INTERACTIONS INTESTIN-CERVEAU

6.1. Les moyens pour étudier l'axe microbiote-intestin-cerveau

6.1.1. Études sur des souris axéniques

Pour analyser l'axe microbiote-intestin-cerveau, les chercheurs ont créé des souris sans microbiote intestinal : « gut-free animals ». Ces animaux sont nés par césarienne pour empêcher toute contamination par le microbiote fécal, vaginal et cutané, et sont élevés dans un milieu aseptisé. Les animaux sont nourris avec des aliments et de l'eau stériles. Leurs selles sont fréquemment contrôlées pour s'assurer de l'absence de bactéries (9).

Il a, par exemple, été étudié chez des souris « gut-free », les conséquences sur le cerveau d'une transplantation de microbiote de patients schizophrènes. Il a été constaté que les souris présentaient une augmentation de l'activité, une diminution de l'anxiété. De plus, au niveau de l'hippocampe, il y avait une augmentation du GABA, de la glutamine et une diminution du glutamate. Au niveau cortical, ces neurotransmetteurs étaient aussi perturbés (9).

6.1.2. L'usage des antibiotiques

Pour pouvoir étudier les relations entre le microbiote et le cerveau, il est possible d'utiliser des antibiotiques qui ne sont pas absorbés par l'organisme (ex : vancomycine, néomycine...) pour pouvoir éradiquer le microbiote et voir les conséquences qui en découlent. En effet, avec cette méthode, il a été constaté que l'administration de ces antibiotiques influençaient la sociabilité et l'anxiété (9). De plus, lesdits antibiotiques présentent l'intérêt de pouvoir être administrés de manière aiguë ou chronique à n'importe quel moment du développement des animaux et, ainsi, de pouvoir effectuer différentes études (9).

6.1.3. L'imagerie cérébrale

Il est possible d'analyser l'interaction microbiote-cerveau grâce à différentes techniques d'imagerie comme l'imagerie par résonance magnétique (IRM), la spectroscopie par résonnance magnétique (SRM), etc. (9).

6.1.3.1. Essais précliniques

Dans des essais précliniques, grâce à la spectroscopie par résonnance magnétique, il a pu être observé que la souche bactérienne *Lactobacillus Rhamnosus* JB-1 augmentait le taux de glutamate, et son précurseur la glutamine, en plus d'une augmentation du N-acétyl aspartate et du GABA (9).

De plus, avec l'IRM de diffusion, les chercheurs se sont aperçus que l'alimentation influençait l'intégrité structurale de la substance blanche (9).

6.1.3.2. Études humaines

Une étude a analysé les effets de l'ingestion de lait fermenté, associé à quatre différentes espèces de bactéries, chez des femmes en bonne santé. La prise de ce lait a entraîné un changement de la connectivité au niveau (9) (Figure 25) :

- Du mésencéphale centré sur le gris périaqueducal ;
- Du cortex préfrontal (zone de mémoire, langage, raisonnement (74)) ;
- Le précuneus (zone du bonheur selon l'équipe de Sato et al. (75)) ;
- Les noyaux gris centraux (réseau de neurones dans les fonctions motrices, oculomotrices, cognitives (76)) ;
- Le gyrus parahippocampique.

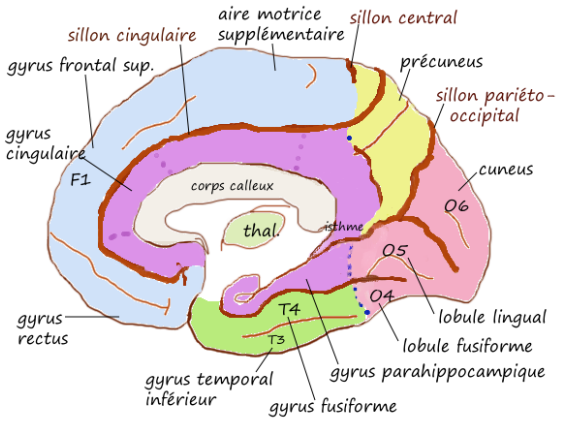

Figure 25 : représentation des différents gyrus (77).

Grâce à l'IRM, il ressort de l'étude de Pinto-Sanchez et al. que chez des patients atteints du syndrome du côlon irritable, l'espèce bactérienne *Bifidobacterium longum* réduirait, par rapport à la prise d'un placébo, les réponses à des stimuli émotionnels négatifs dans plusieurs parties du cerveau, notamment l'amygdale et la région fronto-limbique. Le score de qualité de vie des patients serait amélioré grâce à la prise de ce probiotique (78).

En utilisant la technique de l'imagerie par résonnance magnétique, une étude s'est intéressée à la relation entre le microbiote, le comportement et l'activation de certaines régions cérébrales chez des femmes en bonne santé. Les sujets ont été séparés en deux groupes en fonction de la composition majoritaire de leur microbiote : *Prevotella* et *Bacteroïdaceae*. Entre les deux groupes, l'IRM a mis en évidence des différences structurales et fonctionnelles, notamment au niveau de l'hippocampe droit du groupe *Prevotella* (9).

Les différentes techniques d'imagerie cérébrale commencent à être utilisées pour étudier l'axe intestin-cerveau et, ainsi, pour pouvoir mieux comprendre certains troubles psychiatriques.

En effet, l'objet de l'étude de He et al. était d'étudier la diversité du microbiote intestinal et la concentration de choline dans le cortex cingulaire antérieur à un stade prodromique, c'est-à-dire avant l'apparition de la schizophrénie chez des patients à très haut risque.

Il en est ressorti que les patients présentaient une augmentation des ordres suivants :

- *Clostridiales ;*
- *Lactobacillales ;*
- *Bactéroidales ;*

mais aussi une augmentation de la production d'acides gras à chaîne courte AGCC et de choline au niveau du cortex cingulaire antérieur (79).

6.2. Les différents moyens de communication entre le cerveau et l'intestin

6.2.1. Les voies de signalisation

6.2.1.1. Système nerveux autonome

Comme cela a été vu dans le chapitre 2.4, le SNA commande de manière inconsciente nos organes internes. Il est préférable maintenant de parler de communication bidirectionnelle, antagoniste ou synergique entre le SNA et le SNC. Le SNA peut, associé au SNC, induire une modification rapide du comportement de l'intestin (mobilité, perméabilité, etc.).

Les synapses du SNA peuvent interagir avec les métabolites produits par le microbiote. Par exemple, plusieurs études ont mis en évidence le fait que la production de 4-éthylphényl sulfate (métabolite produite par certaines bactéries du microbiote) pouvait entraîner une anxiété chez des souris (9).

6.2.1.1.1. Le nerf vague

Comme nous l'avons vu dans la partie 2.2.1, les fibres afférentes du nerf vague parasympathique sont capables de détecter l'étirement, la tension, les hormones, les neurotransmetteurs et la présence de molécules produites par les bactéries de l'intestin.

En effet, une réduction du contrôle parasympathique du transit intestinal a été corrélé avec une augmentation de la prolifération bactérienne intestinal et sa translocation (9).

Lorsque la vagotomie – section du nerf vague situé dans l'abdomen - était utilisée pour le traitement de l'ulcère gastroduodénal, il a été constaté l'apparition de troubles psychiatriques chez les patients (9).

Chez les rongeurs, l'ablation du nerf vague aboutit à une diminution de l'activité locomotrice et à une augmentation du taux d'adrénaline dans le plasma, avant et après un stress d'immobilisation. De plus, elle conduirait à l'activation de la microglie au niveau du gyrus

denté et de l'hippocampe. L'ensemble de ces manifestations sont retrouvées également dans les maladies psychiatriques (9).

L'équipe de Klarer et al. a effectué une désafférentation (absence totale ou partielle des sensations parvenant au cerveau (80) des fibres afférentes vagales au niveau de l'abdomen) chez des rats et se sont aperçus que ces derniers présentaient un comportement anxieux (via le test du labyrinthe, open-field et celui de la néophobie alimentaire) (80). Cela démontre le rôle important des voies afférentes vagales dans l'anxiété.

La stimulation du nerf vague est parfois utilisée pour le traitement des dépressions réfractaires, des douleurs chroniques, de la maladie de Crohn et de certaines épilepsies (9). Chez les rongeurs, la stimulation du nerf vague aurait entraîné une augmentation de la neurogènese dans l'hippocampe, ainsi que la modulation de la libération de noradrénaline, de sérotonine, et de dopamine dans les régions du cerveau en rapport avec l'anxiété et la dépression. La stimulation du nerf vague aurait aussi entraîné l'augmentation de l'expression de BDNF au niveau de l'hippocampe, ce qui aurait amélioré les symptômes dépressifs (9).

Le BDNF, ou brain-derived neurotrophic factor, est un facteur de croissance neurotrophique permettant le développement et la protection des neurones (81). Il agit sur l'hippocampe, le cortex et le prosencéphale basal. Il permettrait la mémorisation et sa consolidation sur le long terme (82). L'équipe de Han W et al. a démontré que l'activation afférente du nerf vague influençait le comportement de la souris (9).

Mais le microbiote peut aussi actionner le nerf vague et entraîner des changements émotionnels et comportementaux chez l'homme (9). L'ingestion de *Campylobacter jejuni* aurait induit un comportement anxiogène (9). L'administration de l'espèce *Lactobacillus rhamnosus* augmenterait l'activation du faisceau nerveux mésentérique, qui contient les fibres afférentes du nerf vague (9).

Ainsi, au fil des années, il a été démontré l'importance de la signalisation vagale bidirectionnelle entre le comportement, l'intestin et le microbiote.

6.2.1.2. Système nerveux entérique

Comme nous l'avons vu dans la partie 2, le système nerveux entérique correspond à une partie du système nerveux autonome au niveau du système digestif, qui envoie des réponses directes et indirectes au cerveau via le microbiote et ses métabolites. Il communique avec le système nerveux central grâce aux neurones intestinofuges (présentes dans le plexus myentérique), qui envoient les informations sensorielles vers les neurones afférents primaires extrinsèques présents tout le long de la colonne vertébrale et des voies afférentes vagales.

Ces voies permettraient donc d'influencer la fonction intestinale, mais aussi le système nerveux central, grâce à divers facteurs, notamment le microbiote.

6.2.1.2.1. Influence du microbiote sur le SNE

6.2.1.2.1.1. Activation des récepteurs de reconnaissance de motifs et des toll-like récepteurs

Les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) et les toll-like récepteurs sont exprimés à la surface des cellules de l'immunité innée (première ligne de défense de l'organisme), c'est à dire les phagocytes, les cellules dendritiques, etc. (83).

- Les récepteurs de reconnaissance de motifs reconnaissent des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP), qui correspondent à des bouts de pathogènes (83).

- Quant aux récepteurs toll-like, ce sont des récepteurs répartis en 9 catégories qui reconnaissent différents composants microbiens :

    - TLR1 : les lipopeptides bactériens ;
    - TLR2 : les lipopeptides bactériens, peptidoglycanes bactériens ;
    - TLR 3 : l'ARN ;
    - TLR4 : les lipopolysaccharides ;
    - TLR5 : la flagelline bactérienne ;
    - TLR6 : les lipopeptides bactériens ;
    - TLR7 : l'ARN ;
    - TLR8 : l'ARN ;

- TLR 9 : l'ADN (83).

Ils sont illustrés dans la figure 26.

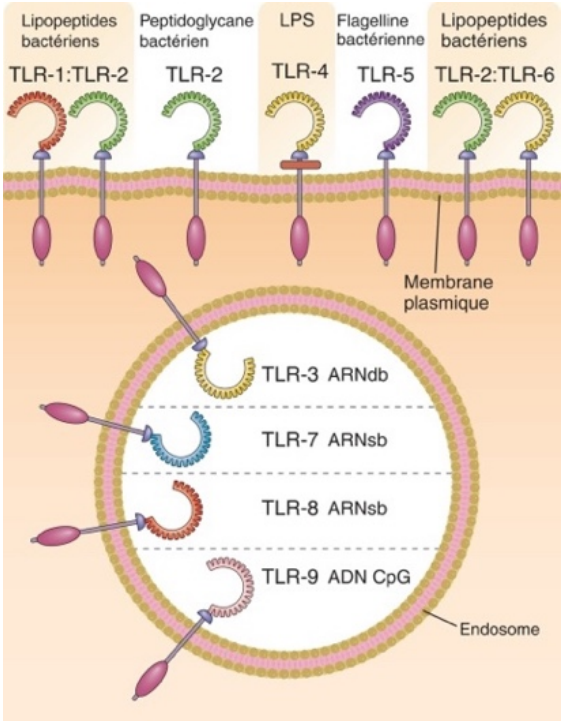

Figure 26 : les différents Toll-like récepteurs présents sur les cellules immunitaires (83).

