduction du nombre d'évènements cardiovasculaires¹⁹⁶, première cause de décès dans le syndrome métabolique. Ainsi, ces molécules sont efficaces dans le syndrome métabolique pour améliorer le contrôle glycémique et prévenir d'évènements cardiovasculaires, bien qu'ils ne semblent pas surpasser les effets de la metformine dans la gestion de la glycémie ou des inhibiteurs de SGLT2 dans la réduction des évènements cardiovasculaires¹⁹⁷. Ainsi, il est important de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de la perte de poids, élément où les incrétinomimétiques semblent être les plus efficaces avec l'arsenal thérapeutique pharmacologique actuel, pour optimiser cet effet. Plus particulièrement, il serait intéressant de montrer comment ces molécules interagissent avec la BHE en expliquant les différences observées entre les molécules au sein de cette même classe thérapeutique¹⁶³. Il serait également intéressant de mieux étudier la fonction du GLP-1 endogène (intestinal, pancréatique et central) au regard des résultats obtenus avec les incrétinomimétiques pour améliorer notre compréhension de l'utilité biologique de cette hormone.

V.ii. Réorientation de molécules en échec préclinique vers la recherche fondamentale

Plusieurs auteurs font l'observation d'un manque de communication entre la recherche fondamentale et le développement clinique^{198,199}. Malgré des efforts conjoints pour améliorer la qualité des données grâce à la recherche translationnelle²⁰⁰⁻²⁰², ce qui peut être décrit comme une « vallée de la mort »¹⁹⁹ de ressources est observée. D'une part, la qualité des données de la recherche fondamentale est assez bonne pour isoler des nouvelles cibles thérapeutiques et des nouveaux biomarqueurs de maladies. D'autre part, le développement clinique est efficace pour déterminer si une procédure ou un médicament est efficace. Néanmoins les ressources dans la littérature disponible pour développer efficacement de nouvelles thérapeutiques sont imparfaites. Un manque de reproductibilité, un choix de modèle peu pertinent, et un rationnel scientifique incomplet en sont les principales causes (**Fig.32**).

Afin d'affiner cette transition entre la recherche fondamentale et le développement clinique, plusieurs améliorations peuvent être réalisées, notamment le repositionnement de molécules en échec préclinique vers la recherche fondamentale. L'étude des agonistes de TGR5 dans le contexte de maladies cardio-métaboliques met en lumière cet aspect important. Le développement de candidats-médicaments a une grande chance d'échouer dès la phase préclinique. Très régulièrement, ces composés sont alors abandonnés, sans communication d'échec de développement envers la communauté scientifique. Comme vu précédemment, les agonistes de TGR5 topiques intestinaux peuvent devenir des outils-pharmacologiques pour mieux étudier les fonctions de TGR5 intestinal, et par conséquent du GLP-1. De manière plus générale, l'échec de molécules en préclinique en raison d'un manque d'efficacité souligne un rationnel scientifique incomplet et la recherche fondamentale pourrait bénéficier d'un retour de résultats concernant les cibles thérapeutiques.

Ainsi, au regard des échecs et des réussites précliniques, la communauté scientifique pourrait orienter plus efficacement ses recherches et ses hypothèses. D'un point de vue du développement pharmacologique, cela pourrait permettre de repositionner certaines molécules existantes vers une nouvelle indication. Par exemple, avec l'utilisation des agonistes de TGR5 dans un contexte d'inflammation intestinale.



Les effets observés en clinique à l'aide de composés pharmacologiques sont régulièrement extrapolés à la recherche fondamentale sans intermédiaires translationnels. Dans notre contexte, les effets des agonistes au GLP1R sont assimilés au GLP-1 endogène, alors que les recherches actuelles montrent que cette extrapolation n'est que partiellement correcte. Ainsi, un repositionnement de molécules utilisés en clinique vers la recherche fondamentale pourrait améliorer la transition entre la recherche fondamentale, la recherche pharmacologique, et le développement clinique.

VI. Bibliographie

- 1 Syndrome métabolique – Risque cardiométabolique. Nutrition Bichat - santé connectée. 2015.<http://hupnvs.aphp.fr/nutritionbichat/syndrome-metabolique-risque-cardiometabolique/> (accessed 28 May2021).
- 2 Després J-P, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome[J]. *Nature* 2007; **444**: 881–7.
- 3 Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E. Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PLoS One* 2018; **13**. doi:10.1371/journal.pone.0194127.
- 4 Oda E. Metabolic syndrome: its history, mechanisms, and limitations. *Acta Diabetol* 2012; **49**: 89–95.
- 5 Ageno W, Prandoni P, Romualdi E, Ghirarduzzi A, Dentali F, Pesavento R *et al.* The metabolic syndrome and the risk of venous thrombosis: a case-control study. *J Thromb Haemost* 2006; **4**: 1914–1918.
- 6 Perrone-Filardi P, Paolillo S, Costanzo P, Savarese G, Trimarco B, Bonow RO. The role of metabolic syndrome in heart failure. *European Heart Journal* 2015; **36**: 2630–2634.
- 7 Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz J-M, Lustig R. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 2010; **7**: 251–64.
- 8 Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis Model Mech* 2009; **2**: 231–237.
- 9 Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine* 2017; **377**: 13–27.
- 10 OMS | Programme Diabète de l’OMS. WHO. <http://www.who.int/diabetes/fr/> (accessed 4 Jan2019).
- 11 Moore JX. Metabolic Syndrome Prevalence by Race/Ethnicity and Sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–2012. *Prev Chronic Dis* 2017; **14**. doi:10.5888/pcd14.160287.
- 12 Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulin resistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2012; **19**: 81–87.
- 13 Lemieux S, Prud’homme D, Bouchard C, Tremblay A, Després JP. Sex differences in the relation of visceral adipose tissue accumulation to total body fatness. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1993; **58**: 463–467.
- 14 Pedersen SB, Kristensen K, Hermann PA, Katzenellenbogen JA, Richelsen B. Estrogen controls lipolysis by up-regulating alpha2A-adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor alpha. Implications for the female fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 1869–1878.
- 15 Gavin KM, Cooper EE, Hickner RC. Estrogen receptor protein content is different in abdominal than gluteal subcutaneous adipose tissue of overweight-to-obese premenopausal women. *Metabolism* 2013; **62**: 1180–1188.

