

Des microbes et des petits d'hommes: hasard et nécessité de l'holobiose



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Pr Philippe Sansonetti

Leçon #6
31 janvier 2018



erc

hhmi

Howard Hughes
Medical Institute


INSTITUT PASTEUR

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Leçon #6:

"Des microbes et des petits d'hommes:
hasard et nécessité de l'holobiose

Séminaire:

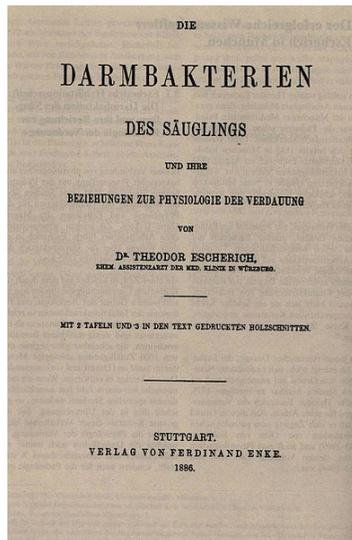
Entéropathie Environnementale Pédiatrique:
de dysbiose à malnutrition

Pascale Vonäscht, Institut Pasteur





Theodor Escherich
1857-1911



En un temps où la recherche microbiologique nous a valu tant de lauriers en suivant les méthodes de recherche de Koch dans le domaine du diagnostic et de la pathologie des maladies infectieuses, il pourrait sembler vain et douteux d'examiner et analyser les bactéries apparemment présentes aléatoirement dans les selles normales et dans le tractus intestinal, une situation qui semble être contrôlée par un millier de coïncidences.

Si j'ai néanmoins exclusivement dédié l'année écoulée à cette étude, c'est avec la conviction que la connaissance précise de ces conditions est essentielle à la compréhension, non seulement de la physiologie de la digestion..., mais aussi de la pathologie et la thérapie des maladies microbiennes intestinales

Escherich, T. 1885.

Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings.

Fortschr. Med. 3: 515-522, 547-447

Les bactéries entériques du nourrisson et leurs relations avec la physiologie de la digestion

Etablissement du microbiote intestinal humain

Microbiote intestinal = élément à part entière santé de l'enfant

A colonisation progressive intestin du nourrisson à partir naissance s'associe maturation immunité muqueuse et systémique, rôle dans physiologie intestinale et régulation nutrition, autres fonctions dont développement système nerveux central et périphérique

Microbiote intestinalensemencé avant naissance ?

Premier microbiote fourni par mère

A partir de la naissance microbiote va mûrir par diversification jusqu'à structure définitive vers âge 3-5 ans

Tissier H. Recherches sur la flore intestinale des nourrissons (état normal et pathologique). Paris: G. Carre and C. Naud; 1900.

Stabilité du microbiote intestinal humain

Facteurs périnataux influençant structure microbiote intestinal:

Mode d'accouchement

Régime alimentaire

Génétique

Glycosylation mucines

Une fois constitué, microbiote intestinal stable tout au long vie adulte

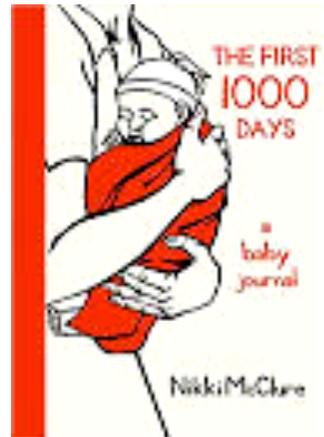
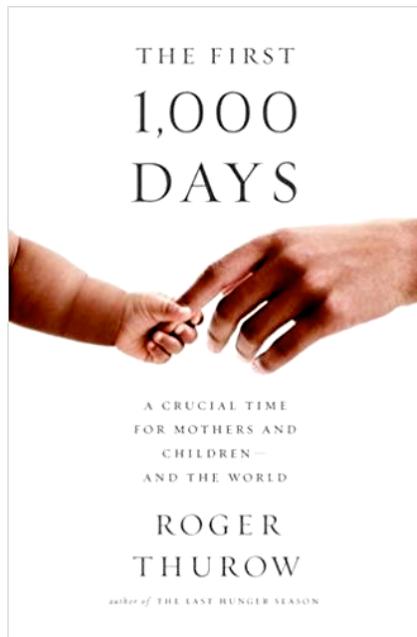
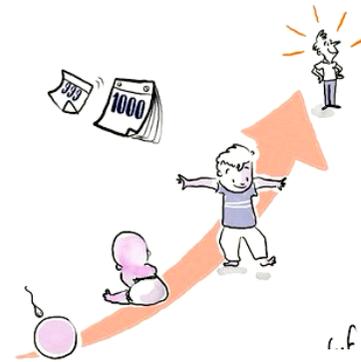
Modifications possibles: infections bactériennes, interventions médicales (antibiotiques) et chirurgicales, mode de vie, changement à long terme de régime alimentaire

Vieillessement = perte équilibre microbiote

Modifications du microbiote – dysbioses – associées à des états pathologiques



L'IMPORTANCE DES 1000 PREMIERS JOURS DE VIE



BILL & MELINDA
GATES foundation





ENGIHR SUPPLEMENT

The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life

Juan Miguel Rodríguez¹, Kiera Murphy^{2,3}, Catherine Stanton^{2,3},
R. Paul Ross^{2,3}, Olivia I. Kober^{4*}, Nathalie Juge⁴, Ekaterina Avershina⁵,
Knut Rudi⁵, Arjan Narbad⁴, Maria C. Jenmalm⁶, Julian R. Marchesi^{7,8} and
Maria Carmen Collado^{9*}

Trends Mol Med. 2015 February ; 21(2): 109–117. doi:10.1016/j.molmed.2014.12.002.

The Infant microbiome development: mom matters

Noel T. Mueller^{1,2}, Elizabeth Bakacs³, Joan Combellick⁴, Zoya Grigoryan³, and Maria G. Dominguez-Bello³

¹Department of Epidemiology, Mailman School of Public Health, Columbia University Medical Center, New York, NY, USA

²Institute of Human Nutrition and Department of Medicine, College of Physicians and Surgeons, Columbia University Medical Center, New York, NY, USA

³Division of Translational Medicine, New York University School of Medicine, New York, NY, USA

, NY, USA

Supplement Article

Potential role of the intestinal microbiota in programming health and disease

Olivier Goulet

Nutrition Reviews, 2016

Colonisation microbienne foetus ante-partum ?

Concept établi par Tissier en 1900 selon lequel:

Foetus stérile *in utero*

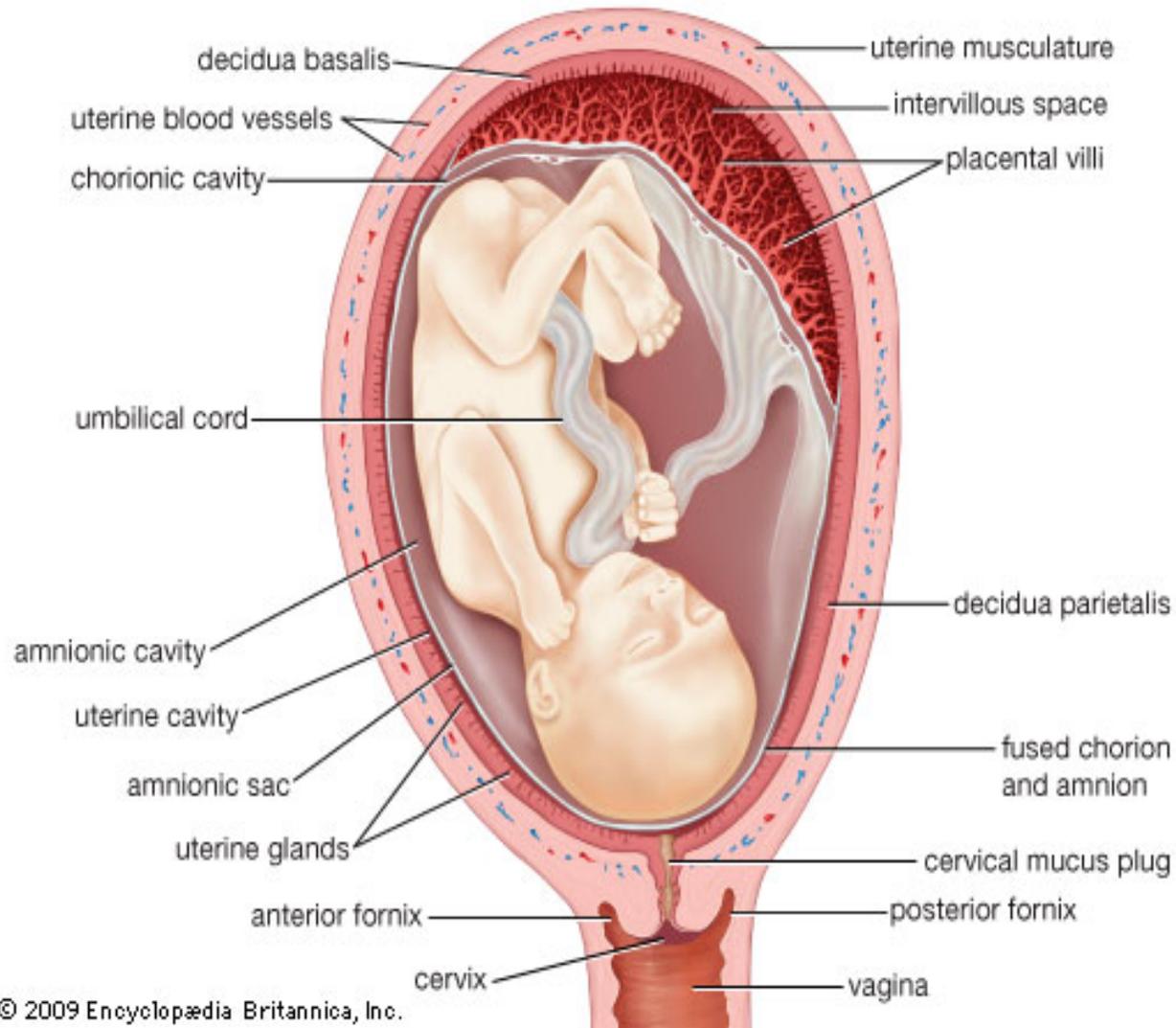
Microbiote intestinal se constitue en période per- et post-natale

N'a pas été remis en question jusqu'à présent

Protection du foetus par la barrière placentaire tout au long
grossesse normale devenue un dogme...