La stimulation de ces récepteurs entraîne la production de cytokines, la production d'enzymes pro-inflammatoires et l'activation des phagocytes et d'autres cellules de la réponse immunitaire innée. Ces sont donc des récepteurs qui assurent la protection de notre organisme face à des agents pathogènes inconnus (83).

Lorsque la composition du microbiote est normale, les TLRs présents au niveau de l'intestin n'entraînent pas une réponse inflammatoire, car nos bactéries sont « connues » par notre système de défense. Or, lorsque le microbiote est déréglé, les TLRs peuvent s'activer.

Ainsi, le microbiote influencerait le SNE par l'activation des PRRS et des TLRs, particulièrement les TLR2 et TLR4 qui, ainsi que nous venons de le voir, reconnaissent les lipopeptides bactériens, les peptidoglycanes bactériens et les lipopolysaccharides (présents sur la bactérie GRAM négative) (83).

Le SNE pourrait ainsi réagir face à une agression virale ou bactérienne par l'expression des TLRS et des PRRS, même si cela n'est pas encore certain. Diverses études ont mis en avant le fait que l'absence de TLRS avait des conséquences sur les fonctions du SNE. Les souris déficientes en TLR4 produisaient des selles en moindre quantité et déshydratées et les souris sans TLR2 avait une motilité intestinale un peu dérégulée. De plus, les souris GF ont également des anomalies du SNE au niveau structural et neurochimique au début de la période postnatale. A contrario, dès lors que l'intestin est recolonisé par des bactéries, ces troubles ne sont pas retrouvés (9).

6.2.1.2.1.2. Implication de la sérotonine

L'équipe de De Vadder et al. a émis une hypothèse sur la façon dont le microbiote pourrait agir sur le SNE, via la sérotonine. Après que des souris GF ont subi une transplantation de microbiote, il a été constaté une augmentation du taux de sérotonine au niveau entérique et de l'expression des récepteurs 5-HT, ainsi qu'un retour à un transit normal après 15 jours de greffe. Selon les chercheurs, cela proviendrait de l'effet « booster » du microbiote sur l'enzyme tryptophan hydroxylase 1 (Tph1), présent dans les cellules entérochromaffines pour produire de la sérotonine (84).

Le microbiote est responsable du développement postnatal des cellules gliales entériques de la muqueuse (cellules permettant de renforcer la perméabilité intestinale) et de leur homéostasie (85). Lorsque des souris GF, knock out de l'enzyme Tph1, ont reçu le microbiote des souris conventionnelles le nombre de neurones entériques a diminué. On peut donc souligner la possible implication de la sérotonine dans la stimulation et l'homéostasie des cellules entériques dans le SNE (84).

6.2.1.2.1.3. La composition du microbiote

Le SNE est sensible à la composition du microbiote et certaines espèces bactériennes pourraient agir sur lui de manière plus spécifique. La bactérie *Bacteroides fragilis* peut, sûrement grâce à la présence de son exopolysaccharide capsulaire, le polysaccharide A, stimuler les neurones entériques. L'espèce *Lactobacillus Rhamnosus* activerait une voie du SNE, liée à un récepteur couplé aux protéines G, selon Mao et al. (86).

De plus, cette même équipe a démontré que les effets sur le SNE ne dépendaient pas de la diffusion de molécules entre l'épithélium de l'intestin jusqu'aux neurones entériques. L'action de l'espèce *Lactobacillus Rhamnosus* serait possible seulement si l'épithélium intestinal n'est pas endommagé. Cela démontre que l'anatomie épithéliale est une intermédiaire pour la transduction des éléments microbiens, de la lumière intestinale vers les neurones du SNE (9).

6.2.1.2.1.4. Influence du SNE sur le microbiote

Chez des poissons-zèbres, dépourvus de SNE, le microbiote de cette espèce était « pro-inflammatoire », et il pouvait y être remédié par la transplantation du microbiote dit « anti-inflammatoire ». Les troubles du SNE sont associés à des troubles gastro-intestinaux ; c'est, par exemple, le cas dans la maladie de Hirschsprung ou dans la pseudo-obstruction intestinale chronique neuropathique. Et cela va jusqu'à s'étendre au niveau des maladies du SNC, dont Alzheimer et Parkinson. Il reste encore à approfondir les recherches pour pouvoir mieux comprendre les mécanismes mis en jeu et leurs impacts sur la santé (9).

6.2.1.3. Système immunitaire

Le système immunitaire permet de lutter contre les infections virales, bactériennes et fongiques. Il existe deux lignes de défense, qui interviennent l'une après l'autre, pour rétablir l'équilibre. Tout d'abord la réponse innée, celle dite naturelle, puis la réponse adaptative, celle dite retardée, qui est spécifique d'un antigène (élément étranger qui entre dans l'organisme)(73).

Il faut savoir que le tractus digestif est l'organe le plus dense en cellules immunitaires et le plus en contact avec des éléments étrangers : les bactéries composant notre microbiote. Ils vivent en symbiose. Soit par contact direct, soit par les molécules sécrétées. C'est au niveau de l'interface luminale-muqueuse que se passent l'interaction hôte-microbiote et les échanges de molécules à travers la couche muqueuse et l'épithélium, pour permettre la communication entre l'intestin et le système immunitaire. Comme nous l'avons vu dans la partie 2, en plus d'être une barrière physique, l'épithélium est constitué de diverses cellules impliquées dans la réponse immunitaire innée ou adaptative. Il est possible de parler d'immunité intestinale innée et adaptative (73).

6.2.1.3.1. L'immunité initiale innée

La réponse immunitaire innée est un mode de défense limité et non spécifique qui se base sur l'inflammation et la défense antivirale. L'épithélium intestinal et le mucus sont les premières lignes de défense face à des pathogènes ; ils ont donc un effet barrière et mécanique, mais aussi chimique, grâce à la libération de molécules antimicrobiennes (73).

6.2.1.3.1.1. Les récepteurs intestinaux de l'immunité innée

Comme nous l'avons vu, l'immunité innée reconnaît des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP), des « bouts » de pathogènes ou des cellules endommagées ; ces dernières ayant été infectées par un élément étranger, elles présentent des différences avec les cellules saines.

Ce sont les récepteurs :

- Toll (que nous avons évoqués plus haut avec les différentes sous-familles) ;
- Mannose : les *RIG L Like receptor* (RLR) ou les C type *lectin like receptors* (CLR) ;
- Les NOD ;

qui reconnaissent les motifs moléculaires ; on les nomme PRR, pour *pattern recognition receptor* (83).

Exemple : le lipopolysaccharide, l'ARN ou les flagelles des bactéries peuvent être reconnus par ces récepteurs. Généralement ils sont exprimés sur les cellules présentatrices d'antigènes, ou dans les cellules épithéliales ou immunitaires. Il y a alors activation de la voie NFkB et stimulation de la production de peptides antimicrobiens et de chimiokines (87).

Dès lors que ces récepteurs sont activés, cela induit la production de molécules antimicrobiennes et de cytokines pro-inflammatoires puis, ensuite, le recrutement de cellules de l'immunité : les polynucléaires neutrophiles et les macrophages. Ce processus va conduire à un état inflammatoire, et protéger l'organisme face à un pathogène (73).

6.2.1.3.1.2. Les cellules intestinales de l'immunité innée

Certaines cellules de l'épithélium intestinal ont un rôle fondamental dans la réponse immunitaire innée.

- Les cellules de Paneth,, car elles libèrent des molécules antimicrobiennes (73) ;
- Les cellules chimiosensorielles, pour la défense contre les helminthes (9) ;
- Les cellules caliciformes, qui sécrètent le mucus (73);
- Les cellules entéroendocrines qui libèrent des composés neuroendocriniens tels que la ghréline, la somatostatine, le CCK et la sérotonine (73).

Le lien entre la réponse immunitaire innée et la réponse immunitaire adaptative se fait grâce aux cellules présentatrices d'antigènes. Dans l'intestin il en existe un nombre important.

6.2.1.3.2. L'immunité intestinale adaptative

Pour que la réponse immunitaire adaptative soit déclenchée, les antigènes doivent être interceptés par les cellules présentatrices d'antigènes. Au niveau de l'intestin, ces cellules sont :

- Soit les plaques de Peyer et les nodules lymphoïdes isolés ;
- Soit les cellules dendritiques ;
- Soit les cellules épithéliales.

Après avoir capturé l'antigène, ces dernières activent les lymphocytes T et B naïfs (73).

6.2.1.3.2.1. Les lymphocytes B

Les lymphocytes B sont des cellules immunitaires de la réponse adaptative qui sécrètent des anticorps pour se défendre de manière spécifique face à un pathogène. Au niveau de l'intestin, lorsque les cellules présentatrices d'antigènes susmentionnées activent les lymphocytes, ces derniers se dirigent vers la lamina propria de l'intestin : le tissu conjonctif situé sous l'épithélium digestif. Les lymphocytes B se convertissent en plasmocytes et libèrent les anticorps ou immunoglobulines de type A (IgA). Ils sont alors tapissés sur les muqueuses et sont prêts à détruire les antigènes (73).

Lorsqu'un individu souffre de la maladie cœliaque – une allergie au gluten -, il présente des anticorps dirigés contre le gluten, considéré comme élément pathogène.

6.2.1.3.2.2. Les lymphocytes T

Dans le tube digestif, les lymphocytes T peuvent s'activer à cause du microbiote intestinal pour maintenir l'homéostasie. Il faut distinguer deux types d'activation lymphocytaire.

- Une activation anti-inflammatoire produite par les LT régulateurs comme, par exemple, les lymphocytes Treg ;

- Une activation pro-inflammatoire, médiée par les LT effecteurs, notamment les lymphocytes Th17 qui sont activés par les cytokines IL-6 et IL-23 (73).

En fonction des cytokines et/ou chimiokines libérées par les lymphocytes TCD4+ (voir tableau 11 ci-après), la réponse sera différente.
Enfin, il existe aussi des lymphocytes T intraépithéliaux (IEL), en contact direct avec les cellules épithéliales. Ils produisent des cytokines pro-inflammatoires.

Tableau 11 : liste non exhaustive des cytokines pro et anti-inflammatoires sécrétées par les cellules immunitaires.

Pro-inflammatoire	Anti-inflammatoire
IL-1	IL-10
IL-6	IL-4
IL-12	IL-13
IL-18	IL-5
TNFα	
IL-21	
IFNγ	
IL-17	

Le résumé du lien entre le microbiote et l'immunité est illustré dans la figure 27.

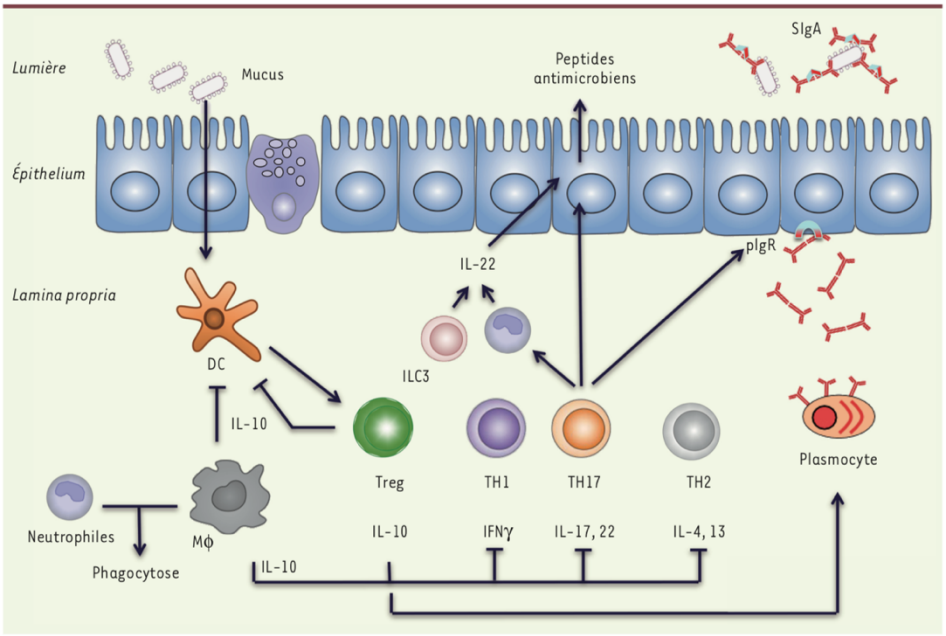

Figure 27 : implication de l'immunité innée et adaptative dans la protection de la barrière intestinale face au microbiote (87).