- 16 Palmer BF, Clegg DJ. The sexual dimorphism of obesity. *Mol Cell Endocrinol* 2015; **0**: 113–119.
- 17 Sattar N. Gender aspects in type 2 diabetes mellitus and cardiometabolic risk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013; **27**: 501–507.
- 18 Lipscombe LL, Hux JE. Trends in diabetes prevalence, incidence, and mortality in Ontario, Canada 1995-2005: a population-based study. *Lancet* 2007; **369**: 750–756.
- 19 Roberts CK, Hevener AL, Barnard RJ. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance: Underlying Causes and Modification by Exercise Training. *Compr Physiol* 2013; **3**: 1–58.
- 20 Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 2012; **148**: 852–871.
- 21 Sorenson RL, Brelje TC, Roth C. Effect of tyrosine kinase inhibitors on islets of Langerhans: evidence for tyrosine kinases in the regulation of insulin secretion. *Endocrinology* 1994; **134**: 1975–1978.
- 22 Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; **414**: 799–806.
- 23 Zhang X, Cui X, Li F, Wang S, Liu X, Hui L *et al*. Association between diabetes mellitus with metabolic syndrome and diabetic microangiopathy. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2014; **8**: 1867–1873.
- 24 Jung K-H, Chu K, Lee S-T, Bahn J-J, Kim J-H, Kim M *et al*. Risk of macrovascular complications in type 2 diabetes mellitus: endothelial microparticle profiles. *Cerebrovasc Dis* 2011; **31**: 485–493.
- 25 Katakami N. Mechanism of Development of Atherosclerosis and Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus. *J Atheroscler Thromb* 2018; **25**: 27–39.
- 26 Almdal T, Scharling H, Jensen JS, Vestergaard H. The Independent Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on Ischemic Heart Disease, Stroke, and Death: A Population-Based Study of 13 000 Men and Women With 20 Years of Follow-up. *Arch Intern Med* 2004; **164**: 1422.
- 27 Chen R, Ovbiagele B, Feng W. Diabetes and Stroke: Epidemiology, Pathophysiology, Pharmaceuticals and Outcomes. *Am J Med Sci* 2016; **351**: 380–386.
- 28 Pendsey SP. Understanding diabetic foot. *Int J Diabetes Dev Ctries* 2010; **30**: 75–79.
- 29 Fernandez CJ, George AS, Subrahmanyam NA, Pappachan JM. Epidemiological link between obesity, type 2 diabetes mellitus and cancer. *World J Methodol* 2021; **11**: 23–45.
- 30 Mirmiran P, Bahadoran Z, Ghasemi A, Hosseinpanah F. Type 2 Diabetes and Cancer: An Overview of Epidemiological Evidence and Potential Mechanisms. *Critical reviews in oncogenesis* 2019; **24**. doi:10.1615/CritRevOncog.2019031153.
- 31 Mahalle N, Garg MK, Naik SS, Kulkarni MV. Study of pattern of dyslipidemia and its correlation with cardiovascular risk factors in patients with proven coronary artery disease. *Indian J Endocrinol Metab* 2014; **18**: 48–55.
- 32 Aradine E, Hou Y, Cronin CA, Chaturvedi S. Current Status of Dyslipidemia Treatment for Stroke Prevention. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2020; **20**: 31.

- 33 Duvnjak L. Hypertension and the Metabolic Syndrome. *EJIFCC* 2007; **18**: 55–60.
- 34 Underwood PC, Adler GK. The Renin Angiotensin Aldosterone System and Insulin Resistance in Humans. *Curr Hypertens Rep* 2013; **15**: 59–70.
- 35 Bravo PE, Morse S, Borne DM, Aguilar EA, Reisin E. Leptin and Hypertension in Obesity. *Vasc Health Risk Manag* 2006; **2**: 163–169.
- 36 Chagnac A, Herman M, Zingerman B, Erman A, Rozen-Zvi B, Hirsh J *et al*. Obesity-induced glomerular hyperfiltration: its involvement in the pathogenesis of tubular sodium reabsorption. *Nephrol Dial Transplant* 2008; **23**: 3946–3952.
- 37 Wan EYF, Fung WT, Schooling CM, Au Yeung SL, Kwok MK, Yu EYT *et al*. Blood Pressure and Risk of Cardiovascular Disease in UK Biobank. *Hypertension* 2021; **77**: 367–375.
- 38 Eslam M, Sanyal AJ, George J, International Consensus Panel. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2020; **158**: 1999-2014.e1.
- 39 Kozlitina J. Genetic Risk Factors and Disease Modifiers of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2020; **49**: 25–44.
- 40 Parthasarathy G, Revelo X, Malhi H. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis: An Overview. *Hepatology Communications* 2020; **4**: 478–492.
- 41 Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 2008; **118**: 829–838.
- 42 Haas JT, Francque S, Staels B. Pathophysiology and Mechanisms of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu Rev Physiol* 2016; **78**: 181–205.
- 43 Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science* 2011; **332**: 1519–1523.
- 44 El-Agroudy NN, Kurzbach A, Rodionov RN, O’Sullivan J, Roden M, Birkenfeld AL *et al*. Are Lifestyle Therapies Effective for NAFLD Treatment? *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2019; **30**: 701–709.
- 45 Nguyen N, Varela E. Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: state of the art. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2016; **14**. doi:10.1038/nrgastro.2016.170.
- 46 Cholangite biliaire primitive (PBC). GENFIT. <https://www.genfit.fr/aires-therapeutiques/cholangite-biliaire-primitive-pbc/> (accessed 1 Jul2021).
- 47 Mummadi RR, Kasturi KS, Chennareddygar S, Sood GK. Effect of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; **6**: 1396–1402.
- 48 Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J *et al*. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterology* 2015; **149**: 379–388; quiz e15-16.
- 49 Hutch CR, Sandoval D. The Role of GLP-1 in the Metabolic Success of Bariatric Surgery. *Endocrinology* 2017; **158**: 4139–4151.