Dogme fait pour être attaqué, particulièrement depuis que
développement méthodes de diagnostic microbiologique
moléculaire ont permis de remettre en cause d'autres dogmes
(stérilité voies urinaires, voies respiratoires inférieures)

Barrière placentaire



Colonisation microbienne foetus ante-partum ?

Etudes souvent biaisées car recherches microorganismes dans tissu chorio-amniotique, liquide amniotique et méconium réalisées essentiellement pour infections intra-utérines évidentes ou fortement suspectées (Goldenberg et coll. 2008. Lancet; DiGiulio et coll. 2008. PLoS One; Blencowe et coll. 2013. Reprod Health)

Très peu d'études microbiologiques en cours grossesses normales

- Effet dogme ?
- Raisons éthiques

Etudes récentes (culture/moléculaires) détectent passage transplacentaire de bactéries:

- Placenta (Aagaard et coll. 2014. Science Transl Med)
- Cordon ombilical (Jimenez et coll. 2005. Curr Microbiol)
- Liquide amniotique (Bearfield et coll. 2002. BJOG)
- Membranes foetales nouveaux-nés sains, sans évidence infection/inflammation (Jimenez et coll. 2008. Res Microbiol)

Colonisation microbienne foetus ante-partum ? Un microbiote placentaire ?

Trois raisons principales

1 – Relation entre "flore placentaire", "inflammation foetale" et accouchement prématuré:

Gardnerella et Prevotella vs Lactobacillus corrélés à inflammation foetale (Fichorova et coll. 2011. MBioStout et coll. 2013. Am J Obstet Gynecol)

Petit poids naissance et accouchement prématuré associés à *Actinomyces naselundii* contrairement à Lactobacillus (Dasanayake et coll. 2005. J Periodontol) = présence de bactéries de la flore orale dans placenta corrélé à hypotrophie foetale et accouchement prématuré

2 – Placenta = porte d'entrée des microbes vers le foetus

3 – Séquençage profond montre que la flore placentaire:

Récente étude NGS met en évidence, à issue grossesses normales, une flore placentaire à faible niveau mais très marqué par un profil oral et non cutané, intestinal, vaginal, nasal (Bearfield et coll. 2002. BJOG)

Colonisation microbienne foetus ante-partum ? Un microbiote placentaire ?

On connaît encore très peu nature et nombre de bactéries capables de passer la barrière placentaire

Leur degré de persistance: court terme, long terme, véritable persistance ?

Rôle physiologique, particulièrement en conditions de persistance: priming prénatal du système immunitaire ?

Rôle dans maturation/développement foetal ?

Prennent part horloge déclenchant accouchement ?

Microbiote foetal = sujet brûlant, mais signification encore incertaine

Inversement, placenta hypotrophique chez souris axéniques.
Impact sur grossesse ?

(Sven Pettersson, communication personnelle)

Colonisation microbienne foetus ante-partum ? Un microbiote placentaire ? Attention !

Vrai changement de paradigme ?

Curiosité sans conséquence majeure ?

Artéfact ?

La présence à très bas niveau de bactéries dans des échantillons prête à des risques de contamination exogène de ces échantillons et/ou à des faux positifs par contamination des "primers" - utilisés à l'étape d'amplification pour le diagnostic moléculaire – par des acides nucléiques exogènes présents dans les kits

Nécessité d'une EXTREME rigueur dans les contrôles !!!

Analyse très critique des résultats

Colonisation microbienne foetus ante-partum ? Un microbiote intestinal foetal ?

Méconium pas stérile, contrairement au dogme ?

Comprend assemblage microbien complexe (Gosa-Ibes et coll. 2012. Clin Exp Allergy)

Exemple: méconium puis féces d'enfants prématurés pendant 3 premières semaines de vie (Moles et coll. 2013. PLoS One)

Culture et diagnostic moléculaire = cohérents:

Méconium émis spontanément = firmicutes prédominants,
Staphylococcus, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus plantarum*

Féces = Protéobactéries dominantes, *E. coli*, *K. pneumoniae*,
S. marcescens, *E. faecalis*

Signatures microbiennes chez enfants de mères diabétiques
(Hu et coll. 2013. PLoS One)

Colonisation microbienne foetus ante-partum ? Un microbiote intestinal foetal ?

Origine microorganismes = mère

Tube digestif ? Peau ?

Translocation, passage dans la circulation systémique, passage transplacentaire ?

Administration orale *E. faecalis* (marqueur génétique) à souris en cours de grossesse permet de retrouver *E. faecalis* marqué dans liquide amniotique et méconium souriceau nouveau né après césarienne

(Jimenez et coll. 2008. Res Microbiol)

Translocation bactérienne fréquente chez rongeurs durant grossesse (Perez et coll. 2007. Paediatrics)

Semble confirmer l'hypothèse

Bémol: placenta souris moins complexe et son effet barrière antimicrobienne moins stringent que placenta humain

Méconium possiblement non stérile à la naissance...

Dogme mis à mal, stérilité du milieu intérieur = concept relatif ?

Comment s'établit l'équilibre empêchant prolifération microbienne ?

Constitution du microbiote du nourrisson

Premiers colonisateurs: taxa anaérobies facultatifs
(Streptocoques et Entérobactéries)

Prolifèrent à 48h avec début alimentation (10^4 - 10^6 /ml)

Créent environnement anaérobie favorable installation

Bacteroidetes, Firmicutes (Clostridium) et Actinobactéries
(Bifidobacterium)

Faible diversité, dominance Entérobactéries et Actinobactéries

Avec temps, Firmicutes et Bacteroidetes prédominant (Eckburg et coll. 2005. Science; Qin et coll. 2010. Nature)

Convergence vers composition flore adulte à partir de 1 an

Flore mature entre 2 et 5 ans

(Koenig et coll. 2011. PNAS; Yatsumenko et coll. 2012. Nature)

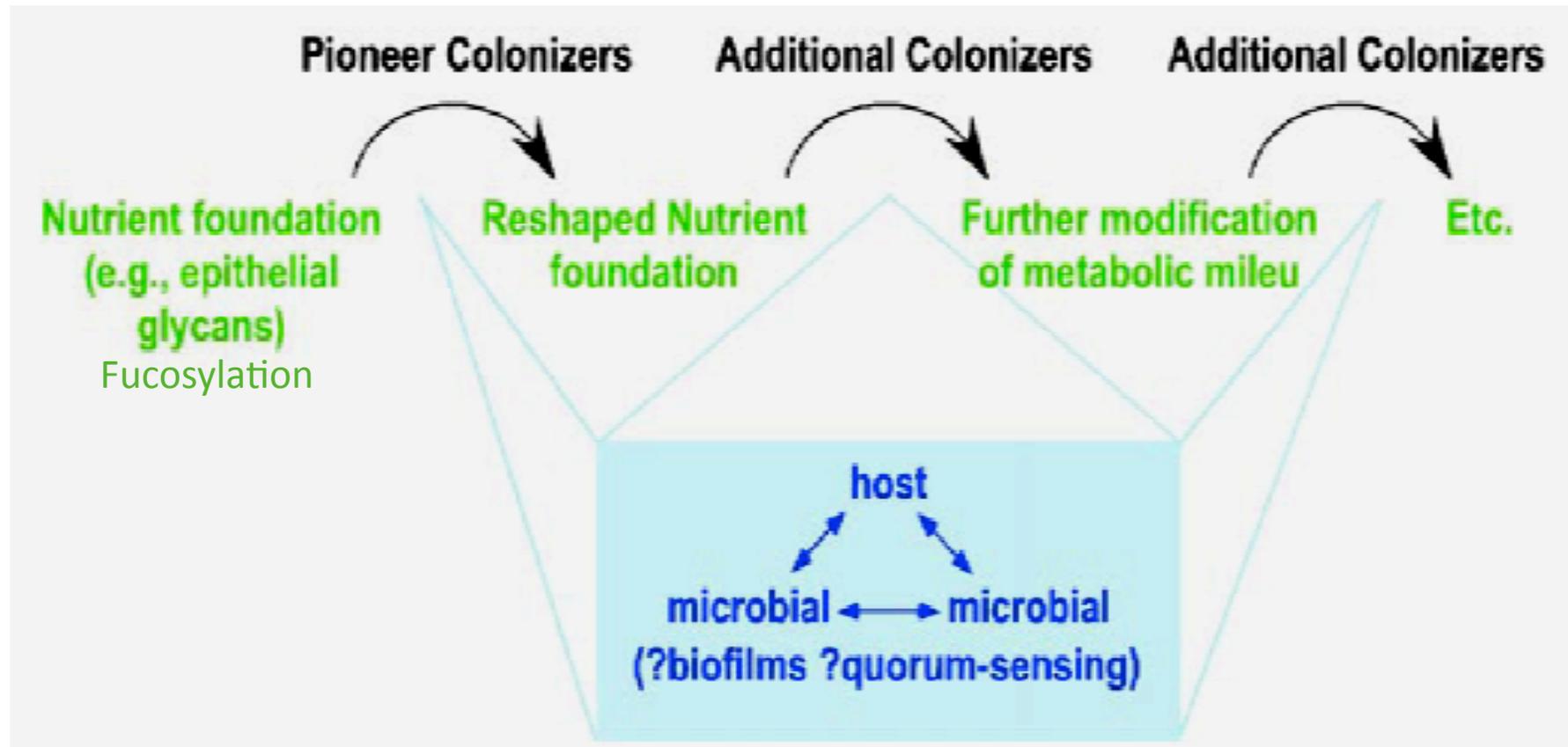
Véritable maturation flore dans deux premières années vie