Les signaux du microbiote sont détectés par les Toll récepteurs, les NOD, les cellules épithéliales et les cellules présentatrices d'antigènes comme les cellules dendritiques. Cela entraîne l'activation des cellules de l'immunité innée (les macrophages, et les cellules lymphoïdes). Il y a ainsi production de peptides antimicrobiens, et recrutement des cellules adaptatives. Les plasmocytes sécrètent alors les IgA, qui forment un complexe immun avec les bactéries et favorisent leur élimination. La production d'IL-10, par les macrophages et les Treg, permet d'éviter des réponses inflammatoires excessives (87).

6.2.1.3.3. Immunité et microbiote

Chez des souris sans microbiote, il a été constaté de nombreuses anomalies du système immunitaire intestinal :

- Hypoplasies des plaques de Peyer ;
- Réduction des lymphocytes intra-épithéliaux ;
- Déficit de certains lymphocytes ;
- Réduction du taux d'immunoglobulines A ;
- Production moindre de cytokines (73).

En revanche, lors d'une greffe, ces altérations sont améliorées (73). En effet, la colonisation par le microbiote favorise la production de mucus et de peptides antimicrobiens (87).

Il existe une bactérie segmentée filamenteuse du genre *Clostridium*, commensale, dont le rôle est de s'ancrer à la surface des cellules épithéliales. Elle exerce des propriétés immuno-stimulatrices et pro-inflammatoires, pour permettre le renforcement de la barrière intestinale et protéger l'hôte d'infections (87).

Les espèces *Lactobacillus Rhamnosus*, *Helveticus* et *Casei* augmentent le taux des cytokines pro-inflammatoires IL-8, TNFα et Il-6. Elles augmentent également la phagocytose et l'activité bactéricide des macrophages. L'étude de Rocha-Ramírez et al. a mis en évidence le fait que les *Lactobacillus* avaient un effet immunostimulateur (87).

6.2.1.3.4. Immunité, microbiote et cerveau

Comme nous l'avons vu dans la première partie, la microglie est un ensemble de cellules immunitaires dans le cerveau. Celles-ci produisent des cytokines et peuvent phagocyter des pathogènes, qu'elles présentent ensuite aux cellules de l'immunité adaptative.

Une microglie normale présente des dendrites courtes, en faible nombre, et une activation due à une stimulation. Chez des souris sans pathogènes spécifiques qui ont subi un traitement antibiotique et chez des souris « *germ free* », la morphologie des cellules est modifiée et leur réponse à une stimulation est altérée. Par contre, lors d'une supplémentation en AGCC, ces anomalies sont rétablies (89). Nous verrons plus tard le rôle des acides gras à chaîne courte sur le cerveau.

En revanche, chez des souris GF que l'on a colonisées avec un microbiote faible en espèces microbiennes, les anomalies n'ont pas été améliorées ; cela suggère qu'il faut une diversité microbienne pour permettre ce changement (89).

Nous avons vu que l'espèce *Bacteroides fragilis,* grâce à son polysaccharide A, pouvait influencer le SNE. Elle peut également stimuler la production des cellules T régulatrices (productrices de l'interleukine 10, anti-inflammatoire). La colonisation des souris par *Bacteroides fragilis* réduit la gravité de l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale. Elle

présente des effets protecteurs contre l'inflammation cérébrale, via la voie TLR-2 (90). Les bactéries immunorégulatrices sont donc associées à une protection contre l'inflammation du SNC (89).

A contrario, par exemple, la colonisation des souris « *germ-free* » par les bactéries filamenteuses segmentées est suffisante pour entraîner une encéphalomyélite auto-immune expérimentale (89).

Les principaux effets du microbiote sur les cellules immunitaires, et leurs conséquences sur le SNC, sont illustrés par la figure 28.

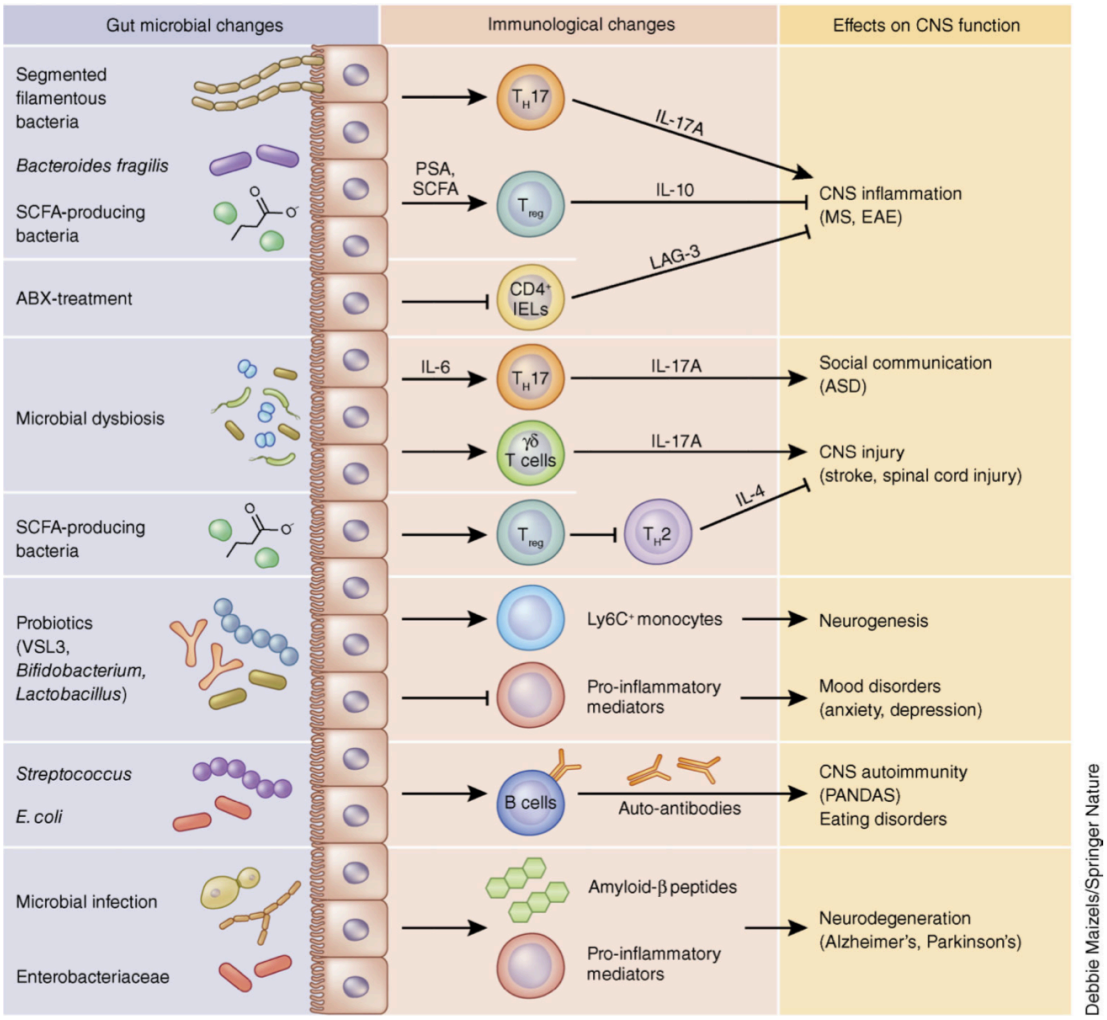

Figure 28 : les principaux effets du microbiote sur les cellules immunitaires et leurs conséquences sur le SNC (89).

Nous voyons que l'inflammation du SNC peut être causée par les cellules TH17, activées par les bactéries filamenteuses segmentées, mais aussi par des auto-anticorps produits par les plasmocytes stimulés par les bactéries *Streptococcus* et *E. Coli* (89).

Certains probiotiques, comme les genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus,* peuvent inhiber les médiateurs pro-inflammatoires et améliorer les états anxieux et dépressifs (89).

Enfin, des cytokines, chimiokines, neurotransmetteurs, neuropeptides, hormones et produits microbiens peuvent être libérés au niveau de l'intestin, et pénétrer dans le sang et/ou dans le système lymphatique. Ils vont, lors de cette libération, activer les signaux neuronaux produits par les neurones afférents vagaux et, ainsi, influencer le comportement (9).

6.2.1.4. Signalisation entéro-endocrine

Les cellules entéro-endocrines sont présentes au niveau de l'intestin grêle, situées dans les cryptes de Lieberkühn (73). Elles sécrètent un nombre varié d'hormones telles que la gastrine, etc. Elles ne représentent que 1 % des cellules de l'intestin. Pour le moment, 10 sous-types ont été identifiés (73). Dans cette partie, nous allons expliquer le fonctionnement des cellules entéro-endocrines de type L et des entérochromaffines. Ces dernières se situent dans une région de l'intestin riche en bactéries, et peuvent détecter les métabolites que le microbiote sécrète.

6.2.1.4.1. Les cellules L-entéro-endocrines

Les cellules entéro-endocrines (CEE) sont des cellules sensorielles. Leur partie apicale communique avec le contenu intestinal. Elles présentent des villosités qui interagissent avec les micronutriments et macronutriments de l'alimentation, et avec les bactéries du microbiote. Lors de la stimulation des CEE, des hormones sont libérées et peuvent agir de manière paracrine ou endocrine. Il existe différents types de CEE ; celles qui nous intéressent le plus sont les cellules entéro-endocrines de type L. Ce sont les seules à pouvoir sécréter 2 hormones : le GLP-1 et le PYY. Ces cellules sont en forme de L, elles possèdent un prolongement au niveau basolatéral appelé "neuropode", qui relie le corps cellulaire de la cellule à une fibre afférente vagale en faisant une synapse avec cette dernière. Les hormones sont stockées dans des vésicules ; elles peuvent se déplacer le long du neuropode (Figure 29) et être libérées au niveau de la synapse, et envoyer un message au cerveau par une fibre afférente (91).

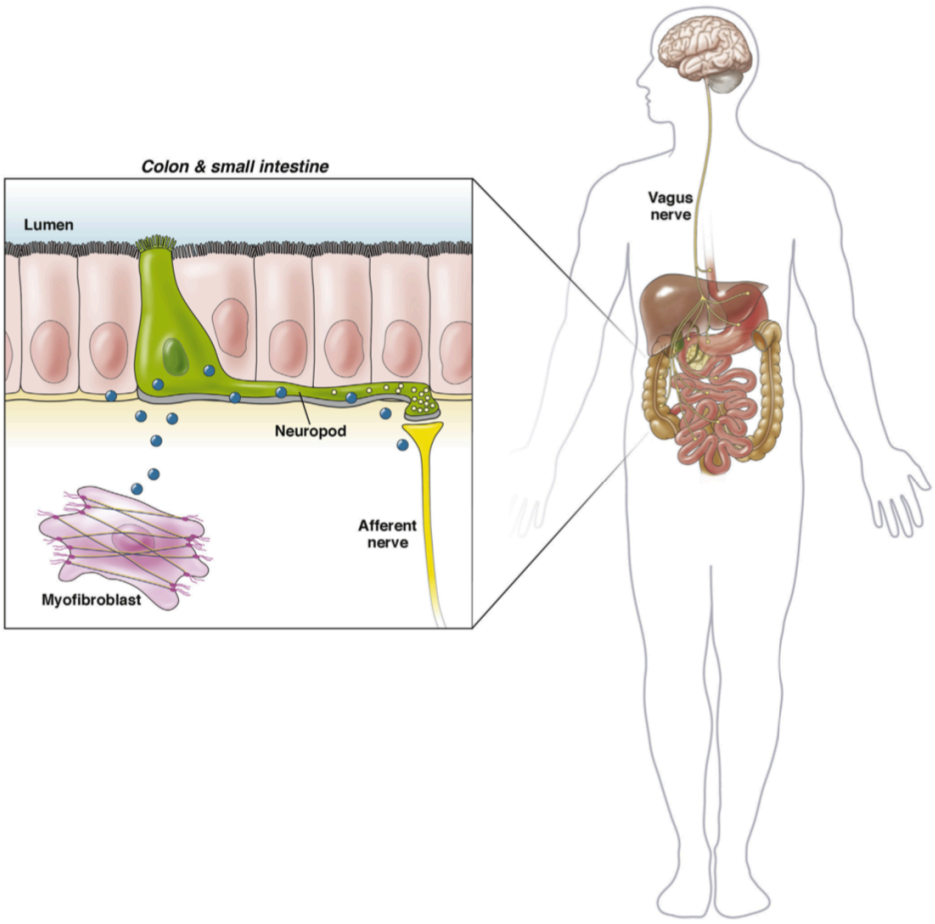

Figure 29 : le neuropode et son implication au niveau du SNA et du SNC (91).