- 50 Müller TD, Finan B, Bloom SR, D'Alessio D, Drucker DJ, Flatt PR *et al.* Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). *Mol Metab* 2019; **30**: 72–130.
- 51 Bayliss WM, Starling EH. The mechanism of pancreatic secretion. *The Journal of Physiology* 1902; **28**: 325–353.
- 52 Bhavsar S, Mudaliar S, Cherrington A. Evolution of Exenatide as a Diabetes Therapeutic. *Curr Diabetes Rev* 2013; **9**: 161–193.
- 53 Campbell JE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab* 2013; **17**: 819–837.
- 54 Salehi M, Aulinger B, Prigeon RL, D'Alessio DA. Effect of endogenous GLP-1 on insulin secretion in type 2 diabetes. *Diabetes* 2010; **59**: 1330–1337.
- 55 Nauck MA, Kleine N, Orskov C, Holst JJ, Willms B, Creutzfeldt W. Normalization of fasting hyperglycaemia by exogenous glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1993; **36**: 741–744.
- 56 Lafferty RA, O'Harte FPM, Irwin N, Gault VA, Flatt PR. Proglucagon-Derived Peptides as Therapeutics. *Front Endocrinol* 2021; **12**. doi:10.3389/fendo.2021.689678.
- 57 Handgraaf S, Dusaulcy R, Visentin F, Philippe J, Gosmain Y. 17- β Estradiol regulates proglucagon-derived peptide secretion in mouse and human α - and L cells. *JCI Insight* 2018; **3**. doi:10.1172/jci.insight.98569.
- 58 D Wideman R, Covey S, C Webb G, J Drucker D, J Kieffer T. A Switch From Prohormone Convertase (PC)-2 to PC1/3 Expression in Transplanted β -Cells Is Accompanied by Differential Processing of Proglucagon and Improved Glucose Homeostasis in Mice. *Diabetes* 2007; **56**: 2744–52.
- 59 Garmendia O, Rodríguez MP, Burrell MA, Villaro AC. Immunocytochemical finding of the amidating enzymes in mouse pancreatic A-, B-, and D-cells: a comparison with human and rat. *J Histochem Cytochem* 2002; **50**: 1401–1416.
- 60 Donlon J, Ryan P. Peptidylglycine monooxygenase activity of monomeric species of growth hormone. *Heliyon* 2019; **5**: e02436.
- 61 Rolin B, Deacon CF, Carr RD, Ahrén B. The major glucagon-like peptide-1 metabolite, GLP-1-(9-36)-amide, does not affect glucose or insulin levels in mice. *Eur J Pharmacol* 2004; **494**: 283–288.
- 62 Esser N, Barrow BM, Choung E, Shen NJ, Zraika S. Neprilysin inhibition in mouse islets enhances insulin secretion in a GLP-1 receptor dependent manner. *Islets* 2018; **10**: 175–180.
- 63 Knudsen LB, Pridal L. Glucagon-like peptide-1-(9-36) amide is a major metabolite of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide after in vivo administration to dogs, and it acts as an antagonist on the pancreatic receptor. *Eur J Pharmacol* 1996; **318**: 429–435.
- 64 Deacon CF. Circulation and Degradation of GIP and GLP-1. *Horm Metab Res* 2004; **36**: 761–765.
- 65 Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept* 1999; **85**: 9–24.

- 66 Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* 2007; **87**: 1409–1439.
- 67 Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, Holst JJ, Deacon CF, Gaeckler D *et al.* Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects. *Diabetes* 2004; **53**: 654–662.
- 68 Koole C, Pabreja K, Savage EE, Wootten D, Furness SGB, Miller LJ *et al.* Recent advances in understanding GLP-1R (glucagon-like peptide-1 receptor) function. *Biochemical Society Transactions* 2013; **41**: 172–179.
- 69 Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab* 2006; **3**: 153–165.
- 70 Krieger J-P, Arnold M, Pettersen KG, Lossel P, Langhans W, Lee SJ. Knockdown of GLP-1 Receptors in Vagal Afferents Affects Normal Food Intake and Glycemia. *Diabetes* 2016; **65**: 34–43.
- 71 Mulvihill EE. Regulation of intestinal lipid and lipoprotein metabolism by the proglucagon-derived peptides glucagon like peptide 1 and glucagon like peptide 2. *Curr Opin Lipidol* 2018; **29**: 95–103.
- 72 Pugazhenti U, Velmurugan K, Tran A, Mahaffey G, Pugazhenti S. Anti-inflammatory action of exendin-4 in human islets is enhanced by phosphodiesterase inhibitors: potential therapeutic benefits in diabetic patients. *Diabetologia* 2010; **53**: 2357–2368.
- 73 Gutzwiller J-P, Tschopp S, Bock A, Zehnder CE, Huber AR, Kreyenbuehl M *et al.* Glucagon-like peptide 1 induces natriuresis in healthy subjects and in insulin-resistant obese men. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 3055–3061.
- 74 de Heer J, Rasmussen C, Coy DH, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, inhibits glucagon secretion via somatostatin (receptor subtype 2) in the perfused rat pancreas. *Diabetologia* 2008; **51**: 2263–2270.
- 75 Zhao T, Parikh P, Bhashyam S, Bolukoglu H, Poornima I, Shen Y-T *et al.* Direct effects of glucagon-like peptide-1 on myocardial contractility and glucose uptake in normal and posts ischemic isolated rat hearts. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; **317**: 1106–1113.
- 76 Gupta NA, Mells J, Dunham RM, Grakoui A, Handy J, Saxena NK *et al.* Glucagon-like peptide-1 receptor is present on human hepatocytes and has a direct role in decreasing hepatic steatosis in vitro by modulating elements of the insulin signaling pathway. *Hepatology* 2010; **51**: 1584–1592.
- 77 Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W. Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; **91**: 301–307.
- 78 Biftu T, Sinha-Roy R, Chen P, Qian X, Feng D, Kuethe JT *et al.* Omarigliptin (MK-3102): a novel long-acting DPP-4 inhibitor for once-weekly treatment of type 2 diabetes. *J Med Chem* 2014; **57**: 3205–3212.
- 79 Krishna R, Addy C, Tatosian D, Glasgow XS, Gendrano III IN, Robberechts M *et al.* Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Omarigliptin, a Once-Weekly Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) Inhibitor, After Single and Multiple Doses in Healthy Subjects. *J Clin Pharmacol* 2016; **56**: 1528–1537.