Immaturité ou altérations massives (antibiotiques) = risques

Respectivement malnutrition/obésité



Jeff I Gordon



Stabilisation du microbiome

Enfant en bonne santé: microbiote intestinal évolue vers "état stable" correspondant à ce que sera le microbiote adulte

Variations plus ou moins importantes = infections virales et/ou bactériophages

Espèces fondatrices évoluent ensuite chez chaque individu en fonction certains facteurs:

Fond génétique de l'hôte (Benson AK et al. 2010. PNAS)

Composition du microbiote = trait génétique complexe ?

Physiologie intestinale (Rey RE et al. 2008. Science)

Régime alimentaire (Muegge BD. 2011. Science)

Poids (Turnbaugh PJ. 2009. Nature)

Environnement, géographie (Rey et al.; Erwin G et al. 2001. Microb Ecol Health Dis)

Un exemple d'adaptation à la nécessité d'extraction énergétique

Enfants africains, mode de vie rural, consommant un régime riche en polysides végétaux: diminution de la représentation des Firmicutes et niveau augmenté des Bacteroidetes dans leur microbiote fécal (surtout *Prevotella* et *Xylanibacter*)

Enfants italiens: plus haut niveau d'Entérobactéries, principalement *Escherichia* (De Filippo C et al. 2010. PNAS)

Prevotella et *Xylanibacter* dégradent la cellulose et les xylanes, et sont associés à une concentration fécale plus élevée de SCFAs, suggérant que le microbiote des enfants africains vivant en milieu rural s'est adapté pour optimiser l'extraction d'énergie d'un régime riche en fibres végétales.

Etapes précoces du développement du microbiote du nourrisson: "c'est la mère qui compte... "
(Maria Dominguez-Bello)

Au moment de l'accouchement, foetus exposé à large gamme d'espèces bactériennes sources différentes:
Surtout microbiote maternel vaginal, fécal et cutané

Nombreux facteurs peuvent moduler/altérer composition initiale:

Durée gestation

Mode d'accouchement (vaginal vs césarienne)

Mode d'alimentation (sein vs artificiel)

Environnement de l'accouchement (classique vs unité soins intensifs)

Utilisation antibiotiques par mère (Blasucci et coll. 2008. J Nutr)

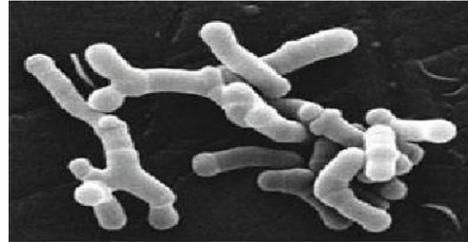
Etapes précoces du développement du microbiote du nourrisson: "c'est la mère qui compte... "
(Maria Dominguez-Bello)

Enfants nés par voie vaginale présentent rapidement grande richesse communautés bactériennes dominées par:
Lactobacillus, Prevotella, Escherichia, Bacteroides,
Bifidobacterium, Sneathia (Biasucci et coll. 2008. J Nutr)

Enfants nés par césarienne présentent un microbiote réduit en diversité par rapport aux enfants nés par voie vaginale
Staphylococcus, Corynébactéries
Colonisation par Bifidobactéries peut être retardée jusqu'à 6 mois (Dominguez-Bello et coll. 2010. PNAS)

Bifidobacterium

Bifidobacterium rhamnosus



Bifidobacterium (Actinobactérie) = genre bactérien dominant intestin nourrisson

Au moins 6 espèces: *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. pseudocatenulatum*, *B. bifidum*, *B. dentium*, *B. breve*, (Harmsen HJ, 2012, J Pediatr Gastroenterol Nutr; Turroni et al. 2012. PLoS One).

Bacille Gram positif immobile, morphologie ramifiée

Proche Actinomycetes

Anaérobie strict, nitrate réductase +, croissance nécessite concentrations élevées de CO₂

Fermentation hétérolactique = 6-phosphocétolase permet transformation directe glucose en fructose-6-phosphate, palliant absence glucose-6-phosphate déshydrogénase

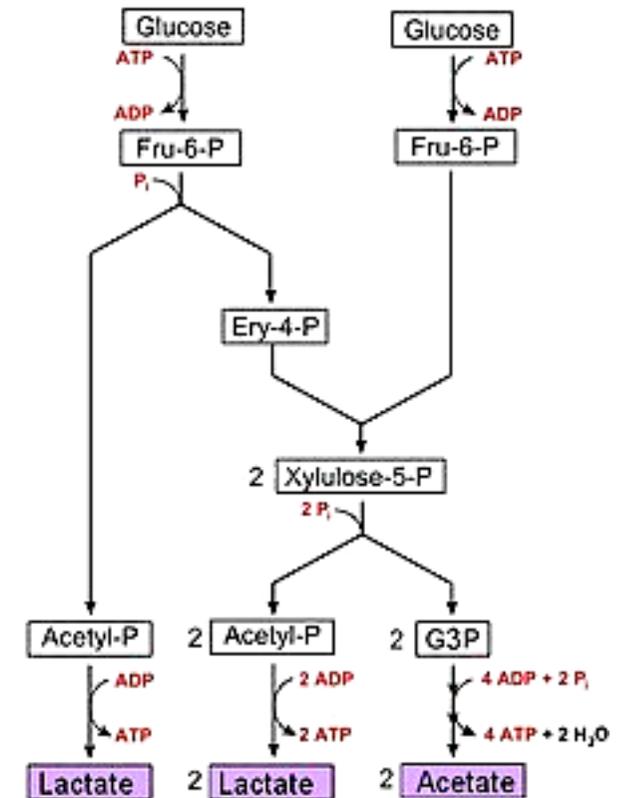
Voie pentoses phosphates pour transformer fructose-6-P en lactate et acétate

Effet bénéfique probable

Meilleure absorption lactose chez adultes déficients en lactase intestinale

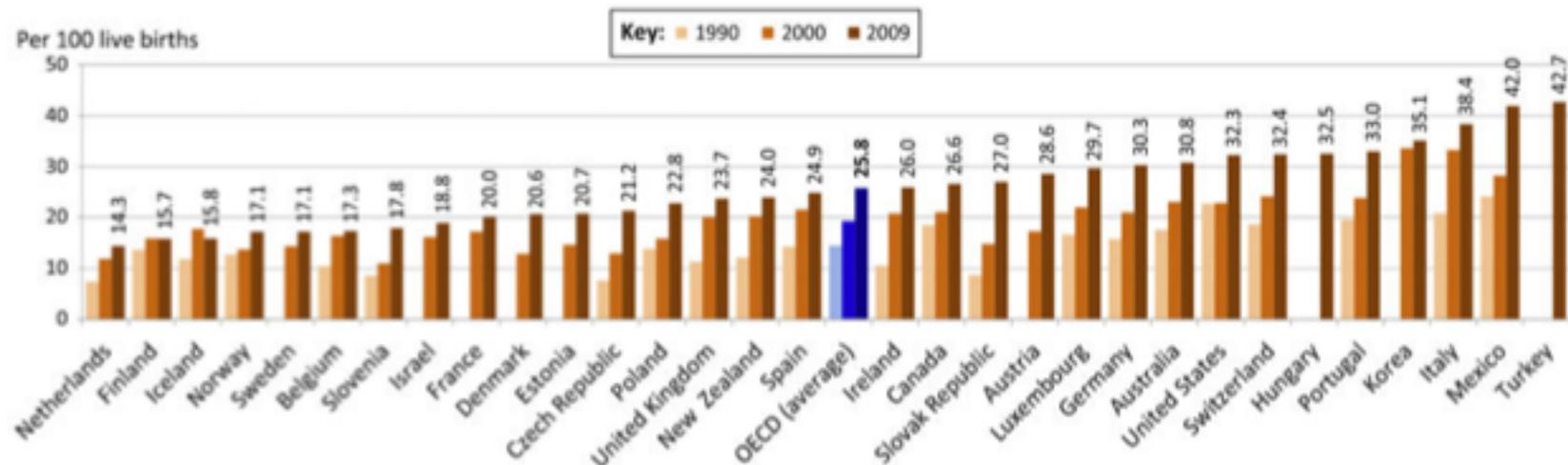
Assure l'équilibre lors de la diminution de l'expression de la lactase chez le nourrisson ?

Autres effets ?