Les CEE de type L possèdent :

- Un transporteur glucose/sodium permettant de détecter les glucides ;
- Des transporteurs FFAR1, FFAR4 pour les acides gras à chaîne courte, produits par le microbiote, et par le monoacylglycérol. (9)

Les acides biliaires secondaires produits par le microbiote peuvent, tout comme les produits de la fermentation des bactéries, stimuler les CEE et aboutir à la libération de GLP-1 et de PYY, permettant ainsi de réduire l'envie de manger, et par conséquent la prise de poids. Cette réaction endocrine réduit la perturbation du métabolisme (9). Il a été constaté dans certaines études que l'apport d'inuline, et de *Lactobacillus* augmentait le taux de GLP-1 (9).

6.2.1.4.2. Les cellules entérochromaffines de Kulchitsky-Masson (CK)

Les CK se situent dans l'antre et le fundus de l'estomac, dans le duodénum et dans l'intestin (92). Ces cellules secrètent de la substance P, des enképhalines et de la sérotonine, grâce à l'apport de tryptophane dans l'alimentation. Lorsque les CK produisent de la sérotonine, cette dernière peut stimuler les fibres afférentes nerveuses de l'intestin et entraîner des modifications du péristaltisme et de la perception de la douleur. Les acides biliaires secondaires produits par les bactéries pourraient aussi moduler la synthèse de 5-HT intestinale (9).

De plus, les LPS présents sur les bactéries pourraient interagir avec les TLR4 des CK et augmenter la synthèse de 5-HT. La sérotonine produite par l'intestin ne peut pas passer la barrière hémato-encéphalique et donc agir de manière directe sur le SNC ; elle agit plutôt de manière indirecte en stimulant les fibres afférentes vagales du SNA. Les antiémétiques inhibiteurs des récepteurs sérotoninergiques (ondansétron, etc..) utilisent ce mécanisme d'action pour inhiber les nausées et vomissements.

Chez des souris présentant un autisme, il a été constaté une diminution de la production de 5-HT lorsque l'espèce *Blautia* (du genre *Clostridiales*) était en trop grande quantité. Pour finir, certaines bactéries sont capables de produire de la 5-HT en déconjuguant des catécholamines (93) (9).

6.2.1.5. L'axe hypothalamo-hypophysaire

L'axe hypothalamo-hypophysaire est la coopération entre 2 systèmes : le système nerveux et le système endocrinien. Il est composé de deux parties : l'hypothalamus et l'hypophyse.

6.2.1.5.1. L'hypothalamus

Il s'agit d'un organe neuroendocrinien impliqué dans les processus physiologiques de survie, le stress, l'hydratation, la faim, le rythme circadien, la croissance, etc. Dans le cerveau, l'hypothalamus se situe dans la partie ventrale du diencéphale. Il est composé de différents noyaux (Figure 31) :

- Le noyau supraoptique ;
- Le noyau paraventriculaire ;

  ➔ Synthèse de l'ADH, ocytocine, la lactation ;
- Le noyau suprachiasmatique : contrôle du rythme circadien ;
- Le noyau antérieur : régulation de la température ;
- Le noyau ventromédial : régulation de la satiété ;
- Le noyau dorso-médial : expression du comportement de la colère et de l'agressivité ;
- Le noyau arqué : centre de commande des hormones ;
- Le noyau mamillaire : rôle dans la mémoire (24).

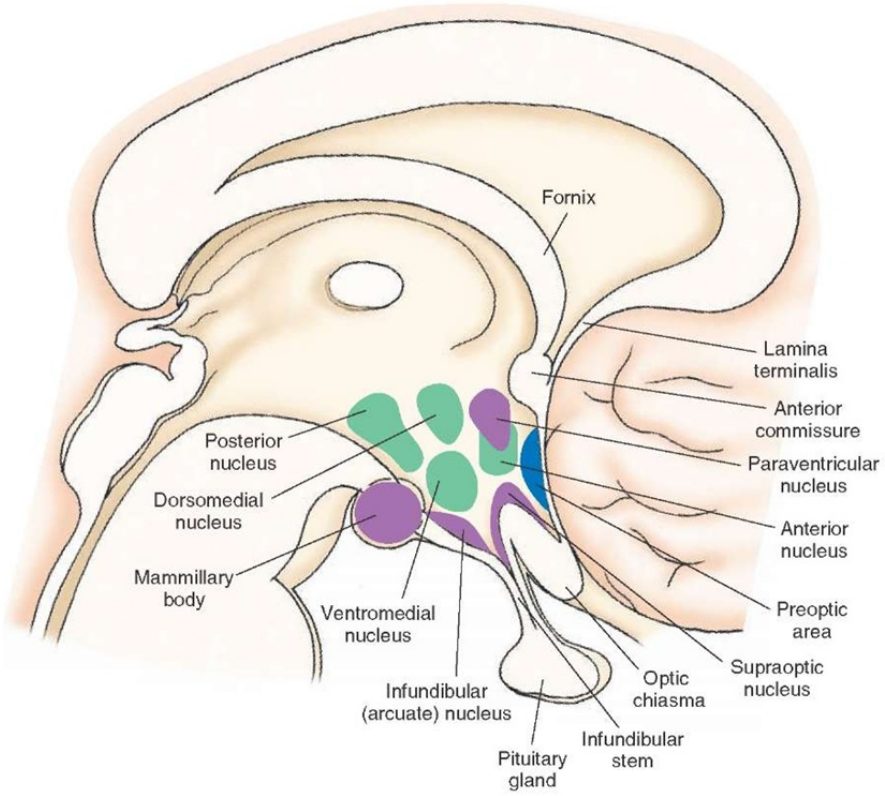

Figure 30 : les différents noyaux de l'hypothalamus (94).

6.2.1.5.2. L'hypophyse

L'hypophyse est une glande composée de deux parties : l'adénohypophyse, reliée à l'hypothalamus par un système endocrinien, et la neurohypophyse, reliée par des neurones à l'hypothalamus. Cette glande, suite à sa stimulation par l'hypothalamus, va sécréter différentes hormones qui seront libérées dans la circulation sanguine (24).

6.2.1.5.3. Le microbiote et l'axe HH

Le lien entre le microbiote et l'axe hypothalamo-hypophysaire est très étudié. Lors d'un stress important, qu'il soit d'origine psychique ou physique, le noyau paraventriculaire entraîne la libération de CRH (*corticotropin releasing factor*) et va venir stimuler la libération d'ACTH par l'hypophyse, laquelle, à son tour, va agir sur les glandes surrénales et aboutir à la sécrétion de cortisol chez l'homme et de corticostérone chez la souris. Physiologiquement, l'axe HH est régulé par un rétrocontrôle négatif lors d'une augmentation trop importante des hormones. Mais, lors d'un stress chronique, par exemple, il peut y avoir un dérèglement de l'axe HH (24).

6.2.1.5.3.1. L'axe HH et le microbiote chez le nouveau-né

Un stress subi en phase pré / post-natale peut aboutir à un dérèglement du microbiote, conduisant à une dysbiose et/ou à un dérèglement de l'axe HH (95). A la naissance, le microbiote interagit avec l'axe HPA et peut moduler son activité (95). En cas de dysbiose à la naissance, l'HH peut se retrouver totalement déréglé et affecter les fonctions physiques et psychologiques (95).

Peu de recherches sur l'impact, à la naissance, du microbiote sur l'axe HH ont été publiées. Mais l'équipe de Sudo et al. a évalué la réponse au stress chez trois populations différentes de souris :

- Des souris « gut free » ;
- Des souris avec un microbiote sans pathogènes spécifiques (SPF)
- Des souris avec des micro-organismes précis, dites gnotobiotiques.

Ces animaux ont été soumis à un stress, au cours duquel leurs taux de corticostérone et d'ACTH ont été observés. Chez les souris GF, le taux d'ACTH et de corticostérone était plus important que chez les souris SPF.
L'absence de microbiote nous rend donc potentiellement plus sensible au stress. Mais un fait intéressant est que lors du transfert de microbiote de souris SPF vers une souris GF à 9 semaines d'âge, la réponse de l'axe HH (par rapport au taux d'ACTH et de corticostérone) a été partiellement diminuée mais uniquement à un stade précoce du développement ; à 17 semaines d'âge, cet effet n'a pas été constaté. Cela suggère donc qu'une greffe fécale effectuée à un stade

précoce du développement pourrait restaurer l'axe HH déréglé par divers facteurs (stress, dysbiose...), lorsque la plasticité cérébrale peut encore être préservée (96).

6.2.1.5.3.2. Un chemin bidirectionnel

6.2.1.5.3.2.1. L'impact d'une suractivation de l'axe HH sur le microbiote

Le stress augmente la perméabilité intestinale (97). Une sollicitation anormale de l'HPA au cours du développement cérébral peut impacter la colonisation bactérienne (97). En effet, les catécholamines produites par le stress peuvent stimuler les bactéries GRAM négatives et donc entraîner une dysbiose (97).

Un échec social, une séparation maternelle, des contraintes, le bruit... peuvent entraîner un changement de microbiote du fait du stress occasionné. Ce dernier joue sur la motilité intestinale, peut altérer la barrière épithéliale et causer une fuite intestinale. Ce « *leaky gut* » entraîne alors un état pro-inflammatoire et des conséquences sur le cerveau (98).

6.2.1.5.3.2.2. Le microbiote agit sur l'axe HH

Plusieurs hypothèses ont été émises pour décrire l'impact du microbiote sur l'axe HH.

Tout d'abord, l'hypothèse selon laquelle, lors d'une dysbiose, les bactéries du microbiote activeraient le système immunitaire via les LPS ou les peptidoglycanes, et entraîneraient la production de cytokines. Celles-ci traverseraient la BHE et activeraient l'axe hypothalamo-hypophysaire, induisant alors la sécrétion de CRH, puis de cortisol (98) (97).

Il y a aussi la possibilité que le microbiote stimule le nerf vague par les différents neurotransmetteurs qu'il produit, en activant le tractus solaire puis l'axe HH (88).

L'équipe de Hadizadeh et al. a étudié les effets de la supplémentation en probiotiques sur les fonctions cognitives et sur l'anxiété, via l'axe HH. L'étude a été faite chez des rats ; l'un des groupes a reçu une supplémentation de probiotiques en phase prénatale, entre le 1er et le 14^{e} jour de gestation et, en phase post-natale, entre le 31^{e} et le 45^{e} jour de vie. Les rats témoins et le groupe supplémenté ont été soumis à un stress avant et après la supplémentation. L'étude a

conclu à une diminution de l'anxiété chez les rats supplémentés, mais aussi à une amélioration de l'apprentissage, de la mémoire chez ces animaux. En outre, la supplémentation en probiotiques avait diminué le niveau de corticostérone (99).

L'équipe de Vagnerová et al. a étudié l'influence du microbiote sur l'hypothalamus, l'hypophyse et les surrénales. Sur des souris mâles « *germ free* », le taux de corticostérone était plus élevé que chez les souris SPF, à la suite d'un stress aigu (100). Le microbiote a donc son importance dans la gestion du stress au niveau de l'axe HH. Ils ont remarqué que dans l'hypophyse des souris SPF exposées au stress, l'expression du gène CrHr1 (codant pour le récepteur CRHR) était diminué, et celui de la sensibilité aux glucocorticoïdes, Frbp5, était augmenté par rapport aux souris « germ free » (100).