- 80 Deacon CF, Knudsen LB, Madsen K, Wiberg FC, Jacobsen O, Holst JJ. Dipeptidyl peptidase IV resistant analogues of glucagon-like peptide-1 which have extended metabolic stability and improved biological activity. *Diabetologia* 1998; **41**: 271–278.
- 81 Knudsen LB, Lau J. The Discovery and Development of Liraglutide and Semaglutide. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; **10**: 155.
- 82 Granhall C, Donsmark M, Blicher TM, Golor G, Søndergaard FL, Thomsen M *et al.* Safety and Pharmacokinetics of Single and Multiple Ascending Doses of the Novel Oral Human GLP-1 Analogue, Oral Semaglutide, in Healthy Subjects and Subjects with Type 2 Diabetes. *Clin Pharmacokinet* 2019; **58**: 781–791.
- 83 Commissioner O of the. FDA approves first oral GLP-1 treatment for type 2 diabetes. FDA. 2020.<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-oral-glp-1-treatment-type-2-diabetes> (accessed 4 Jul2021).
- 84 RYBELSUS (sémaglutide). Haute Autorité de Santé. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3225389/fr/rybelsus-semaglutide (accessed 4 Jul2021).
- 85 Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R *et al.* Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet* 2016; **387**: 679–690.
- 86 Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, Tamai Y, Okada H, Sugiyama E *et al.* Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR). *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **298**: 714–719.
- 87 Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, Tu H, Learned RM, Luk A *et al.* Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science* 1999; **284**: 1362–1365.
- 88 Duboc H, Taché Y, Hofmann AF. The bile acid TGR5 membrane receptor: from basic research to clinical application. *Dig Liver Dis* 2014; **46**: 302–312.
- 89 Keitel V, Donner M, Winandy S, Kubitz R, Häussinger D. Expression and function of the bile acid receptor TGR5 in Kupffer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2008; **372**: 78–84.
- 90 Tiwari A, Maiti P. TGR5: an emerging bile acid G-protein-coupled receptor target for the potential treatment of metabolic disorders. *Drug Discov Today* 2009; **14**: 523–530.
- 91 Watanabe M, Houten SM, Matakai C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H *et al.* Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature* 2006; **439**: 484–489.
- 92 Pellicciari R, Gioiello A, Macchiarulo A, Thomas C, Rosatelli E, Natalini B *et al.* Discovery of 6 α -ethyl-23(S)-methylcholic acid (S-EMCA, INT-777) as a potent and selective agonist for the TGR5 receptor, a novel target for diabetes. *J Med Chem* 2009; **52**: 7958–7961.
- 93 Budzik BW, Evans KA, Wisnoski DD, Jin J, Rivero RA, Szewczyk GR *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of a series of 3-aryl-4-isoxazolecarboxamides as a new class of TGR5 agonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; **20**: 1363–1367.
- 94 Piotrowski DW, Futatsugi K, Warmus JS, Orr STM, Freeman-Cook KD, Londregan AT *et al.* Identification of Tetrahydropyrido[4,3-d]pyrimidine Amides as a New Class of Orally Bioavailable TGR5 Agonists. *ACS Med Chem Lett* 2013; **4**: 63–68.

- 95 Martin RE, Bissantz C, Gavelle O, Kuratli C, Dehmlow H, Richter HGF *et al.* 2-Phenoxy-nicotinamides are potent agonists at the bile acid receptor GPBAR1 (TGR5). *ChemMedChem* 2013; **8**: 569–576.
- 96 Dehmlow H, Alvarez Sánchez R, Bachmann S, Bissantz C, Bliss F, Conde-Knape K *et al.* Discovery and optimisation of 1-hydroxyimino-3,3-diphenylpropanes, a new class of orally active GPBAR1 (TGR5) agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2013; **23**: 4627–4632.
- 97 Phillips DP, Gao W, Yang Y, Zhang G, Lerario IK, Lau TL *et al.* Discovery of trifluoromethyl(pyrimidin-2-yl)azetidine-2-carboxamides as potent, orally bioavailable TGR5 (GPBAR1) agonists: structure-activity relationships, lead optimization, and chronic in vivo efficacy. *J Med Chem* 2014; **57**: 3263–3282.
- 98 Briere DA, Ruan X, Cheng CC, Siesky AM, Fitch TE, Dominguez C *et al.* Novel Small Molecule Agonist of TGR5 Possesses Anti-Diabetic Effects but Causes Gallbladder Filling in Mice. *PLoS ONE* 2015; **10**: e0136873.
- 99 Agarwal S, Patil A, Aware U, Deshmukh P, Darji B, Sasane S *et al.* Discovery of a Potent and Orally Efficacious TGR5 Receptor Agonist. *ACS Med Chem Lett* 2016; **7**: 51–55.
- 100 Zhang X, Wall M, Sui Z, Kauffman J, Hou C, Chen C *et al.* Discovery of Orally Efficacious Tetrahydrobenzimidazoles as TGR5 Agonists for Type 2 Diabetes. *ACS Med Chem Lett* 2017; **8**: 560–565.
- 101 Li T, Holmstrom SR, Kir S, Umetani M, Schmidt DR, Kliewer SA *et al.* The G protein-coupled bile acid receptor, TGR5, stimulates gallbladder filling. *Mol Endocrinol* 2011; **25**: 1066–1071.
- 102 Lavoie B, Balemba OB, Godfrey C, Watson CA, Vassileva G, Corvera CU *et al.* Hydrophobic bile salts inhibit gallbladder smooth muscle function via stimulation of GPBAR1 receptors and activation of KATP channels. *J Physiol (Lond)* 2010; **588**: 3295–3305.
- 103 Keitel V, Reich M, Häussinger D. TGR5: Pathogenetic Role and/or Therapeutic Target in Fibrosing Cholangitis? *Clinic Rev Allerg Immunol* 2015; **48**: 218–225.
- 104 Maruyama T, Tanaka K, Suzuki J, Miyoshi H, Harada N, Nakamura T *et al.* Targeted disruption of G protein-coupled bile acid receptor 1 (Gpbar1/M-Bar) in mice. *J Endocrinol* 2006; **191**: 197–205.
- 105 Brighton CA, Rievaj J, Kuhre RE, Glass LL, Schoonjans K, Holst JJ *et al.* Bile Acids Trigger GLP-1 Release Predominantly by Accessing Basolaterally Located G Protein-Coupled Bile Acid Receptors. *Endocrinology* 2015; **156**: 3961–3970.
- 106 Lasalle M, Hoguet V, Hennuyer N, Leroux F, Piveteau C, Belloy L *et al.* Topical Intestinal Aminoimidazole Agonists of G-Protein-Coupled Bile Acid Receptor 1 Promote Glucagon Like Peptide-1 Secretion and Improve Glucose Tolerance. *J Med Chem* 2017; **60**: 4185–4211.
- 107 Finn PD, Rodriguez D, Kohler J, Jiang Z, Wan S, Blanco E *et al.* Intestinal TGR5 agonism improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in Western diet-fed mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2019; **316**: G412–G424.