Rupture chaîne transmission bactérienne mère-enfant: césarienne

Développement initial et maturation microbiote néonatal largement déterminés par échanges microbiote mère-enfant
Etablissement conditions de "rupture" chaîne de transmission bactérienne mère-enfant à naissance porte risque retard maturation microbiote ou installation dysbiose exposant à pathologies émergeant plus ou moins tardivement dans enfance voire à âge adulte



Risques corrélés à pratique césarienne

Césarienne = augmentation chez l'enfant du risque de:

Maladie coeliaque (Decker et coll. 2010. Pediatrics, Marild et coll. 2012. Gastroenterology)

Asthme (Kero et coll. 2002. Pediatr Res; Roduit et coll. 2009. Thorax; Couzin-Frankel J. 2010.Science; Ege et coll. 2011. N Engl J Med)

Diabète de type 1 (Algert et coll. 2009. Pediatr Res; Aumeunier et coll. 2010. PLoS One)

Obésité (Huh et coll. 2012. Arch Dis Child; Ajslev et coll. 2011. Int J Obes; Blustein et coll. 2013. Int J Obes; Mueller et coll. 2014. Int J Obes)
Pas confirmé 3 cohortes au Brésil (Barros et coll. 2012. Am J Clin Nutr)



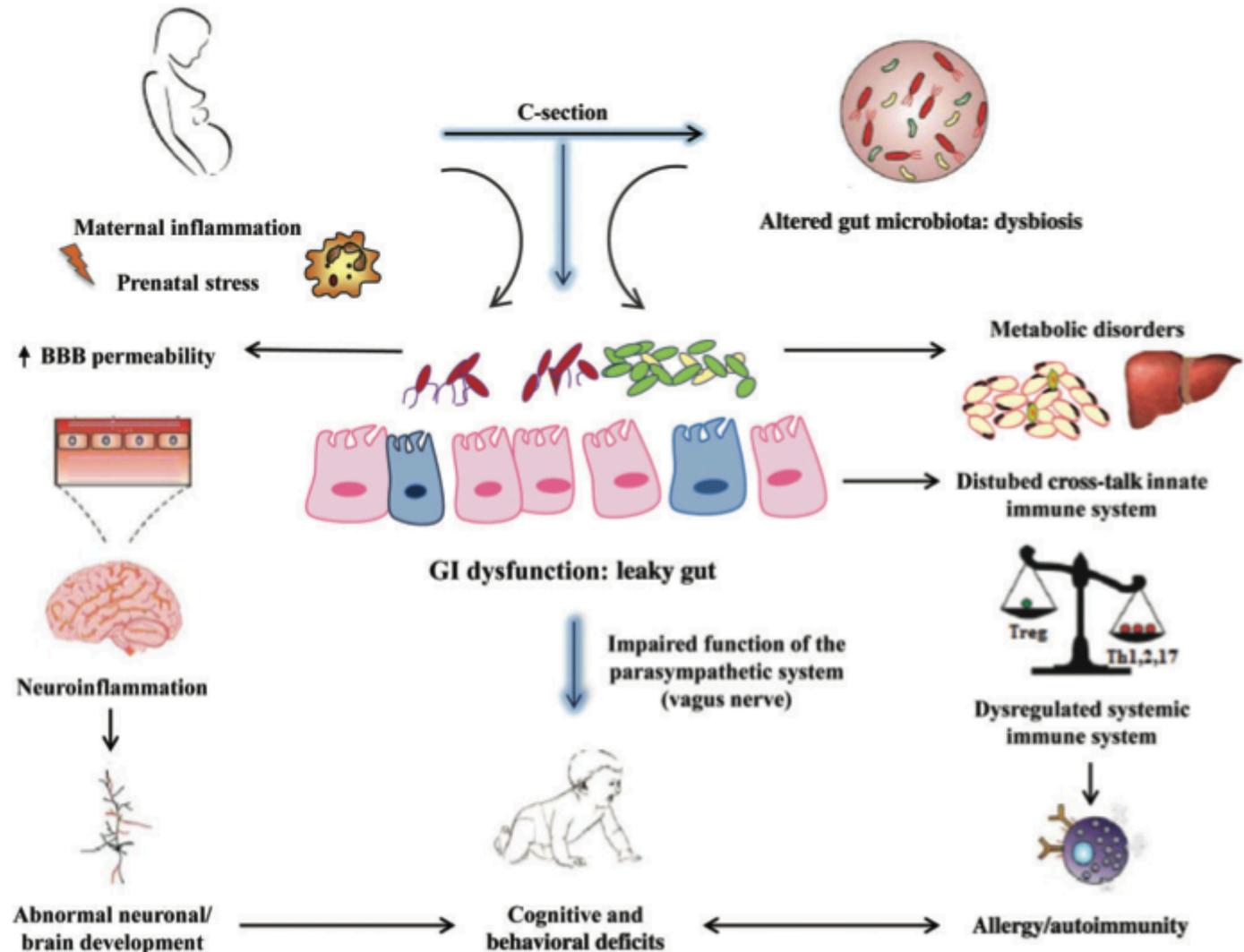
Feature Article

Intervention strategies for cesarean section-induced alterations in the microbiota-gut-brain axis

Moya-Perez et coll. 2017. Nut Res

Angela Moya-Pérez, Pauline Luczynski, Ingrid B. Renes, Shugui Wang, Yuliya Borre, C. Anthony Ryan, Jan Knol, Catherine Stanton, Timothy G. Dinan, and John F. Cryan

Césarienne cause appauvrissement/dysbiose microbiote intestinal nouveau-né/nourrisson
Diminution barrière colonisation, augmentation perméabilité intestinale, augmentation translocation pathobioetes et PAMPs



Rupture chaîne microbienne mère-enfant: antibiothérapie prénatale maternelle

Cause alternative rupture chaîne transmission microbienne mère-enfant:

1 – Prise antibiotiques durant la grossesse, corrélation avec:

Obésité de l'enfant (Huh et coll. 2012. Arch Dis Child) une des études montrant que enfants exposés à traitement antibiotique prénatal durant second ou troisième trimestre de grossesse = risque accru obésité de 84% supérieur aux enfants contrôles

Dans cette même étude, césarienne associée avec accroissement 46 % risque obésité infantile

Asthme (Metsälä et coll. 2015. Clin Exp Allergy)

2 – Prise antibiotiques chez nourrisson = autre sujet, mais résultats similaires...

Question:

Est-ce que les traitements antibiotiques dans deux derniers trimestres de grossesse altèrent le microbiote maternel qui sera transmis à la naissance ou altèrent le microbiote foetal, particulièrement intestinal, ou les deux ???

La rencontre avec le microbiote, un événement clé pour la santé future de l'enfant ?

- Nourrissons exposés aux antibiotiques dans premiers six mois montrent augmentation de 22 % risque obésité à âge plus avancé, possiblement car antibiothérapie élimine espèces bactériennes essentielles à équilibre nutritionnel (Cox et coll. 2014. Cell; Trasande L et coll. 2013. Int J Obes)
- Traitement antibiotique de 7 semaines (Péni+Vanco ou Chlortétracycline), doses subthérapeutiques (STAT) chez souriceaux

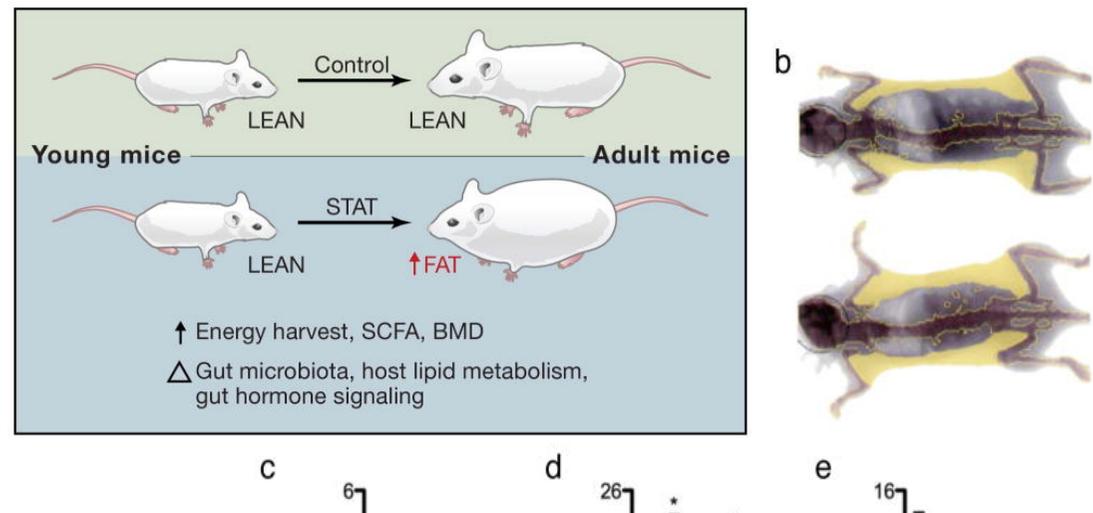
Augmentation ratio Firmicutes/Bacteroidetes

Augmentation masse

graisseuse

Augmentation hormones
métabolisme lipides

Cho E et al. 2013. Cell Metab



Microbiote et alimentation du nourrisson

Après naissance, alimentation au sein introduit nouvelles espèces microbiennes et stimule maturation du microbiote du nourrisson (Palmer et coll. 2007. PLoS Biol; Knol et coll. 2005. J Pediatr Gastroenterol Nutr)

Rôle essentiel oligosaccharides lait maternel (galacto- et fructo-oligosides) = HMO

Rôle alimentation au sein dans apport *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* (Fernandez L et coll. 2013. Pharmacol Res).