Plusieurs souches de probiotiques ont été testées pour déterminer leur impact sur l'axe HH.

- L'espèce *Lactobacillus helveticus* : elle réduirait le taux de cortisol et aurait un effet anxiolytique (97) ;
- *Bifidobacterium longum* : elle aurait les mêmes effets que *Lactobacillus helveticus* et, en outre, améliorerait la mémoire (97) ;
- *Lactobacillus farciminis :* elle atténuerait l'activation de l'axe HH et réduirait la perméabilité intestinale (97).

Le(s) mécanisme(s) d'action exact(s) reste(nt) encore non connu(s) à ce jour.

6.2.2. Les messagers

6.2.2.1. Les neurotransmetteurs

Les bactéries de notre microbiote sont des organismes vivants ; nous avons vu qu'elles étaient capables de produire divers métabolites : acides gras à chaîne courte, gaz, acides biliaires secondaires, etc. Mais elles peuvent aussi synthétiser des neurotransmetteurs pouvant influencer l'humeur et le comportement de l'individu.

6.2.2.1.1. Les catécholamines

Les catécholamines (adrénaline, noradrénaline, dopamine) sont des molécules ayant un effet sympathicomimétique. Elles sont notamment synthétisées lors d'un moment de stress. Après un grand stress, il est assez fréquent de tomber malade. Le système immunitaire est affaibli et une production importante de noradrénaline, impliquant l'induction de gènes de virulence bactériens, est observée. Le risque infectieux est augmenté.

La noradrénaline pourrait causer :

- Un effet chimiotactique (répulsion ou attraction) entre les bactéries et la muqueuse intestinale ;
- Une augmentation de la disponibilité du fer et, donc, de la croissance bactérienne ;
- Un effet quorum sensing (QS) sur les récepteurs des histidine kinases des bactéries, entraînant la transcription de gènes de virulence (9).

Le quorum sensing se définit par l'aptitude d'un micro-organisme à détecter et à réagir aux signaux moléculaires (101). Ce dernier communique sur la densité microbienne et régule la transcription des gènes. Il s'agit d'une « manière » de communiquer entre les bactéries. Il existe deux types de quorum :

- Le premier quorum sensing est un système de détection des signaux environnementaux, qui peut se faire par les N-acyl homoserine lactones ;
- Le second par les senseurs histidine kinases membranaires (101).

Comme cela a été vu dans la partie 2.3.2.1, la dopamine est produite à partir de la tyrosine ; elle est le substrat de la dopamine β-hydroxylase pour donner de la noradrénaline, laquelle, à son tour, donnera de l'adrénaline par la phényléthanolamine N-méthyl-transférase (102).
Cette dernière enzyme est déficitaire dans les neurones entériques, les empêchant de synthétiser l'adrénaline. Mais certaines bactéries (*E. Coli* et certains *Lactobacillus*) seraient capables de synthétiser de la dopamine et de la noradrénaline grâce à leur enzyme β-glucuronidase (9). Les circuits dopaminergiques sont sensibles aux modifications du microbiote. Beaucoup d'études divergent sur l'augmentation ou la diminution du taux de dopamine dans les différentes structures du SNC (hippocampe, striatum, cortex préfrontal), mais il existe bien une différence

entre les souris « gut free » et les souris sans germes spécifiques au niveau du réseau dopaminergique (9).

La mise en route d'une antibiothérapie, composée de plusieurs familles d'antibiotiques, chez des souris mâles et des rats, a entraîné une augmentation du L-Dopa dans le cortex préfrontal. Il n'est donc pas exclu que la dysbiose interagisse avec la neurochimie de la dopamine (9).

6.2.2.1.2. Le GABA

Les bactéries *E.Coli* et *Lactobacillus* synthétisent du GABA, le principal neurotransmetteur inhibiteur de l'organisme. Chez des souris « *germ free* », la production de GABA dans l'intestin est plus faible que chez les souris classiques (9). Dans une étude sur la gestion de la douleur dans le syndrome du côlon irritable, l'équipe de Perez Berezo T et al. a découvert que le GABA produit par *E.Coli Nissle* 1917 associé à une lipoprotéine, pouvait traverser la barrière intestinale et stimuler les récepteurs GABA des neurones sensoriels (9).

Le GABA est produit à partir de l'acide glutamique grâce à la GABA décarboxylase. Les gènes de cette enzyme seraient retrouvés dans le microbiote fécal. Certaines bactéries ont à leur surface des récepteurs au GABA et peuvent ainsi détecter sa présence dans le milieu extracellulaire (9).

6.2.2.1.3. L'histamine

L'histamine est une protéine qui agit comme messager sur les autres cellules et fait varier leur activité et leur fonction. L'histamine est retrouvée dans :

- Les cellules du système immunitaire : mastocytes, basophiles, lors de la dégranulation via une hypersensibilité de type I (103) ;
- Dans les cellules entérochromaffine-like, où elle agit sur les récepteurs H2 des cellules pariétales (49) ;
- Dans le SNC, pour le contrôle de l'éveil (103).

L'histamine est produite à partir de l'histidine, et certaines bactéries comme *Morganella morganii* et *E. Coli* peuvent en produire (9). L'expression du gène pour l'histidine

décarboxylase a été retrouvée dans les fèces humaines. Il existe donc une possibilité que le microbiote puisse en synthétiser. Pour finir, les neurones vagaux afférents peuvent détecter l'histamine, donc celle potentiellement produite par les bactéries, et moduler certaines fonctions du SNC (9).

6.2.2.1.4. La sérotonine, le tryptophane et la kynurénine

La sérotonine est produite à 95 % dans notre intestin à partir du tryptophane, dans les cellules entérochromaffines. Elle peut être libérée lors de la stimulation des cellules par divers signaux, mais aussi par *Clostridium perfringens*. Cette bactérie commensale du microbiote est capable de moduler la production de 5-HT, via la tryptophane hydroxylase 1 (9).

Les souris « germ free » ont un taux de sérotonine réduit aux niveaux caecal et colique mais, lors d'une greffe de microbiote, sa concentration réaugmente (9).

La sérotonine est retrouvée dans le foie, sous forme conjuguée en 5-HT-O-glucuronide. L'étude de Hata et al. a montré l'importance des bactéries dans le processus de déconjugaison de la sérotonine dans l'intestin, permettant l'augmentation du taux de 5-HT active. Cette découverte a été faite en comparant les taux de souris GF et de souris recolonisées (104).

Le tryptophane est un acide aminé essentiel qui doit être apporté par l'alimentation. Le tryptophane n'est pas seulement le précurseur de la sérotonine, mais aussi celui de la kynurénine. Cette dernière peut être produite au niveau du foie grâce à la tryptophane dioxygénase (TDO) ou dans l'intestin par l'indoleamine 2,3-dixoygénase (IDO), comme l'illustre la figure 30 (9).

Le tryptophane est d'abord métabolisé en 5-HT au niveau de l'intestin grêle par les cellules entérochromaffines, et le reste du tryptophane non absorbé est métabolisé par le microbiote en indole ou en acide kynurénique. Il est possible que le tryptophane et la kynurénine passent ensuite la BHE (105).

Le SNC reçoit 60 % de la kynurénine périphérique. La microglie produit, à partir de cette dernière, un agoniste des récepteurs NMDA. Les astrocytes peuvent également produire un agoniste des récepteurs α-7 nicotiniques (105).

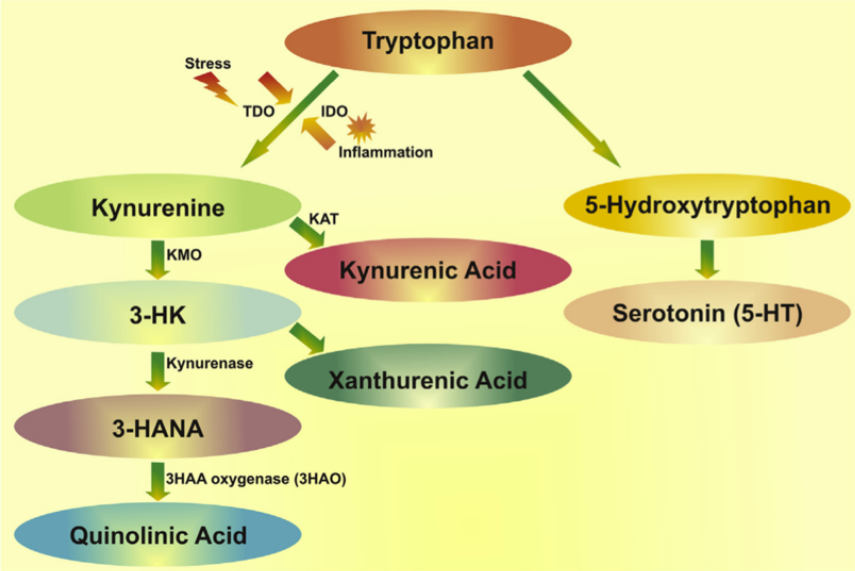

Figure 31 : les voies de dégradation du tryptophane (106).

De plus, selon Dinan Tg et al., les métabolites produits par le microbiote à partir du tryptophane agissent sur la microglie, notamment les astrocytes, et sont à l'origine d'un état inflammatoire au niveau du SNC (106).

L'acide quinolinique et l'acide kynurénique, qui sont des métabolites produits à partir de la kynurénine, sont donc neuroactifs (107).

Ils agissent comme :

- Antagonistes sur les récepteurs NDMA du glutamate (107) (108) ;
- Antagonistes des récepteurs α 7 nicotiniques de l'acétylcholine du SNC ;
- Antagonistes dans le SNE sur le récepteur GPR35 retrouvé dans les cryptes de Lieberkühn (107)(109).

La métabolisation des protéines par les bactéries du microbiote intestinal entraîne, par désamination, la production d'indole (45), notamment lors du métabolisme du tryptophane.

L’indole aurait des effets, sur :

- L’intégrité de la barrière épithéliale intestinale ;
- L’inflammation intestinale ;
- Les radicaux libres, en les piégeant (105).

Les cellules immunitaires sont aussi productrices de métabolites kynuréniques, car elles possèdent les enzymes IDO et KAT. Lors d’un état inflammatoire chronique de bas grade, elles peuvent conduire à une forte élévation de kynurénine (106) (107).

La perturbation de la kynurénine a été impliquée dans de nombreuses maladies, notamment la schizophrénie (que nous détaillerons dans la prochaine partie). En fonction du tissu et des stimuli extérieurs, le tryptophane va être métabolisé :

- En kynurénine dans le foie par la TDO lors d’un stress, sous l’action des glucocorticoïdes ;
- En kynurénine par l’IDO lors d’une infection, car cette enzyme est stimulée par les cytokines inflammatoires (106) (107).

6.2.2.2. Les acides aminés à chaîne latérale ramifiée

Les BCAA sont des acides aminés ramifiés ; on peut notamment citer la leucine, l’isoleucine et la valine. Il s’agit de trois acides aminés essentiels qui doivent être apportés par l’alimentation. Ils permettent la production de nombreuses protéines, la sécrétion d’insuline, la production d’énergie, etc. Ce sont les premiers acides aminés utilisés lors de la sollicitation musculaire d’un effort long. Cela entraîne l’élévation du taux d’ammoniaque dans le sang et la production de tryptophane. Ce dernier, par passage au travers de la BHE, permet l’induction de sérotonine (110). Lors de la métabolisation des protéines et des glucides par les bactéries du microbiote intestinal, les produits de fermentation sont des AGCC simples (acétate, propionate, butyrate…) mais aussi des AGCC ramifiés (isobutyrate et isovalérate). Les acides gras à chaîne courte sont formés notamment par le métabolisme des BCAA (45). Selon le Dr Martin Juneau et al., l’espèce *Prevotella Copri* synthétise les BCAA (111).

Les équipes de Wang Z et al. et de Yin et al. ont constaté que la supplémentation en BCAA entraînait une augmentation du phylum *Firmiticus* et une diminution du phylum *Bacteroides*. La diminution de ce dernier réduirait l'inflammation causée par les lipopolysaccharides des bactéries (112)(113).