- 108 Duan H, Ning M, Zou Q, Ye Y, Feng Y, Zhang L *et al.* Discovery of Intestinal Targeted TGR5 Agonists for the Treatment of Type 2 Diabetes. *J Med Chem* 2015; **58**: 3315–3328.
- 109 Cao H, Chen Z-X, Wang K, Ning M-M, Zou Q-A, Feng Y *et al.* Intestinally-targeted TGR5 agonists equipped with quaternary ammonium have an improved hypoglycemic effect and reduced gallbladder filling effect. *Sci Rep* 2016; **6**: 28676.
- 110 Ma S-Y, Ning M-M, Zou Q-A, Feng Y, Ye Y-L, Shen J-H *et al.* OL3, a novel low-absorbed TGR5 agonist with reduced side effects, lowered blood glucose via dual actions on TGR5 activation and DPP-4 inhibition. *Acta Pharmacol Sin* 2016; **37**: 1359–1369.
- 111 Chen T, Reich NW, Bell N, Finn PD, Rodriguez D, Kohler J *et al.* Design of Gut-Restricted Thiazolidine Agonists of G Protein-Coupled Bile Acid Receptor 1 (GPBAR1, TGR5). *J Med Chem* 2018; **61**: 7589–7613.
- 112 Hoguet V, Lasalle M, Maingot M, Dequierez G, Boulahjar R, Leroux F *et al.* Beyond the Rule of 5: Impact of PEGylation with Various Polymer Sizes on Pharmacokinetic Properties, Structure-Properties Relationships of mPEGylated Small Agonists of TGR5 Receptor. *J Med Chem* 2021; **64**: 1593–1610.
- 113 Denk H, Abuja PM, Zatloukal K. Animal models of NAFLD from the pathologist's point of view. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2019; **1865**: 929–942.
- 114 Farrell G, Schattenberg JM, Leclercq I, Yeh MM, Goldin R, Teoh N *et al.* Mouse Models of Nonalcoholic Steatohepatitis: Toward Optimization of Their Relevance to Human Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology* 2019; **69**: 2241–2257.
- 115 Sherriff JL, O'Sullivan TA, Properzi C, Oddo J-L, Adams LA. Choline, Its Potential Role in Nonalcoholic Fatty Liver Disease, and the Case for Human and Bacterial Genes. *Advances in Nutrition* 2016; **7**: 5–13.
- 116 Hebbard L, George J. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2011; **8**: 35–44.
- 117 Tsuchida T, Lee Y, Fujiwara N, Ybanez M, Allen B, Martins S *et al.* A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer. *Journal of Hepatology* 2018; **69**: 385.
- 118 Mauvais-Jarvis F, Arnold AP, Reue K. A guide for the design of pre-clinical studies on sex differences in metabolism. *Cell Metab* 2017; **25**: 1216–1230.
- 119 Buyco DG, Martin J, Jeon S, Hooks R, Lin C, Carr R. Experimental models of metabolic and alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2021; **27**: 1–18.
- 120 Haas JT, Vonghia L, Mogilenko DA, Verrijken A, Molendi-Coste O, Fleury S *et al.* Transcriptional Network Analysis Implicates Altered Hepatic Immune Function in NASH development and resolution. *Nat Metab* 2019; **1**: 604–614.
- 121 de Meijer VE, Le HD, Meisel JA, Puder M. Repetitive Orogastric Gavage Affects the Phenotype of Diet-Induced Obese Mice. *Physiol Behav* 2010; **100**: 387–393.
- 122 Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW *et al.* Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; **41**: 1313–1321.

- 123 Elliott S, Keim N, Stern J, Teff K, Havel P. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *The American journal of clinical nutrition* 2002; **76**: 911–22.
- 124 Fabregat I, Caballero-Díaz D. Transforming Growth Factor- β -Induced Cell Plasticity in Liver Fibrosis and Hepatocarcinogenesis. *Front Oncol* 2018; **8**. doi:10.3389/fonc.2018.00357.
- 125 Akpolat N, Yahsi S, Godekmerdan A, Yalniz M, Demirbag K. The value of alpha-SMA in the evaluation of hepatic fibrosis severity in hepatitis B infection and cirrhosis development: a histopathological and immunohistochemical study. *Histopathology* 2005; **47**: 276–280.
- 126 Parry DAD, Squire JM (eds.). *Fibrous Proteins: Structures and Mechanisms*. Springer International Publishing: Cham, 2017 doi:10.1007/978-3-319-49674-0.
- 127 Armstrong MJ, Hull D, Guo K, Barton D, Hazlehurst JM, Gathercole LL *et al*. Glucagon-like peptide 1 decreases lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2016; **64**: 399–408.
- 128 Spreckley E, Murphy KG. The L-Cell in Nutritional Sensing and the Regulation of Appetite. *Front Nutr* 2015; **2**: 23.
- 129 Yusta B, Baggio LL, Koehler J, Holland D, Cao X, Pinnell LJ *et al*. GLP-1R Agonists Modulate Enteric Immune Responses Through the Intestinal Intraepithelial Lymphocyte GLP-1R. *Diabetes* 2015; **64**: 2537–2549.
- 130 Xie S, Liu B, Fu S, Wang W, Yin Y, Li N *et al*. GLP-2 suppresses LPS-induced inflammation in macrophages by inhibiting ERK phosphorylation and NF- κ B activation. *Cell Physiol Biochem* 2014; **34**: 590–602.
- 131 Merlen G, Kahale N, Ursic-Bedoya J, Bidault-Jourdainne V, Simerabet H, Doignon I *et al*. TGR5-dependent hepatoprotection through the regulation of biliary epithelium barrier function. *Gut* 2019. doi:10.1136/gutjnl-2018-316975.
- 132 Chambers AP, Sorrell JE, Haller A, Roelofs K, Hutch CR, Kim K-S *et al*. The Role of Pancreatic Preproglucagon in Glucose Homeostasis in Mice. *Cell Metab* 2017; **25**: 927–934.e3.
- 133 Habener JF, Stanojevic V. Pancreas and Not Gut Mediates the GLP-1-Induced Glucoincretin Effect. *Cell Metab* 2017; **25**: 757–758.
- 134 Fineman MS, Bicsak TA, Shen LZ, Taylor K, Gaines E, Varns A *et al*. Effect on glycemic control of exenatide (synthetic exendin-4) additive to existing metformin and/or sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; **26**: 2370–2377.
- 135 Buse JB, Rosenstock J, Sesti G, Schmidt WE, Montanya E, Brett JH *et al*. Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6). *The Lancet* 2009; **374**: 39–47.
- 136 Buse JB, Henry RR, Han J, Kim DD, Fineman MS, Baron AD. Effects of Exenatide (Exendin-4) on Glycemic Control Over 30 Weeks in Sulfonylurea-Treated Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2004; **27**: 2628–2635.
- 137 DeFronzo RA, Ratner RE, Han J, Kim DD, Fineman MS, Baron AD. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; **28**: 1092–1100.