Comparaison utilisation lait artificiel et alimentation au sein montre retard maturation système immunitaire du nourrisson (Innis SM. 2007. Proc Nutr Soc) et altérations métaboliques plus tard dans l'enfance (Gale et coll. 2012. Am J Clin Nutr = grande méta-analyse)

Des menaces probables pour le microbiote et santé/développement de l'enfant

Plus de recherche nécessaire afin de passer de lien de corrélation plus que troublant à lien de causalité nécessitant recherche expérimentale chez l'animal et recherche clinique interventionnelle

Il semble cependant que les trois conditions:

Césarienne

Antibiothérapie durant la grossesse

Abandon de l'alimentation au sein

Soient suffisamment suspectes pour que l'on passe de situation de généralisation à situation de parcimonie/réduction à visée préventive:

Pas de césariennes de confort (mère et obstétricien...)

Antibiotiques à T2 et T3 uniquement si absolument indispensable (prophylaxie infection néonatale Strepto B)

Encouragement alimentation au sein, au moins 3 à 6 mois suivant post-partum

Factors Influencing Neonatal Colonization

- **Duration of gestation** (preterm vs term)
- **Mode of feeding** (breast- vs. formula-feeding)
- **Mode of delivery** (vaginal vs. Cesarean-section)
- **Environment** (NICU)
- **Medications** (antibiotics and proton pump inhibitors)

Intestinal Microbiota

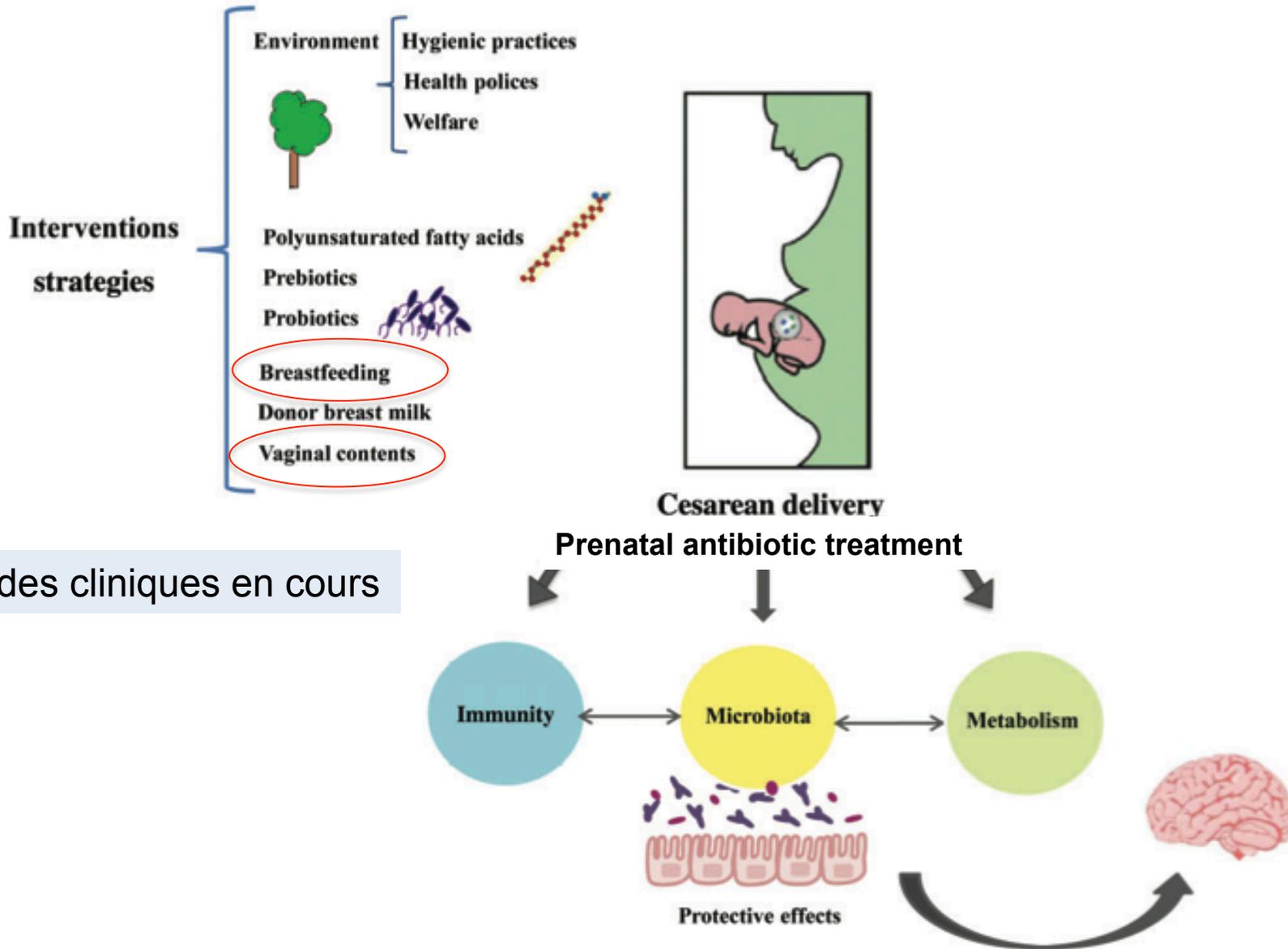
Symbiosis

- **Immune tolerance**
- **Intestinal homeostasis**
- **Healthy metabolism**

Dysbiosis

- **Immune disease** (atopy, asthma)
- **Intestinal disease** (IBD, IBS, NEC, colon cancer)
- **Metabolic disease** (diabetes, obesity)

Interventions possibles afin de compenser rupture chaîne microbienne mère-enfant



Microbiote et maladies allergiques

Immunopathologie des maladies atopiques, asthme, eczéma, commence à être bien comprise

Pas de consensus sur nature mécanismes immunologiques pouvant expliquer l'augmentation soutenue de l'incidence des maladies atopiques

Pollution urbaine (microparticules) certainement un facteur important

Données essentiellement expérimentales suggèrent rôle pour microbiote et "parasitome" (helminthes) = place pour "hypothèse hygiéniste" ?

Changement de microbiote ("post-moderne") auquel est exposé l'enfant après sa naissance, caractérisé par une diminution de diversité, en particulier une perte de pathobiotiques/pathogènes et peut être aussi de taxa régulateurs

Disparition des infestations parasitaires

Dans ce contexte, système immunitaire génère réponses d'hypersensibilité aux allergènes.

Brown EM et al. 2014. Semin Immunol

Lambrecht BN et Hammad H. 2017. Nat Immunol



Helicobacter pylori infection prevents allergic asthma in mouse models through the induction of regulatory T cells

Isabelle C. Arnold,¹ Nina Dehzad,² Sebastian Reuter,² Helen Martin,² Burkhard Becher,³ Christian Taube,² and Anne Müller¹

¹Institute of Molecular Cancer Research, University of Zürich, Zürich, Switzerland. ²III. Medical Clinic, Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany.

³Institute of Experimental Immunology, University of Zürich, Zürich, Switzerland.

Atopic asthma is a chronic disease of the airways that has taken on epidemic proportions in the industrialized world. The increase in asthma rates has been linked epidemiologically to the rapid disappearance of *Helicobacter pylori*, a bacterial pathogen that persistently colonizes the human stomach, from Western societies. In this study, we have utilized mouse models of allergic airway disease induced by ovalbumin or house dust mite allergen to experimentally examine a possible inverse correlation between *H. pylori* and asthma. *H. pylori* infection efficiently protected mice from airway hyperresponsiveness, tissue inflammation, and goblet cell metaplasia, which are hallmarks of asthma, and prevented allergen-induced pulmonary and bronchoalveolar infiltration with eosinophils, Th2 cells, and Th17 cells. Protection against asthma was most robust in mice infected neonatally and was abrogated by antibiotic eradication of *H. pylori*. Asthma protection was further associated with impaired maturation of lung-infiltrating dendritic cells and the accumulation of highly suppressive Tregs in the lungs. Systemic Treg depletion abolished asthma protection; conversely, the adoptive transfer of purified Treg populations was sufficient to transfer protection from infected donor mice to uninfected recipients. Our results thus provide experimental evidence for a beneficial effect of *H. pylori* colonization on the development of allergen-induced asthma.

EMBO Rep. 2012 May 1;13(5):440-7. doi: 10.1038/embor.2012.32.

Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma.

Russell SL, Gold MJ, Hartmann M, Willing BP, Thorson L, Wlodarska M, Gill N, Blanchet MR, Mohn WW, McNagny KM, Finlay BB.

Source

Department of Microbiology & Immunology, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Canada.

Abstract

Allergic asthma rates have increased steadily in developed countries, arguing for an environmental aetiology. To assess the influence of gut microbiota on experimental murine allergic asthma, we treated neonatal mice with clinical doses of two widely used antibiotics--streptomycin and vancomycin--and evaluated resulting shifts in resident flora and subsequent susceptibility to allergic asthma. Streptomycin treatment had little effect on the microbiota and on disease, whereas vancomycin reduced microbial diversity, shifted the composition of the bacterial population and enhanced disease severity. Neither antibiotic had a significant effect when administered to adult mice. Consistent with the 'hygiene hypothesis', our data support a neonatal, microbiota-driven, specific increase in susceptibility to experimental murine allergic asthma.

Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma

Marie-Claire Arrieta^{1,2*}, Leah T. Stiensma^{2,3*}, Pedro A. Dimitriu², Lisa Thorson¹, Shannon Russell^{1,2}, Sophie Yurist-Doutsch^{1,2}, Boris Kuzeljevic³, Matthew J. Gold⁴, Heidi M. Britton¹, Diana L. Lefebvre⁵, Padmaja Subbarao^{6,7}, ...

• See all authors and affiliations

Science Translational Medicine 30 Sep 2015;
Vol. 7, Issue 307, pp. 307ra152

Fenêtre précoce dans constitution microbiote intestinal nourrisson (dysbiose précoce) essentielle pour déclenchement asthme expérimental souris (Russell et coll. 2012. EMBO Rep)

Apparition dysbiose précède, voire cause survenue asthme ?

319 enfants cohorte "Canadian Healthy Infant Longitudinal Development" (CHILD):

Enfants à risque asthme présentent dysbiose transitoire (100 premiers jours de vie)

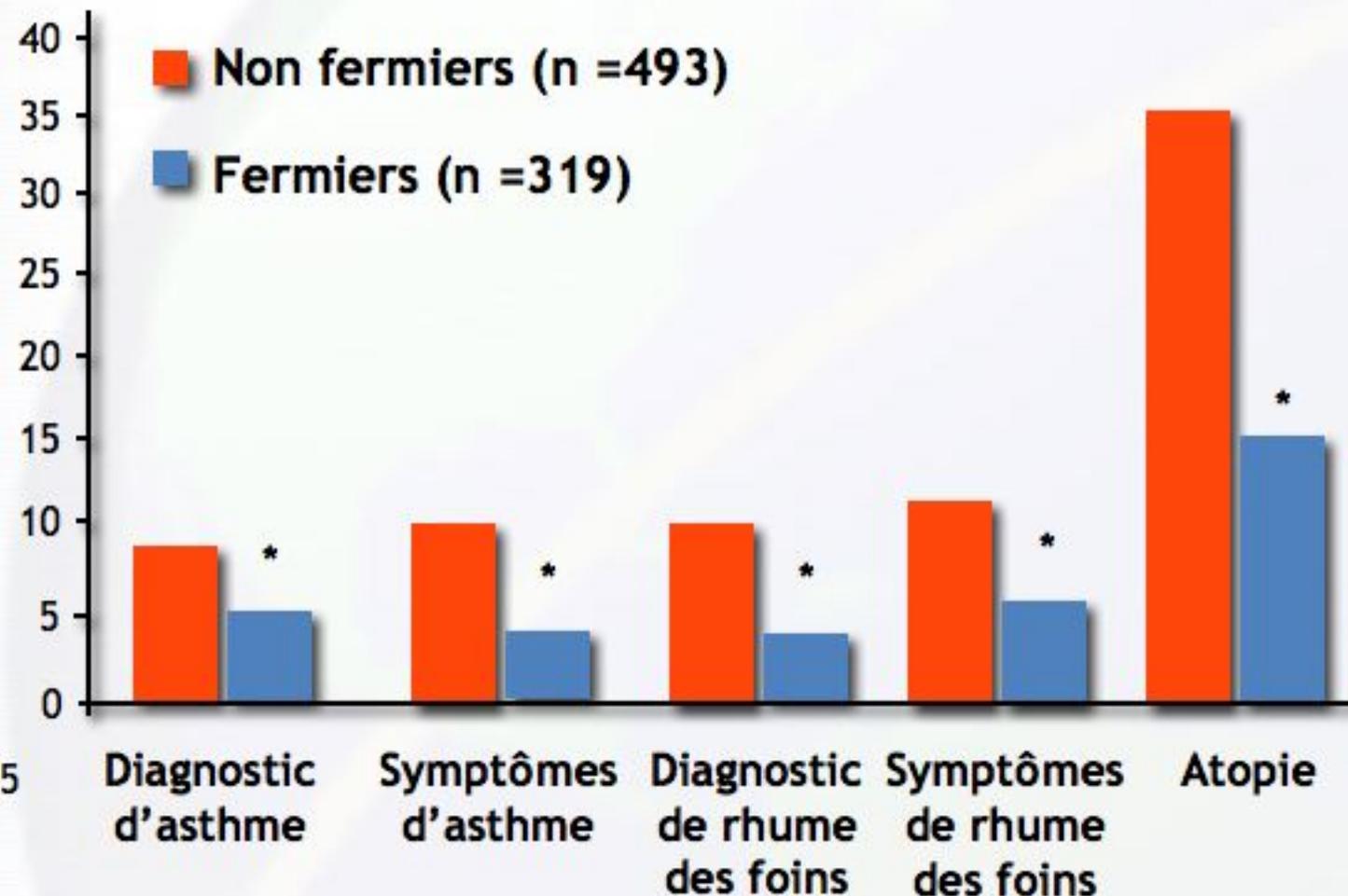
Métataxonomique: Lachnospira, Veillonella, Faecalibacterium, Rothia diminués chez enfants à risque asthme

Métabolomique: diminution concentration acétate, dysfonction cycle entérohépatique acides biliaires

Administration quatre espèces manquantes dans signature dysbiose à souris sensibles asthme améliore inflammation respiratoire âge adulte

Mais pas accentuation inflammation respiratoire chez souris adultes quand souriceaux axéniques colonisés par flore enfants à risque...

Prévalence de l'asthme, du rhume des foins et de l'atopie chez les enfants de fermiers dans l'étude ALEX



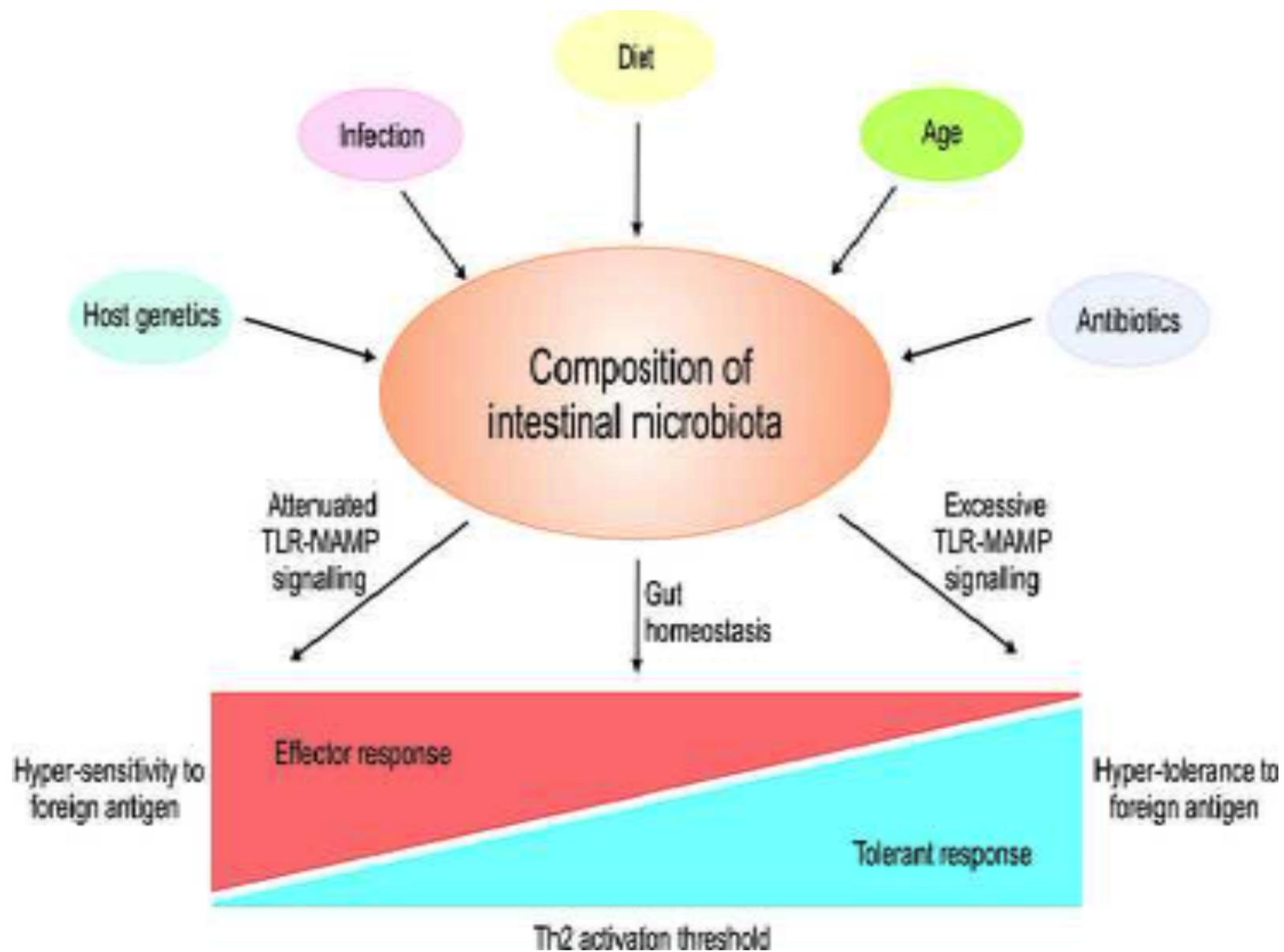
Milieu agricole protecteur / allergie ?