6.2.2.3. Les acides biliaires

Les bactéries du microbiote sont responsables de la synthèse d'acides biliaires secondaires. La déconjugaison des acides biliaires primaires par les bactéries est due à l'enzyme BSA (*bile sale hydrolase*). Cette enzyme est présente chez beaucoup de bactéries, notamment du genre *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, et *Bacteroides,* dont le but principal est de réduire la toxicité des acides biliaires (114).

Divers mécanismes antimicrobiens des acides biliaires protègent l'intestin :

- Propriété détergente par solubilisation membranaire des bactéries (114) ;
- Dommage sur l'ARN bactérien ;
- Stress oxydatif ;
- Dénaturation des protéines (115).

Ils permettant d'empêcher la translocation bactérienne, lors d'une fragilisation de la barrière épithéliale (9).

Le microbiote produit des acides biliaires secondaires à partir des acides biliaires primaires.
Il s'agit de l'acide désoxycholique, provenant de l'acide cholique, et de l'acide lithocholique provenant de l'acide chénodésoxycholique (114).

Il existe une communication bidirectionnelle entre le microbiote et le système biliaire. C'est-à-dire que le microbiote produit des acides biliaires, et ces mêmes acides biliaires régulent la prolifération du microbiote (115).

Lors d'une diminution d'acides biliaires, le microbiote serait trop abondant, ce qui engendrerait une inflammation et une détérioration de l'épithélium (9).

Les acides biliaires sont « contrôlés » par le *farnesoïd X receptor* (FXR). Ce récepteur est un régulateur des voies biliaires, inflammatoires, fibreuses et métaboliques. Lors de son activation, le taux d'acides biliaires dans les hépatocytes diminue.
L'équipe de Friedman et al. a utilisé l'acide obéticholique, un agoniste FXR, et a remarqué une augmentation des taxons de bactéries Gram positives anaérobies facultatives dont *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei* et *lactis* (115). De plus, le fait d'entraîner une obstruction biliaire aboutit à une prolifération bactérienne et à une translocation des bactéries dans l'intestin grêle. Lorsque le gêne FXR n'est pas actif chez la souris, on constate une augmentation des acides biliaires primaires et une diminution des bactéries synthétisant les acides biliaires secondaires (114).

Concernant le lien avec le cerveau, les acides biliaires peuvent agir comme détergent sur la membrane des bactéries, mais aussi sur la BHE, affecter sa perméabilité et provoquer un afflux d'acides biliaires dans le cerveau et, donc, une toxicité éventuelle. L'implication des acides biliaires dans la maladie d'Alzheimer est mise en exergue par certains articles (116).

6.2.2.4. Les acides gras à chaîne courte

Les AGCC sont majoritairement produits par la fermentation des glucides indigestes ; l'acétate, le butyrate et le propionate, ainsi que d'autres acides en quantité moins importante tels que les acides isovalérique et hexanoïque, figurent au nombre de ces glucides. 90 % de ces AGCC sont produits dans le côlon. Lors de la production d'AGCC, environ 40 % sont utilisés comme substrat énergétique par les colonocytes, et les 60 % restants sont réabsorbés et métabolisés par le foie pour produire de l'énergie. Pour passer dans les colonocytes, les AGCC peuvent utiliser divers transporteurs : SLC 5A8, MTC, les FFAR 2 et FFAR3 (117).

6.2.2.4.1. Les AGCC et l'histone désacétylase

Les histones désacétylases sont des enzymes qui régulent l'expression des gènes dans les cellules en augmentant les niveaux de compaction de l'ADN, ce qui empêche l'expression de certains gènes (118). Plusieurs études ont prouvé que les AGCC étaient des inhibiteurs des histones désacétylases. Selon l'équipe de Wu S et al., le butyrate diminuerait l'ARNm de certaines histones désacétylases sur des cellules bovines (117). Lors d'une injection de butyrate en SC ou par voie intrapéritonéale, l'acétylation des histones est augmentée ; elle améliore

l'apprentissage et diminue le comportement dépressif (9). L'action sur l'inhibition de l'acétylation des histones est particulièrement décrite pour les gènes de l'inflammation.

6.2.2.4.2. Les AGCC et l'effet anti-inflammatoire

Selon la revue de Schilderink et al., à l'institut Tytgat pour la recherche sur le foie et l'intestin, le butyrate a des effets anti-inflammatoires sur les cellules CACO-2 (117) (cellules capables d'exprimer différentes caractéristiques des cellules intestinales adultes, soit les entérocytes (92)).

Les chercheurs ont traité les cellules avec de l'interleukine-1 β, et ont ajouté du butyrate à des concentrations différentes. Ils ont ensuite déterminé le rapport KC / cyclophiline (cytokin neutrophil attracting chemokine) / cyclophiline) et le rapport CCL2 / cyclophiline. Plus la concentration de butyrate augmente, plus le rapport KC / cyclophiline augmente. Ce qui suggère une augmentation du taux KC. L'augmentation de sa concentration est un signe de réduction de l'inflammation. Et, inversement, le rapport CCL2/cyclophiline diminue, sachant qu'un taux élevé de CCL2 est pro-inflammatoire. Nous pouvons donc suggérer que plus le taux de butyrate est élevé, plus l'inflammation est réduite sur les cellules CACO-2 (117).

Ainsi, les AGCC modulent la réponse épithéliale face aux cytokines en fonction de leur taux de concentration.

Cette même revue répertorie divers effets des AGCC, à savoir :

- Le propionate stimule le facteur de transcription AP-1. Ce dernier régule l'expression des gènes des cytokines et des facteurs de croissance et la réponse à un stress (119) ;
- Le butyrate réduit l'expression de NFkB, IL-8 (117) ;
- Le butyrate favorise l'assemblage des jonctions serrées et permet donc d'améliorer l'imperméabilité paracellulaire (117). Cette amélioration passe notamment par l'acétylation des histones, qui inactive les gènes de l'inflammation de la barrière épithéliale et diminue alors la perméabilité digestive (117).

De plus, les récepteurs FFAR2 et FFAR3 sont exprimés sur les cellules immunitaires telles que les mastocytes, lymphocytes B et monocytes, et les AGCC peuvent donc réguler leur réponse inflammatoire (117).

6.2.2.4.3. Les AGCC et la stimulation du nerf vague

L'équipe de Goswami et al. a étudié la prise alimentaire chez des souris, lors d'un apport en AGCC. La prise alimentaire a été diminuée dans les 30 minutes qui ont suivi l'administration de butyrate en quantité importante. Cet effet n'a pas perduré au-delà d'une heure (120).
De plus, lors d'une désensibilisation des nerfs sensitifs afférents à la capsaïcine ou d'une vagotomie hépatique, les effets de réduction alimentaire par le butyrate n'ont pas été observés. Avec d'autres tests sur le mécanisme d'action, il en a donc été déduit que l'effet anorexigène des AGCC passait par le nerf vague (120).

L'équipe de Lal et al. est arrivée à la même conclusion, à savoir que le butyrate agissait de manière directe sur les fibres afférentes vagales terminales. Bien entendu, les fibres afférentes vagales ne sont pas en contact direct avec la lumière intestinale ; c'est pourquoi l'équipe a supposé que les AGCC étaient absorbés à travers l'épithélium muqueux jusqu'au terminal nerveux dans la lamina propria, qu'ils activaient les fibres afférentes vagales et, donc, qu'ils impactaient le cerveau (121). Il est aussi possible que les acides gras à chaîne courte agissent sur les cellules entérochromaffines, via les récepteurs FFAR, et provoquent la libération de 5-HT. Cette dernière pourrait alors avoir une action sur les fibres afférentes vagales, et donc sur le cerveau (122).

6.2.2.4.4. Les effets des AGCC sur le cerveau

Le récepteur FFAR3 est un récepteur permettant le passage des AGCC à travers les membranes. Nous avons vu qu'il était présent sur les cellules de l'immunité mais il l'est aussi au niveau du cerveau. L'équipe de Hoyles et al. a injecté 1 µm de propionate sur des cellules hCMEC/D3 (des cellules endothéliales cérébro-microvascularisées immortelles humaines) pendant 24 heures, pour analyser l'effet de cet AGCC. Ils ont constaté la modification de l'expression de certains gènes avec :

- L'inhibition de certaines voies associées à des infections microbiennes ;
- L'inhibition de la voie NFkB et des toll-récepteurs ;
- La modification de l'expression des gènes de l'inflammation.

Pour accentuer l'effet anti-inflammatoire du propionate et l'effet protecteur sur la BHE, ils ont traité les cellules avec un composé de 1 µm de propionate et de LPS, pendant 12 heures. La conclusion de cette expérience était que le propionate avait diminué les effets de la perméabilisation, causée par les LPS sur le BHE (123).

En outre, les AGCC peuvent passer la BHE et agir sur la microglie. En effet, l'équipe de Wenzel et al. a travaillé sur des cultures de cellules humaines qui expriment les récepteurs FFAR2 et 3. Les chercheurs ont utilisé un mélange d'AGCC et ont constaté une réduction de la libération d'IL-1 β, de TNF-α et de cytotoxines par des cellules de type microglie (124).

L'équipe de Van de Wouw et al. a, pour sa part, étudié chez des souris mâles l'impact des AGCC sur le stress. Les souris ont été soumises à trois semaines de stress et ont passé de nombreux tests pour évaluer le stress psychosocial induit et l'effet des AGCC sur ce dernier. Les chercheurs en ont conclu que l'administration d'AGCC atténuait l'anhédonie et le stress, et diminuait la perméabilité intestinale. De surcroît, l'expression génique des récepteurs impliqués dans la signalisation du stress a été diminuée dans l'hypothalamus, l'hippocampe et le côlon (125).

6.2.2.4.5. La physiologie et le comportement modulés par les dérivés des AGCC

Les AGCC seraient capables d'influencer la cognition et les émotions. C'est ce qu'ont essayé de démontrer les équipes de Lee et al. et de Skonieczna-Zydecka et al. Chez Lee et al., un microbiote « jeune » et un microbiote « âgé » ont été transplantés à des souris sans microbiote. Le taux d'AGCC était réduit pour le deuxième groupe (microbiote « âgé ») et les souris présentaient un comportement dépressif et leur mémoire à court terme et spatiale était altérée (126). Pour l'équipe de Skonieczna-Zydecka et al., sur une population de 116 femmes âgées de 52 ± 4,7 ans, dont 47 étaient reconnues comme dépressives, le taux d'AGCC chez les femmes déprimées étaient plus faible. Cette étude n'est malheureusement pas très pertinente car le nombre de femmes souffrant d'une dépression sévère à modérée était faible. Mais cela montre

tout de même de possibles réponses quant à l'impact des acides gras à chaîne courte sur le cerveau et le comportement (127).

6.2.2.5. Les peptidoglycanes

6.2.2.5.1. Structure des peptidoglycanes

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires qui possèdent une paroi (Figure 32). La coloration de GRAM est une technique qui permet de distinguer les propriétés de ladite paroi. Lorsque la bactérie possède une paroi simple, celle-ci est composée de peptidoglycanes, on dit que les bactéries sont GRAM positives. Les bactéries GRAM négatives possèdent, pour leur part, une double paroi composée de LPS et de peptidoglycanes (128).

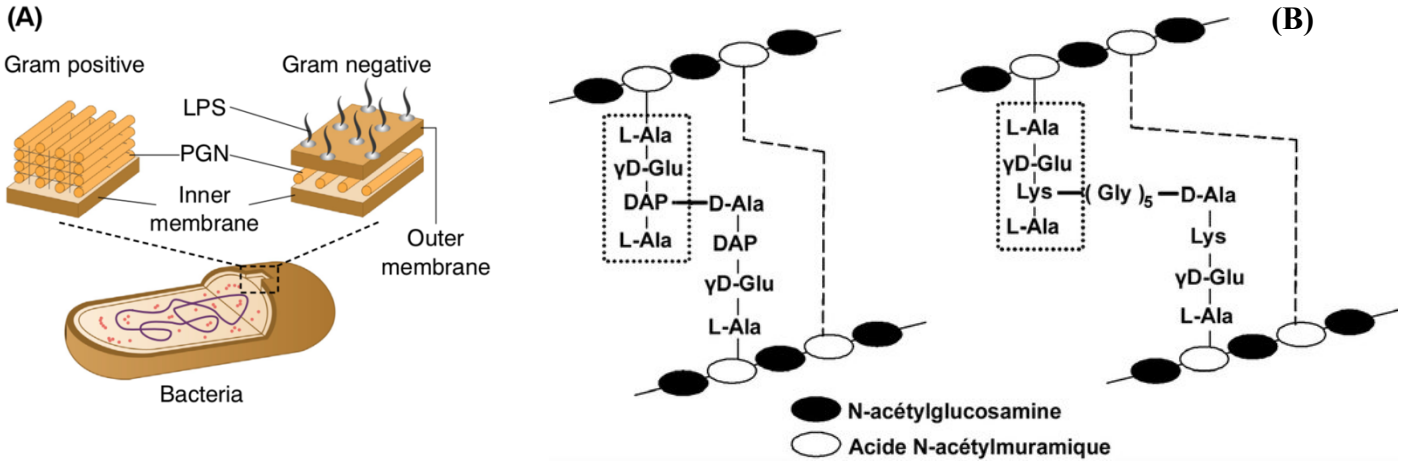

Figure 32 : composition de la paroi des bactéries (129).
Image A : Différences entre les bactéries GRAM positives et les bactéries GRAM négatives.
Image B : Composition d'un peptidoglycane.