- 138 Kendall DM, Riddle MC, Rosenstock J, Zhuang D, Kim DD, Fineman MS *et al.* Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in patients with type 2 diabetes treated with metformin and a sulfonylurea. *Diabetes Care* 2005; **28**: 1083–1091.
- 139 Zinman B, Hoogwerf BJ, Durán García S, Milton DR, Giaconia JM, Kim DD *et al.* The effect of adding exenatide to a thiazolidinedione in suboptimally controlled type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; **146**: 477–485.
- 140 Heine RJ, Van Gaal LF, Johns D, Mihm MJ, Widel MH, Brodows RG *et al.* Exenatide versus insulin glargine in patients with suboptimally controlled type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2005; **143**: 559–569.
- 141 Nauck MA, Duran S, Kim D, Johns D, Northrup J, Festa A *et al.* A comparison of twice-daily exenatide and biphasic insulin aspart in patients with type 2 diabetes who were suboptimally controlled with sulfonylurea and metformin: a non-inferiority study. *Diabetologia* 2007; **50**: 259–267.
- 142 Kim D, MacConell L, Zhuang D, Kothare PA, Trautmann M, Fineman M *et al.* Effects of once-weekly dosing of a long-acting release formulation of exenatide on glucose control and body weight in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; **30**: 1487–1493.
- 143 Drucker DJ, Buse JB, Taylor K, Kendall DM, Trautmann M, Zhuang D *et al.* Exenatide once weekly versus twice daily for the treatment of type 2 diabetes: a randomised, open-label, non-inferiority study. *Lancet* 2008; **372**: 1240–1250.
- 144 Degn KB, Juhl CB, Sturis J, Jakobsen G, Brock B, Chandramouli V *et al.* One week's treatment with the long-acting glucagon-like peptide 1 derivative liraglutide (NN2211) markedly improves 24-h glycemia and alpha- and beta-cell function and reduces endogenous glucose release in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; **53**: 1187–1194.
- 145 Madsbad S, Schmitz O, Ranstam J, Jakobsen G, Matthews DR, NN2211-1310 International Study Group. Improved glycemic control with no weight increase in patients with type 2 diabetes after once-daily treatment with the long-acting glucagon-like peptide 1 analog liraglutide (NN2211): a 12-week, double-blind, randomized, controlled trial. *Diabetes Care* 2004; **27**: 1335–1342.
- 146 Seino Y, Rasmussen MF, Zdravkovic M, Kaku K. Dose-dependent improvement in glycemia with once-daily liraglutide without hypoglycemia or weight gain: A double-blind, randomized, controlled trial in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; **81**: 161–168.
- 147 Harder H, Nielsen L, Tu DTT, Astrup A. The effect of liraglutide, a long-acting glucagon-like peptide 1 derivative, on glycemic control, body composition, and 24-h energy expenditure in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; **27**: 1915–1921.
- 148 Feinglos MN, Saad MF, Pi-Sunyer FX, An B, Santiago O, Liraglutide Dose-Response Study Group. Effects of liraglutide (NN2211), a long-acting GLP-1 analogue, on glycaemic control and bodyweight in subjects with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2005; **22**: 1016–1023.
- 149 Nauck MA, Hompesch M, Filipczak R, Le TDT, Zdravkovic M, Gumprecht J *et al.* Five weeks of treatment with the GLP-1 analogue liraglutide improves glycaemic control and lowers body weight in subjects with type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006; **114**: 417–423.

- 150 Marre M, Shaw J, Brändle M, Bebakar WMW, Kamaruddin NA, Strand J *et al.* Liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue, added to a sulphonylurea over 26 weeks produces greater improvements in glycaemic and weight control compared with adding rosiglitazone or placebo in subjects with Type 2 diabetes (LEAD-1 SU). *Diabet Med* 2009; **26**: 268–278.
- 151 Nauck M, Frid A, Hermansen K, Shah NS, Tankova T, Mitha IH *et al.* Efficacy and safety comparison of liraglutide, glimepiride, and placebo, all in combination with metformin, in type 2 diabetes: the LEAD (liraglutide effect and action in diabetes)-2 study. *Diabetes Care* 2009; **32**: 84–90.
- 152 Garber A, Henry R, Ratner R, Garcia-Hernandez PA, Rodriguez-Pattzi H, Olvera-Alvarez I *et al.* Liraglutide versus glimepiride monotherapy for type 2 diabetes (LEAD-3 Mono): a randomised, 52-week, phase III, double-blind, parallel-treatment trial. *Lancet* 2009; **373**: 473–481.
- 153 Zinman B, Gerich J, Buse JB, Lewin A, Schwartz S, Raskin P *et al.* Efficacy and safety of the human glucagon-like peptide-1 analog liraglutide in combination with metformin and thiazolidinedione in patients with type 2 diabetes (LEAD-4 Met+TZD). *Diabetes Care* 2009; **32**: 1224–1230.
- 154 Russell-Jones D, Vaag A, Schmitz O, Sethi BK, Lalic N, Antic S *et al.* Liraglutide vs insulin glargine and placebo in combination with metformin and sulfonylurea therapy in type 2 diabetes mellitus (LEAD-5 met+SU): a randomised controlled trial. *Diabetologia* 2009; **52**: 2046–2055.
- 155 Cervera A, Wajcberg E, Sriwijitkamol A, Fernandez M, Zuo P, Triplitt C *et al.* Mechanism of action of exenatide to reduce postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2008; **294**: E846–E852.
- 156 Vilsbøll T, Brock B, Perrild H, Levin K, Lervang H-H, Kølendorf K *et al.* Liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue, improves pancreatic B-cell function and arginine-stimulated insulin secretion during hyperglycaemia in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 2008; **25**: 152–156.
- 157 Kapodistria K, Tsilibary E, Kotsopoulou E, Moustardas P, Kitsiou P. Liraglutide, a human glucagon-like peptide-1 analogue, stimulates AKT-dependent survival signalling and inhibits pancreatic β -cell apoptosis. *J Cell Mol Med* 2018; **22**: 2970–2980.
- 158 Ding M, Fang Q-H, Cui Y-T, Shen Q-L, Liu Q, Wang P-H *et al.* Liraglutide prevents β -cell apoptosis via inactivation of NOX2 and its related signaling pathway. *Journal of Diabetes and its Complications* 2019; **33**: 267–277.
- 159 Zhang W, Tian Y, Chen X, Wang L, Chen C, Qiu C. Liraglutide ameliorates beta-cell function, alleviates oxidative stress and inhibits low grade inflammation in young patients with new-onset type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr* 2018; **10**: 91.
- 160 Tang W, Yuan Q, Xu B, Osei K, Wang J. Exenatide substantially improves proinsulin conversion and cell survival that augment Ins2+/Akita beta cell function. *Mol Cell Endocrinol* 2017; **439**: 297–307.
- 161 Yusta B, Baggio LL, Estall JL, Koehler JA, Holland DP, Li H *et al.* GLP-1 receptor activation improves beta cell function and survival following induction of endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab* 2006; **4**: 391–406.