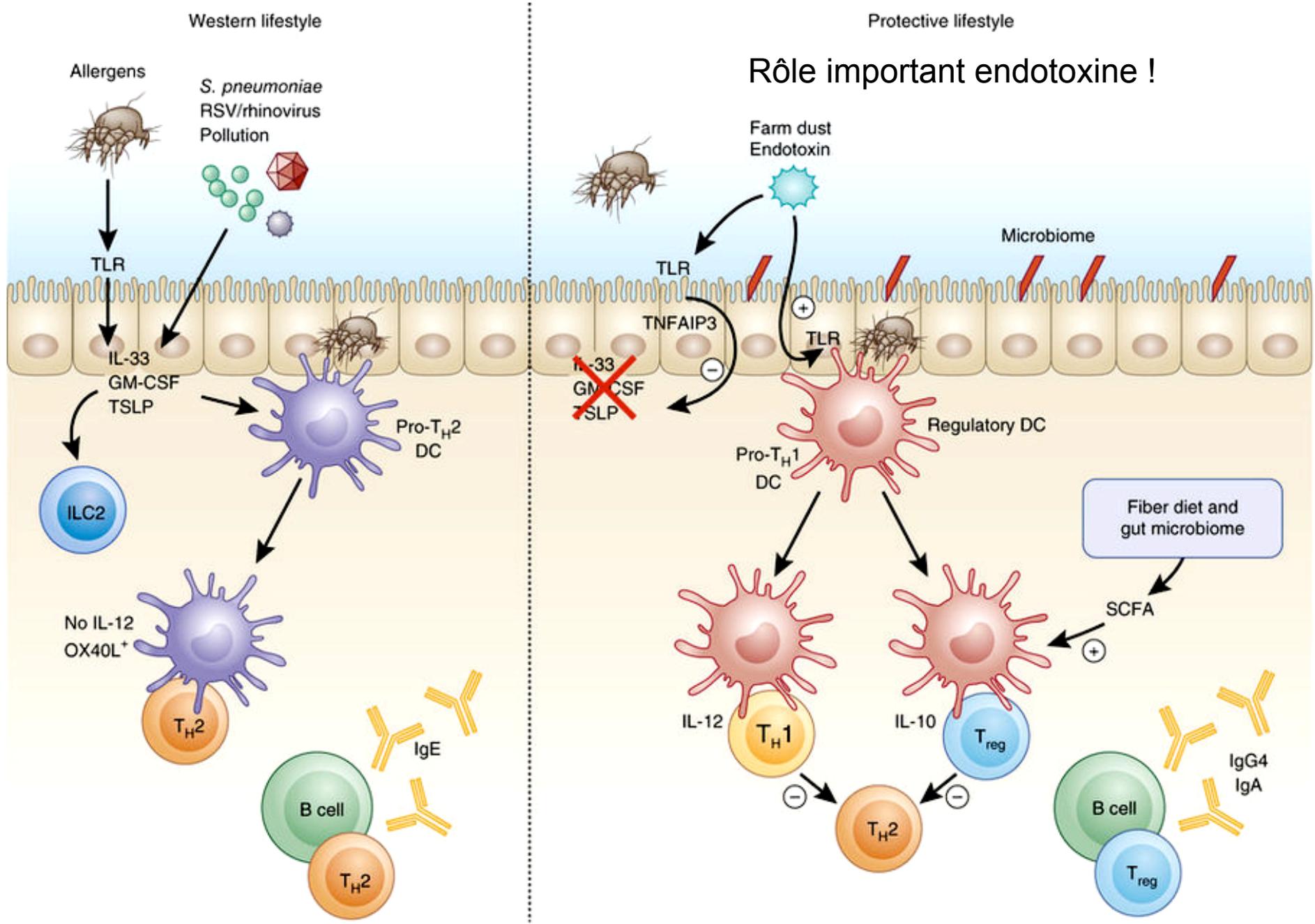
Enfants exposés au milieu agricole présentent prévalence d'allergies plus faible que homologues vivant dans mêmes zones rurales non exposés au milieu agricole (ferme vs zones pavillonnaires)

Met en évidence rôle actif environnement agricole dans la protection contre atopie

Bien que plus controversé, effet semble également être retrouvé pour l'asthme, particulièrement pour asthme atopique

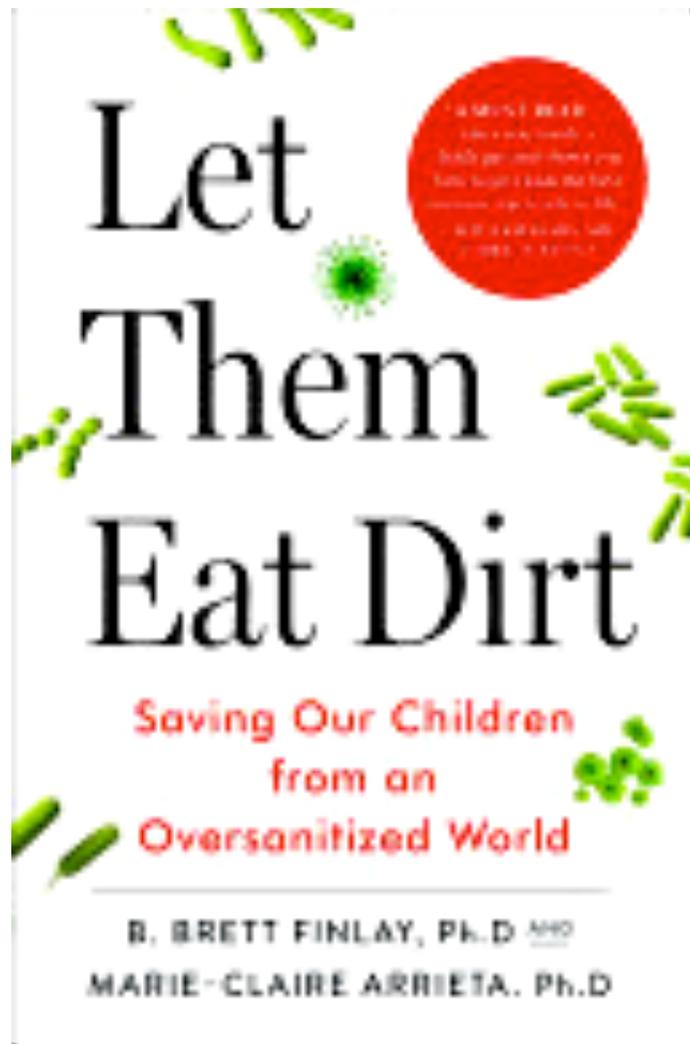
Différences de méthodologies entre les études rendent les comparaisons difficiles





Lambrecht BN et Hammad H. 2017. Nat Immunol

Debbie Maizels/Springer Nature



Axe microbiote-intestin-cerveau (SNC/SNE)

Nombreuses données indiquent que microbiote intestinal communique avec Système Nerveux Central et entérique

Communication peut emprunter plusieurs canaux:

- Neurologiques
- Endocrines
- Immunitaires
- Rôle direct produits microbiens (PAMP, SCFA...) insuffisamment exploré

Effets communication peuvent porter sur plusieurs fonctions, dépendant en particulier âge de l'individu:

- Phases finales développement post-natal SNS

40 000 nouvelles synapses créées/sec entre naissance et 2 ans...

- Fonctions cérébrales et comportement tout au long de la vie, en particulier: cognition/mémoire, anxiété, humeur, douleur

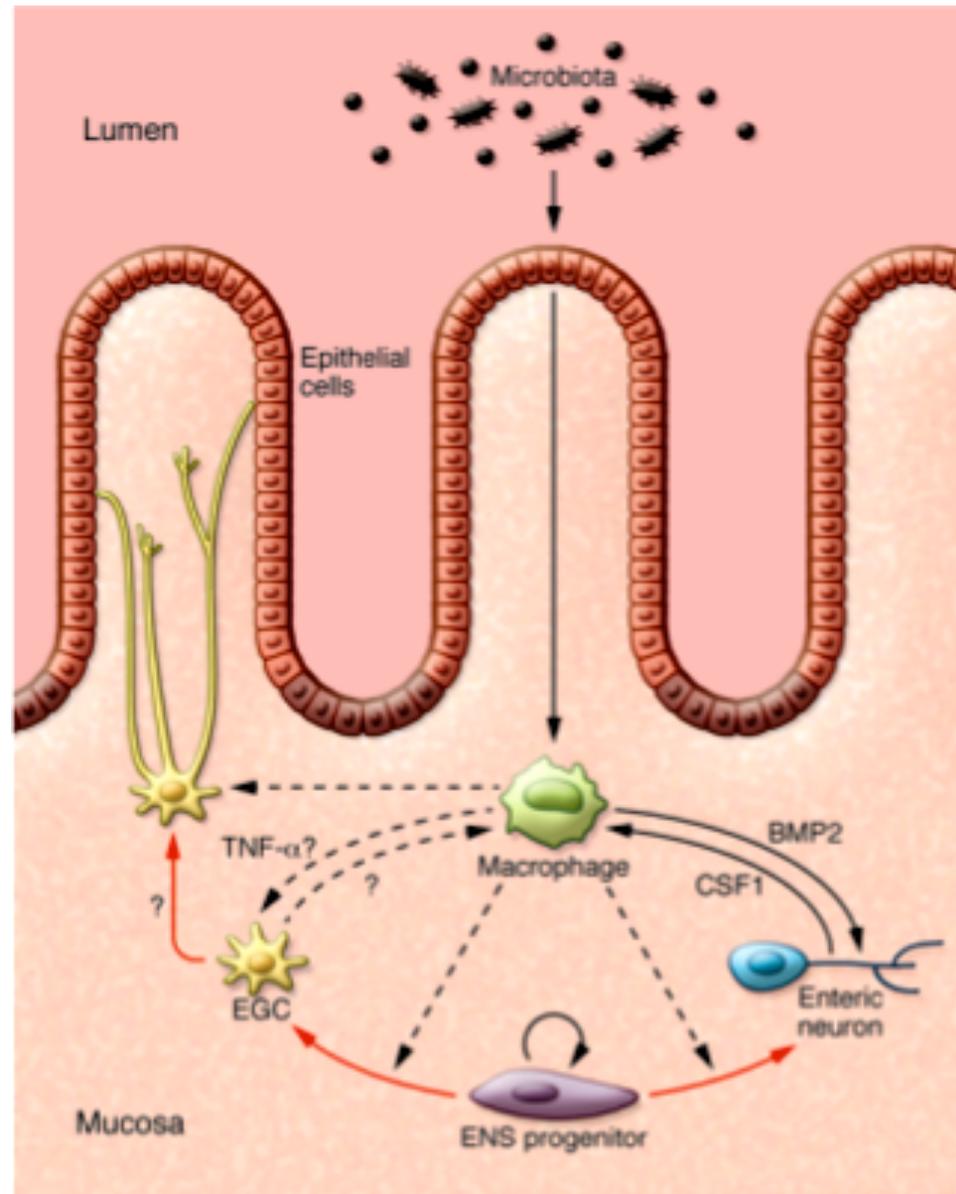
Le concept "microbiote-intestin-cerveau" porte de possibles surprises et des applications thérapeutiques, particulièrement en psychiatrie