Un peptidoglycane est composé d'une partie peptidique et d'une partie glucidique. La partie glucidique est composée d'une alternance entre 2 sucres, le N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N- acétylmuramique (NAM). Au niveau de ce dernier, des liaisons peptidiques relient 2 chaînes. La partie protéique est toujours composée de 2 à 5 acides aminés, soit :

- L-alanine ;
- D-glutamate ;
- Acide aminé dibasique ;

- D-alanine ;
- D-alanine.

C'est au niveau de l'acide aminé dibasique que nous observons une différence entre les bactéries GRAM négatives, où l'acide aminé est un L-lysine, et les bactéries GRAM positives où il s'agit d'un acide diaminopimélique (130).

6.2.2.5.2. Les récepteurs de reconnaissance aux peptidoglycanes et aux lipopolysaccharides

Les peptidoglycanes et les LPS sont considérés comme des motifs moléculaires associés aux pathogènes, détectables par différents types de récepteurs du système immunitaire inné.

Comme nous l'avons vu plus haut, plusieurs récepteurs ont été rapportés par la littérature :

- Les récepteurs Toll-like ;
- Les PGN : *PGN recognition proteins* ;
- Les *NOD-like receptors.*

6.2.2.5.3. L'impact des peptidoglycanes et des LPS sur le cerveau

Le microbiote est composé de bactéries GRAM positives et GRAM négatives, et nos cellules immunitaires sont capables de reconnaître les LPS et PG produits par nos bactéries intestinales.

L'équipe d'Arentsen et al. a prouvé l'existence de peptidoglycanes provenant de l'intestin dans la circulation sanguine. Ils ont comparé la présence de peptidoglycanes dans le sérum de souris GF et SPF mâles et ont constaté une quantité plus importante chez les secondes. Le passage des PG dans la circulation sanguine peut être expliqué par le fait que la barrière intestinale est modifiée, laissant « échapper » des composants bactériens. Ils peuvent aussi passer la BHE. Les chercheurs ont constaté une augmentation des PG au niveau du cervelet, parallèlement à la colonisation bactérienne post-natale. Par PCR, ils ont étudié la famille des PGRP et des NOD au cours du développement post-natal ; tous ces récepteurs étaient exprimés dans le cerveau en développement pendant des périodes temporelles spécifiques (131). Pour rappel, les récepteurs NOD reconnaissent les motifs moléculaires associés à des pathogènes.

L'équipe de Rehman et al. a, au moyen d'un test PCR, trouvé qu'en l'absence de sommeil, le taux de PG était plus important au niveau du cerveau (132) (133). De plus, l'absence de la protéine Pglyrp2, pour *peptidoglycan recognition protein 2*, chez des souris, entraîne un niveau de sociabilité plus important. Quant aux souris GF, elles ont aussi un niveau de sociabilité plus important que les SPF (131). Ces études montrent bien que les PG peuvent se retrouver dans la circulation générale, traverser la BHE et avoir un impact direct sur le cerveau.

Concernant les LPS, il est de plus en plus prouvé qu'une perméabilité accrue de l'intestin favorise le passage de ces derniers dans la circulation sanguine. Cela entraîne une activation des TLR-4 et de la voie NFkB, induisant la libération de cytokines pro-inflammatoires (134). L'équipe de Kiecolt-Glaser et al., dans une étude croisée randomisée en double aveugle, a voulu déterminer le taux de LPB (*LPS- boading protein*) chez 43 couples dont le mariage battait de l'aile. Les personnes avec une interaction conjugale hostile et faible avaient un taux de LPB plus élevé dans le sang et avaient des lombalgies plus importantes. De plus, le taux de CRP était corrélé avec l'augmentation des LPB. Cette inflammation de bas grade pourrait augmenter le stress et entraîner une inflammation auto-entretenue (134).

6.2.2.5.4. Le passage des peptidoglycanes à travers le placenta

Dans la revue de Tosoni et al., des chercheurs ont trouvé que les récepteurs NOD-1, NOD-2, TLR2 étaient présents sur le placenta. Ils se sont donc demandé si le microbiote maternel pouvait influencer le cerveau du fœtus en développement et potentiellement conduire à des perturbations (135). Dans la revue de Laman et al., la capacité des PG à traverser la barrière placentaire et à activer les TLR-2 des cellules fœtales est également décrite (133).

6.3. Le microbiote et la plasticité cérébrale

Le facteur neurotrophique dérivé du cerveau, soit le BDNF pour *brain-derived neurotrophic factor,* est une neurotrophine c'est-à-dire une protéine stimulant et contrôlant la neurogénèse. Même après la naissance, l'Homme est capable de restaurer et de régénérer des neurones à partir de cellules souches (136). Ce facteur de croissance est exprimé dans le cerveau, mais aussi dans d'autres organes tels que les reins ou la prostate (136). Au niveau cérébral, il agit surtout au niveau de l'hippocampe, du cortex, du prosencéphale basal et des aires pour

l'apprentissage et la mémoire notamment (136). Il se fixe sur les récepteurs TrkB présents sur certaines cellules (136).

La plasticité cérébrale est définie comme la capacité du système nerveux à changer sa réactivité à la suite de stimulations successives (137).

6.3.1. Le lien entre l'intestin et un facteur neurotrophique : le BDNF

L'équipe de Jena et al. a étudié l'impact du régime alimentaire sur le BDNF. Chez des souris nourries sur une longue période avec un régime riche en graisses et en sucres, ils ont mis en évidence la présence d'une inflammation du côlon, de l'iléon, de la rate mais aussi une activation de la microglie. Cette suractivation peut causer la mort des cellules neuronales à long terme (138).

Comme cela a été abordé dans la partie 5.2.3, l'alimentation influence la composition du microbiote. Une alimentation inadéquate peut entraîner une inflammation systémique et laisser passer des composants bactériens au niveau cérébral. Ainsi, la plasticité cérébrale peut, comme l'a prouvé l'équipe de Jena et al., en être affectée mais est-ce que cela se fait via le microbiote (139) ?

L'équipe de Mohammed et al. a, en partie, répondu à cette question. Chez des rats, un régime riche en graisses et une dysbiose ont entraîné l'apparition d'une NASH (stéatose hépatique non alcoolique). Ces rats présentaient une augmentation du poids, un déficit cognitif, une diminution du BDNF et une diminution des cellules pyramidales dans l'hippocampe. En revanche, pour un groupe de rats qui présentaient une NASH, mais dans l'alimentation desquels on avait ajouté l'espèce *Lactobacillus plantarum*, l'ensemble des paramètres, dont celui du BDNF, s'améliorait (140).

Nous avons vu que le microbiote agissait sur le nerf vague, via divers mécanismes (neuropodes, neurotransmetteurs, etc.). L'ablation du nerf vague entraînerait une diminution de l'ARNm du BDNF au niveau de l'hippocampe, une diminution de la prolifération des cellules et une diminution de la survie des néo-cellules. Ainsi, la stimulation du nerf vague par le microbiote pourrait entraîner une modification du BDNF et de la neurogénèse (141).

6.3.2. Les prébiotiques et les probiotiques dans la plasticité cérébrale

Beaucoup d'études ont analysé l'impact des probiotiques sur la plasticité cérébrale. Tout d'abord l'équipe de Chunchai et al. a constitué deux groupes de rats : l'un a reçu un régime riche en graisses, l'autre une alimentation normale. Pendant 13 semaines, la totalité des rats a reçu des prébiotiques, des probiotiques (*L.paracasei*) ou des symbiotiques. Le constat fut que les rats soumis à un régime riche en graisses mais supplémentés en pré/probiotiques présentaient une amélioration de la plasticité dans la zone de l'hippocampe et de la fonction mitochondriale cérébrale. Entre "l'avant" et "l'après", la prise de pré/probiotiques ou de symbiotiques a restauré la plasticité cérébrale. Dans cette étude, la plasticité cérébrale a été améliorée avec la prise de pré/probiotiques ou de symbiotiques. Elle a été évaluée par la durée de potentialisation à long terme (142).

La PLT, potentialisation à long terme, est un potentiel d'action plus long que les autres ; elle permet, entre autres, l'apprentissage et la mémorisation. L'équipe de Distrutti et al. a essayé de voir si le microbiote intestinal pouvait influencer le déficit en PLT lié à l'âge (en effet, plus on vieillit, plus il est difficile de mémoriser, d'apprendre vite et facilement). Avec l'âge, la composition du microbiote est différente. Les chercheurs ont testé l'administration de 8 souches de probiotiques GRAM positifs à des rats âgés. Le déficit en PLT que présentaient ces rats a été atténué par la prise des souches de probiotiques. Une augmentation du taux de BDNF et de synapsine a même été observée. En plus d'avoir un effet protecteur au niveau local (amélioration de la perméabilité et de la réponse immunitaire innée), un traitement par probiotiques pourrait améliorer la potentialisation à long terme, donc la mémoire et l'apprentissage (143).

L'équipe de Tian et al. a constaté que l'espèce *Bifidobacterium longum* améliorait la synthèse de BDNF (144), et qu'il en était de même pour *Prevotella* (145). Certains genres, comme *Clostridium,* diminuent, pour leur part, le taux de BDNF. On notera d'ailleurs qu'il s'agit d'un genre retrouvé en quantité importante chez les patients déprimés (145).

6.4. Le comportement et l'axe microbiote-intestin-cerveau

L'amygdale est une zone en forme d'amande, retrouvée dans le cerveau dans la partie frontale du lobe temporal. Elle est connectée au thalamus, à l'hypothalamus, à l'hippocampe et à d'autres parties du cerveau (146). Elle joue un rôle dans « la détection de l'information émotionnelle, l'évaluation de son importance, la réponse à cette information et l'apprentissage émotionnel (147) ». Elle connecte les sensations et les réponses émotionnelles. Chez des patients atteints de pathologies psychiatriques telles que la schizophrénie, l'amygdale présente des différences structurelles et fonctionnelles (148).

Notre comportement est régi par nos émotions. Les différents comportements de l'être humain sont des indicateurs d'adaptation à l'environnement, que cela soit au niveau social ou physique. Les pathologies mentales sont classées en fonction des dérives du comportement normal. C'est au niveau du système limbique (hippocampe, amygdale, gyrus cingulaire, fornix, hypothalamus…) que naissent nos émotions et donc notre comportement (fuite, attaque, alimentation, vie sexuelle, vie sociale...) (148). Beaucoup d'études relient la dysbiose à des modifications du comportement et à l'apparition de maladies psychiatriques, d'addictions, d'épilepsie, d'anxiété, de maladies neurodégénératives, etc. Nous allons voir dans cette partie comment le microbiote peut influencer notre comportement et nos émotions.

6.4.1. La prise alimentaire dictée par le microbiote

Dans la revue d'Alcock et al., au travers de nombreux articles, celle-ci conclue que le microbiote arrive à orienter la prise alimentaire (149). D'une part, certaines bactéries seraient capables de générer des envies de certains aliments, pour favoriser leur croissance par rapport à d'autres bactéries. D'autre part, il serait possible que des bactéries entraînent une dysphorie alimentaire, jusqu'à ce que nous consommions les aliments « voulus » par ces dernières (149).