- 162 Saponaro C, Gmyr V, Thévenet J, Moerman E, Delalleau N, Pasquetti G *et al.* The GLP1R Agonist Liraglutide Reduces Hyperglucagonemia Induced by the SGLT2 Inhibitor Dapagliflozin via Somatostatin Release. *Cell Reports* 2019; **28**: 1447-1454.e4.
- 163 Gabery S, Salinas C, Paulsen S, Ahnfelt-Rønne J, Alanentalo T, Baquero A *et al.* Semaglutide lowers body weight in rodents via distributed neural pathways. *JCI Insight* 2020; **5**. doi:10.1172/jci.insight.133429.
- 164 Vicent M, Mook C, Carter M. POMC neurons in heat: A link between warm temperatures and appetite suppression. *PLOS Biology* 2018; **16**: e2006188.
- 165 Florent V, Baroncini M, Prevot V. Tanycytes hypothalamiques, barrière hématoencéphalique et rôle dans la régulation de l'homéostasie énergétique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 2017; **52**: 26–32.
- 166 Elizondo-Vega RJ, Recabal A, Oyarce K. Nutrient Sensing by Hypothalamic Tanycytes. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; **10**: 244.
- 167 Banks WA. The blood-brain barrier as an endocrine tissue. *Nat Rev Endocrinol* 2019; **15**: 444–455.
- 168 Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. Differential distribution of tight junction proteins suggests a role for tanycytes in blood-hypothalamus barrier regulation in the adult mouse brain. *J Comp Neurol* 2010; **518**: 943–962.
- 169 Prevot V, Dehouck B, Sharif A, Ciofi P, Giacobini P, Clasadonte J. The Versatile Tanycyte: A Hypothalamic Integrator of Reproduction and Energy Metabolism. *Endocr Rev* 2018; **39**: 333–368.
- 170 Lewis JE, Miedzybrodzka EL, Foreman RE, Woodward ORM, Kay RG, Goldspink DA *et al.* Selective stimulation of colonic L cells improves metabolic outcomes in mice. *Diabetologia* 2020; **63**: 1396–1407.
- 171 Grosse J, Heffron H, Burling K, Hossain MA, Habib AM, Rogers GJ *et al.* Insulin-like peptide 5 is an orexigenic gastrointestinal hormone. *PNAS* 2014; **111**: 11133–11138.
- 172 Taher J, Baker C, Alvares D, Ijaz L, Hussain M, Adeli K. GLP-2 Dysregulates Hepatic Lipoprotein Metabolism, Inducing Fatty Liver and VLDL Overproduction in Male Hamsters and Mice. *Endocrinology* 2018; **159**: 3340–3350.
- 173 Fuchs S, Yusta B, Baggio LL, Varin EM, Matthews D, Drucker DJ. Loss of Glp2r signaling activates hepatic stellate cells and exacerbates diet-induced steatohepatitis in mice. *JCI Insight* 2020; **5**. doi:10.1172/jci.insight.136907.
- 174 Ziffert I, Kaiser A, Babilon S, Mörl K, Beck-Sickinger AG. Unusually persistent Gai-signaling of the neuropeptide Y2 receptor depletes cellular Gi/o pools and leads to a Gi-refractory state. *Cell Communication and Signaling* 2020; **18**: 49.
- 175 Harrison SP, Baumgarten SF, Verma R, Lunov O, Dejneka A, Sullivan GJ. Liver Organoids: Recent Developments, Limitations and Potential. *Front Med* 2021; **8**. doi:10.3389/fmed.2021.574047.
- 176 Charwat V, Egger D. The Third Dimension in Cell Culture: From 2D to 3D Culture Formats. In: Kasper C, Charwat V, Lavrentieva A (eds). *Cell Culture Technology*. Springer International Publishing: Cham, 2018, pp 75–90.