L'équipe d'Alcock et al. énumère différentes voies d'action :

- <u>L'utilisation des voies de récompense et de satiété</u> :

Comme cela a été explicité dans la partie sur les CEE, les acides biliaires secondaires et les produits de la fermentation des bactéries peuvent stimuler les CEE et aboutir à la libération de

GLP1 et de PYY, permettant ainsi de réduire l'envie de manger. La production d'hormones anorexigènes stimule les CEE grâce aux métabolites du microbiote. En effet, grâce à leur neuropode, les CEE stimulent le nerf vague, induisant le contrôle de la prise alimentaire. Donc, indirectement, le microbiote est capable de manipuler le comportement alimentaire via la production de peptides orexigènes ou anorexigènes. Mais également par la production, par notre organisme, d'anticorps antihormones qui interféreraient aussi avec la régulation de l'appétit (149).

- La modification des récepteurs gustatifs :

Par rapport à des souris normales, des souris « *germ free* » présentaient au niveau de la langue des récepteurs gustatifs à tropisme pour les graisses modifiées, et cela s'est vu aussi pour les récepteurs à tropisme sucré qui étaient plus importants dans le tractus gastro-intestinal (149).

- La production de toxine sur l'humeur :

Des rats infectés par l'agent *Toxoplasma gondii* n'avaient plus peur de l'odeur d'urine des chats et, au contraire, avaient l'air d'être excités sexuellement par cette dernière (149).

On pourrait donc dire que si certains nutriments sont absents, ou si certaines toxines sont présentes, le microbiote peut orienter la prise alimentaire (149).

La douleur peut, également, être un moyen utilisé, notamment dans les coliques du nourrisson. Les coliques entraînent des pleurs, et il a été constaté que la prise alimentaire était alors augmentée chez les nourrissons. Ainsi, l'accès aux nutriments est augmenté pour le microbiote. En analysant le microbiote des enfants souffrant de coliques, le phylum des *Protéobacteries* était en abondance et le phylum *Bacteroidetes* en déficit (149).

L'équipe de Leitião-Gonçalves a prouvé que les espèces *Acetobacter pomorum* et *Lactobacillus* étaient des modulateurs du choix alimentaire. L'expérience a été effectuée sur des mouches du vinaigre (Drosophila Melanogaster). Après la suppression des acides aminés essentiels de leur alimentation, les drosophiles ont fait preuve d'un appétit accru pour les aliments riches en acides aminés essentiels (AAe) et leur niveau de reproduction a été diminué. En analysant les différentes bactéries de leur microbiote, les chercheurs se sont rendu compte que seules les

bactéries commensales avaient un effet sur le comportement, et que c'était plus particulièrement la combinaison des espèces *Acetobacter pomorum* et *Lactobacilli* qui induisait la prise alimentaire enrichie en AAe. Pour le démontrer, ils ont utilisé un spécimen de drosophile gnotobiotique et ont regardé si, après le retrait des espèces de bactéries susmentionnées, cela coupait l'appétit des mouches pour l'aliment enrichi en AAe (notamment l'histidine). Le constat fut que les deux espèces agissaient ensemble pour moduler le choix de la prise alimentaire (150).

L'équipe de Tomova et al. a, de son côté, étudié les habitudes alimentaires chez les enfants atteints d'autisme. Ils ont comparé la prise alimentaire chez les enfants autistes par rapport à des enfants ne souffrant d'aucun trouble. Il a été prouvé que le microbiote des enfants avec un trouble du spectre autistique (TSA) était de composition différente que ceux des enfants non atteints. L'étude a été menée sur 46 enfants présentant un TSA et 16 enfants contrôles ; les différences observées furent que les enfants souffrant d'un TSA avaient un comportement plus agressif lors de la prise alimentaire, et faisaient preuve d'une plus grande sélectivité, voire se restreignaient. Il a été constaté chez ces enfants une carence en vitamines K, B6 et C, en fer, en cuivre et en DHA. Au sein du groupe d'enfants autistes, une sous-étude a été réalisée sur les mangeurs sélectifs et il a été découvert que 58 genres de bactéries étaient différents chez ces enfants. On retrouvait dans leur microbiote des entérobactéries telles qu'*Escherichia coli* et *Shigella*, des protéobacteries telles que *Salmonella* et, enfin, des *Firmicutes* (151). Il est donc effectivement possible que certaines bactéries influencent les habitudes alimentaires en stimulant la consommation d'aliments qui leur sont bénéfiques, et en en supprimant d'autres pour éliminer la « concurrence » (112).

L'étude menée par Hiel et al. a été effectuée sur 26 personnes en bonne santé ; durant deux semaines, leur alimentation a été enrichie en inuline, un prébiotique. Les chercheurs ont évalué le comportement nutritionnel avant, immédiatement après, et trois semaines après le retour à un régime normal. Le résultat a été que les patients ressentaient une plus grande satiété ; leur envie de sucré, de salé et de gras avait diminué mais, surtout, ils avaient plus d'appétit pour les légumes riches en inuline (152). Cela soutient donc bien l'hypothèse que notre microbiote peut nous « dicter » ce que nous devons manger.

6.4.2. Le comportement

Le microbiote peut influencer le comportement. C'est au travers de nombreuses études que nous allons voir de quelle manière cette influence s'exerce.

6.4.2.1. Études sur les rongeurs

6.4.2.1.1. Les antibiotiques, le microbiote et le comportement

Dans l'étude de Bercik et al., des tests ont été effectués sur des souris NIH Swiss mice (souris consanguines albinos) et des souris Balb/c (souris albinos, connues pour être des souris plus timides et anxieuses). Les scientifiques les ont séparées en 4 groupes :

- Balb/c « germ free » ;
- Balb/c avec un microbiote (SPF) ;
- NIH Swiss « germ free » ;
- NIH Swice avec un microbiote (SPF).

Chaque groupe a fait l'objet d'une antibiothérapie de 7 jours. Ensuite, un transfert de microbiote a été effectué dans le cas des souris :

- Cas 1 : Balb/c avec un microbiote (SPF) --------> NIH Swiss « germ free »
- Cas 2 : NIH Swiss avec un microbiote (SPF) --------> Balb/c « germ free »

Tout d'abord, l'antibiothérapie a entraîné une dysbiose chez les souris SPF. Dans le cas 1, il a été constaté une diminution du comportement exploratoire et du taux de BDNF des souris NIH. Dans le cas 2, le contraire s'est produit. A noter que la composition du microbiote entre les souris Balb/c SPF et les souris NIH Swiss était différente. On peut donc découvrir qu'une dysbiose entraîne des changements dans le comportement et, qu'en fonction de la dysbiose, ces derniers peuvent être différents. L'administration d'antibiotiques chez les souris GF n'ayant entraîné aucune perturbation, nous pouvons être certains que la cause de ces changements était bien le microbiote (153).

Glover et al. ont, quant à eux, étudié les relations entre l'émotivité chez les rats, le microbiote et les marqueurs de l'inflammation. L'étude a été menée sur deux populations de rats, des locomoteurs faibles (LF) et des locomoteurs élevés (LE). Au départ, la composition du microbiote des deux espèces était similaire. Une antibiothérapie a été initiée durant 23 jours sur l'une des deux populations. Après ce traitement, la diversité du microbiote a été modifiée chez les deux populations et le niveau d'anxiété des rats a augmenté, particulièrement chez les rats LF. Après analyse du microbiote, ce changement pourrait être dû aux ordres *Clostridiales* et *Bacteroïdales*. La différence entre les types de rats serait potentiellement due au taux de leptine. Après administration d'antibiotiques, le taux de leptine était diminué. La leptine, en plus d'être une hormone anorexigène, est capable de modifier la réponse endothéliale au stress. Les rats LE ont, au départ, une quantité de leptine moindre que les LF, ce qui expliquerait une adaptation plus passive à l'anxiété chez ces rats (154). Les chercheurs ont ensuite étudié l'état de la barrière hématoencéphalique chez les deux groupes de rats. Le traitement antibiotique a augmenté la perméabilité de la BHE au niveau de l'amygdale basolatérale et diminué l'ARN de la claudine 1, une des jonctions serrées composant la BHE. Donc, dans cette étude, le traitement antibiotique a entraîné une modification de l'état de la BHE, du microbiote et du comportement des rats en fonction du tempérament de base de l'animal (154).

Une autre étude a été menée sur des souris GF auxquelles on a administré des antibiotiques, pour voir comment une pertubation du microbiote pouvait impacter l'apprentissage de l'extinction de la peur. Les souris ont donc été traitées par antibiotiques et elles ont été conditionnées pour avoir peur. Le premier constat, chez ces souris, fut qu'elles restaient immobiles et que la charge bactérienne était plus faible et différente que chez les témoins ; cela signifie, selon l'équipe de Chu et al., que les souris ont bien été conditionnées à la peur. Et lorsque les scientifiques ont démarré l'apprentissage d'extinction, c'est-à-dire qu'ils ont diminué de manière progressive une peur conditionnée, l'apprentissage d'extinction était altéré chez les souris traitées aux antibiotiques, ainsi que chez les souris « germ free ». Alors que cela n'a pas été observé chez les témoins. On peut donc en conclure que le microbiote peut avoir un rôle dans le contrôle de la peur conditionnée (155).

Plusieurs études ont démontré que l'impact du microbiote sur les comportements n'était pas dû à la stimulation du nerf vague (153) (155). Alors que l'équipe de Klareer et al. a, au contraire, montré que l'anxiété innée et la peur apprise étaient soumises à une modulation viscérale par

les neurones afférents vagaux abdominaux (80). De même, l'équipe de Takada et al. relie le stress et le microbiote avec la stimulation du nerf vague (156).

6.4.2.1.2. L'alimentation, le microbiote et le comportement

Sommes-nous ce que nous mangeons ?

L'équipe d'Abildgaard et al. a fait consommer des aliments riches en graisses et des probiotiques à des rats FSL (rats « flinders sensitive line », utilisés comme modèle pour étudier la dépression). Les animaux avaient un comportement dépressif et l'apport des probiotiques a réduit cet effet. Nous avons vu qu'un apport riche en graisses modifiait la composition du microbiote. De plus, ce comportement dépressif pourrait être dû à la production de 3 métabolites par le microbiote perturbé :

- L'acide α-kétoisovalérique ;
- L'acide pipécolique, un métabolite de la lysine ;
- L'acide cholique, un acide biliaire primaire (157).

En effet, le fait de supplémenter un individu en probiotiques, pourrait réduire le stress. Chez les rats, le taux de corticostérone plasmatique, après administration de la souche *Lactobacillus casei Strain Shirota,* a diminué après une soumission à un stress, de type évitement de l'eau (156).

Une espèce de bactérie lactique, connue pour avoir un effet antidépressif, est *Bifidobacterium longum* (144). L'équipe de Tian et al. a récupéré cette bactérie chez 14 personnes saines et l'a implantée chez des souris dépressives. Les scores dans les tests du comportement et dans la dysbiose ont été améliorés après cette supplémentation (144).

6.4.2.2. Études sur l'homme

Les études chez l'homme sont plus rares mais plus pertinentes. Une perturbation du microbiote dans l'enfance peut agir sur les comportements. C'est ce que l'équipe de Loughman et al. a essayé de démontrer dans une sous-cohorte de 201 enfants. La réduction du genre *Prevotella* était corrélée avec l'apparition de troubles du comportement. Son absence était généralement

due à une exposition aux antibiotiques. Et, a contrario, l'augmentation de la famille des *Lachnospiraceae* a induit des comportements indésirables (158).

Dans tous les cas, la supplémentation en probiotiques pourrait apporter un réel bénéfice sur le comportement :

- La souche *Lactobacillus plantarum* P8 a été étudiée chez 103 adultes stressés pendant 12 semaines, dans un essai randomisé en double aveugle, avec un contrôle placebo. Un effet anxiolytique et une amélioration de la mémoire, de la cognition émotionnelle et sociale et de l'apprentissage ont été observés (159).
- La souche *Lactobacillus casei Strain Shirota* a été administrée chez des étudiants en médecine (étude en double aveugle, vs placebo) pendant 8 semaines avant la période des examens ; il a été constaté que les symptômes physiques et psychiques de stress étaient moindres (156).
- La supplémentation en probiotiques, pendant 8 semaines, chez 71 patients souffrant d'une dépression légère à modérée, a montré une amélioration des symptômes (160).