- 177 Kennedy AJ, Ellacott KLJ, King VL, Hasty AH. Mouse models of the metabolic syndrome. *Dis Model Mech* 2010; **3**: 156–166.
- 178 Wayhart JP, Lawson HA. Chapter 9 - Animal Models of Metabolic Syndrome. In: Conn PM (ed). *Animal Models for the Study of Human Disease (Second Edition)*. Academic Press, 2017, pp 221–243.
- 179 Panchal SK, Brown L. Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2010; **2011**: e351982.
- 180 Wong SK, Chin K-Y, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutr Metab (Lond)* 2016; **13**: 65.
- 181 Veite-Schmahl MJ, Regan DP, Rivers AC, Nowatzke JF, Kennedy MA. Dissection of the Mouse Pancreas for Histological Analysis and Metabolic Profiling. *J Vis Exp* 2017; : 55647.
- 182 Li J, Dawson PA. Animal Models to Study Bile Acid Metabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2019; **1865**: 895–911.
- 183 Esposito E, Li W, T. Mandeville E, Park J-H, Şencan I, Guo S *et al*. Potential circadian effects on translational failure for neuroprotection. *Nature* 2020; **582**: 395–398.
- 184 Maury E, Ramsey KM, Bass J. Circadian rhythms and metabolic syndrome: from experimental genetics to human disease. *Circ Res* 2010; **106**: 447–462.
- 185 Zimmet P, Alberti KGMM, Stern N, Bilu C, El-Osta A, Einat H *et al*. The Circadian Syndrome: is the Metabolic Syndrome and much more! *J Intern Med* 2019; **286**: 181–191.
- 186 Shetty A, Hsu JW, Manka PP, Syn W-K. Role of the Circadian Clock in the Metabolic Syndrome and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci* 2018; **63**: 3187–3206.
- 187 Martchenko SE, Martchenko A, Cox BJ, Naismith K, Waller A, Gurses P *et al*. Circadian GLP-1 Secretion in Mice Is Dependent on the Intestinal Microbiome for Maintenance of Diurnal Metabolic Homeostasis. *Diabetes* 2020; **69**: 2589–2602.
- 188 Ahrén B, Carr RD, Deacon CF. Incretin hormone secretion over the day. *Vitam Horm* 2010; **84**: 203–220.
- 189 Gil-Lozano M, Mingomataj EL, Wu WK, Ridout SA, Brubaker PL. Circadian Secretion of the Intestinal Hormone GLP-1 by the Rodent L Cell. *Diabetes* 2014; **63**: 3674–3685.
- 190 Gil-Lozano M, Hunter PM, Behan L-A, Gladanac B, Casper RF, Brubaker PL. Short-term sleep deprivation with nocturnal light exposure alters time-dependent glucagon-like peptide-1 and insulin secretion in male volunteers. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2016; **310**: E41-50.
- 191 Rao RS, Rao V, Kini S. Animal Models in Bariatric Surgery—A Review of the Surgical Techniques and Postsurgical Physiology. *OBES SURG* 2010; **20**: 1293–1305.
- 192 Zang L, Maddison LA, Chen W. Zebrafish as a Model for Obesity and Diabetes. *Front Cell Dev Biol* 2018; **6**: 91.
- 193 Hoffmann J, Romey R, Fink C, Roeder T. Drosophila as a Model to Study Metabolic Disorders. In: Vilcinskis A (ed). *Yellow Biotechnology I: Insect Biotechnologie in Drug Discovery and Preclinical Research*. Springer: Berlin, Heidelberg, 2013, pp 41–61.

- 194 Xia L, Shen T, Dong W, Su F, Wang J, Wang Q *et al.* Comparative efficacy and safety of 8 GLP-1RAs in patients with type 2 diabetes: A network meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2021; **177**: 108904.
- 195 Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Meier JJ. GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes – state-of-the-art. *Mol Metab* 2020; **46**: 101102.
- 196 Kristensen SL, Rørth R, Jhund PS, Docherty KF, Sattar N, Preiss D *et al.* Cardiovascular, mortality, and kidney outcomes with GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2019; **7**: 776–785.
- 197 Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S *et al.* Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine* 2015; **373**: 2117–2128.
- 198 Ioannidis JPA. Why Most Clinical Research Is Not Useful. *PLOS Medicine* 2016; **13**: e1002049.
- 199 Seyhan AA. Lost in translation: the valley of death across preclinical and clinical divide – identification of problems and overcoming obstacles. *transl med commun* 2019; **4**: 18.
- 200 Cohrs RJ, Martin T, Ghahramani P, Bidaut L, Higgins PJ, Shahzad A. Translational Medicine definition by the European Society for Translational Medicine. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine* 2014; **2**: 86.
- 201 Woolf SH. The meaning of translational research and why it matters. *JAMA* 2008; **299**: 211–213.
- 202 Fontanarosa PB, DeAngelis CD. Basic science and translational research in JAMA. *JAMA* 2002; **287**: 1728.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2020/2021

Nom : DECOIN
Prénom : RAPHAËL

Titre de la thèse :

Stratégies thérapeutiques basées sur le GLP-1 dans le syndrome métabolique : du développement d'un agoniste de TGR5 à la recherche fondamentale

Mots-clés :

Syndrome métabolique ; Obésité ; insulino-résistance ; NASH ; GLP-1 ;
Incrétinomimétiques ; TGR5 ; Agonistes topiques intestinaux

Résumé :

Le syndrome métabolique représente un trouble multi-organes associé à une obésité et une insulino-résistance, pouvant provoquer une manifestation hépatique appelée NASH. Le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) est une hormone ayant des propriétés biologiques très favorables dans le contexte du syndrome métabolique. Ainsi, deux classes thérapeutiques qui reposent sur cette hormone sont décrites : les incréto mimétiques qui miment l'action de l'hormone, et les inhibiteurs de DPP-4 qui empêchent sa dégradation. Ces médicaments sont indiqués actuellement dans le contexte du diabète du type 2, et sont prometteurs dans le traitement de la NASH. Néanmoins, le développement d'une nouvelle classe thérapeutique – les agonistes topiques intestinaux de TGR5 – promouvant la sécrétion de GLP-1 de manière endogène, ne démontre aucune efficacité dans le contexte de la maladie métabolique. Ainsi, des paradoxes sont observés entre l'activité des incréto mimétiques et celle du GLP-1 endogène. Grâce à un travail réalisé dans l'UMR1011 (B.Staels, Lille), le développement pré-clinique d'un de ces agonistes (BDM72881) est détaillé dans le contexte de la NASH. Ce composé est actuellement utilisé comme outil pharmacologique en recherche fondamentale afin de mieux comprendre la nature de ces paradoxes.

Membres du jury :

Président : Julie Charton - MCU - Faculté de Pharmacie Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Directeur, conseiller de thèse : Anne Muhr-Tailleux – PU – Faculté de Pharmacie - Biochimie

Assesseur(s) : Bart Staels – PU-PH – Faculté de Pharmacie - Biologie cellulaire
Rémi Vanuxeem – PharmD – Bayer