Deux problèmes:

Complexité des études cliniques

Validité des modèles animaux, en particulier murins

Systeme nerveux entérique (SNE)



Systeme nerveux entérique (SNE)

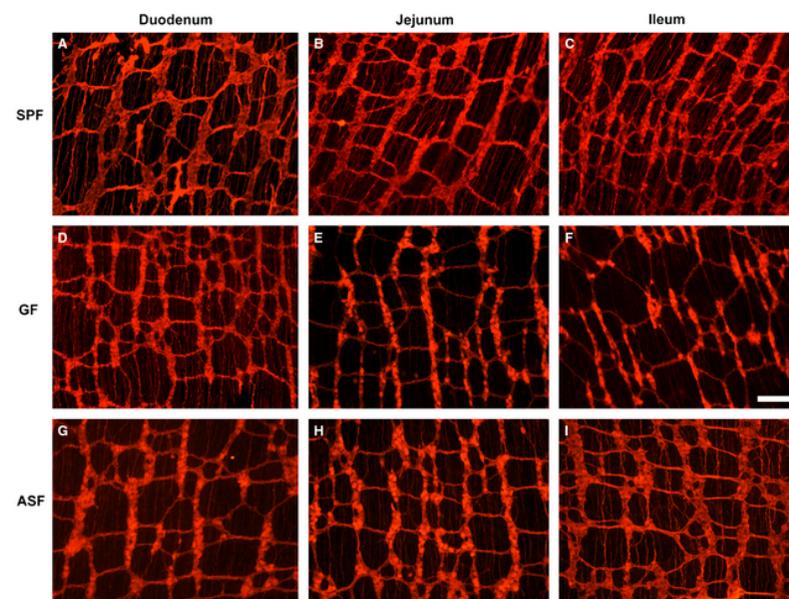
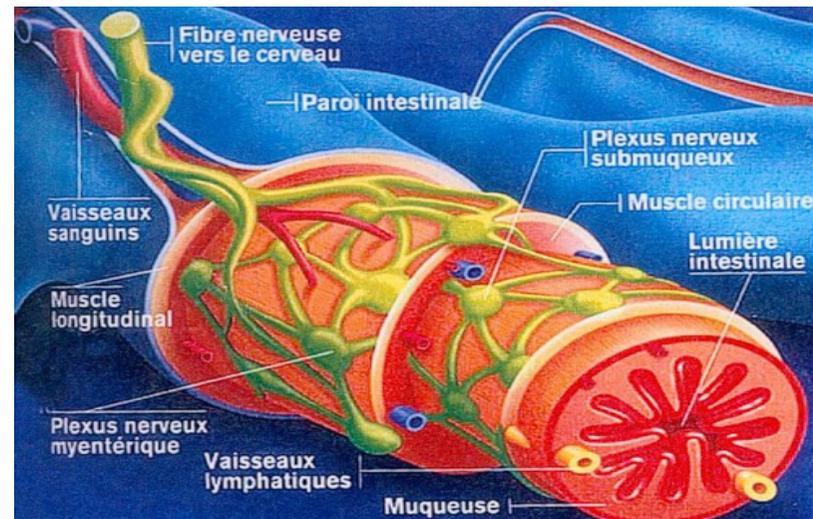
Le SNE est essentiel pour le fonctionnement coordonné du système gastrointestinal.

Le SNE suit un programme de développement durant la période foetale, mais sa plasticité persiste dans la période post-natale au moment de l'installation du microbiote.

Le microbiote intestinal influence le développement post-natal du SNE.

- Evidence morphologique = plexus myoentériques immatures chez souris axéniques

- Evidence fonctionnelle = diminution de la fréquence et de l'amplitude des contractions musculaires entériques.





Sven Pettersson

Normal gut microbiota modulates brain development and behavior

Rochellys Diaz Heijtza,b,1, Shugui Wangc, Farhana Anuard, Yu Qiana,b, Britta Björkholmd, Annika Samuelssond, Martin L. Hibberdc, Hans Forssbergb,e, and Sven Petterssonc,d,1

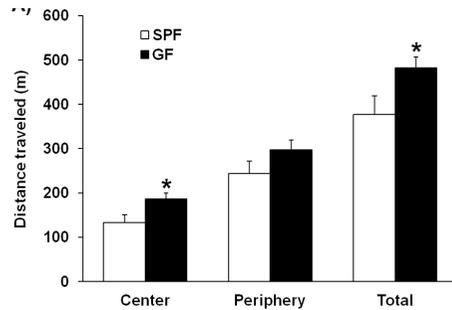
Departments of Neuroscience, and Microbiology, Cell and Tumor Biology, Karolinska Institutet, 171 77 Stockholm, Sweden; bStockholm Brain Institute, 171

77 Stockholm, Sweden; cGenome Institute of Singapore, 02-01 Genome 138672, Singapore; and eDepartment of Women's and Children's Health, Karolinska

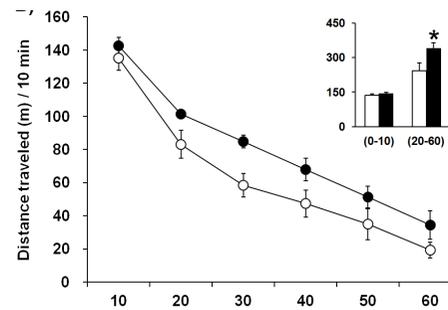
Institutet, 171 76 Stockholm, Sweden

Les souris axéniques ont une activité motrice accrue et montrent moins de symptômes d'anxiété que des souris SPF

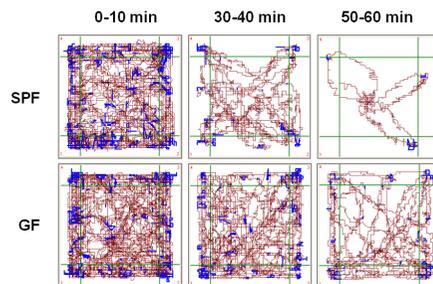
Plus grande distance parcourue et plus d'exploration du centre du champ



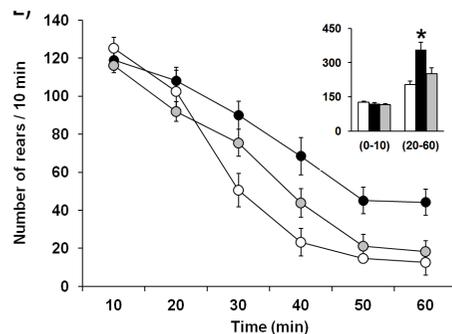
Distance parcourue par tranches de temps



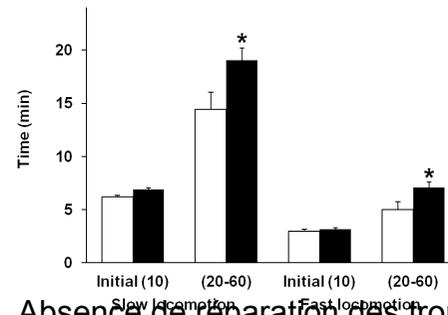
Distance parcourue/tranches de temps



Diminution de fréquence de cabrages chez les souris issues de mères GF conventionnalisées 30 jours avant fécondation



Les souris axéniques passent plus de temps en mouvements lents et rapides



Absence de réparation des troubles si la conventionalisation est effectuée après la naissance

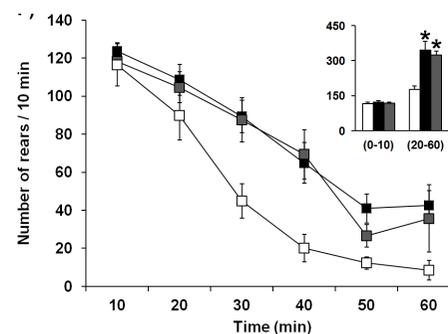


Figure 1

Le microbiote intestinal module développement cérébral et comportement

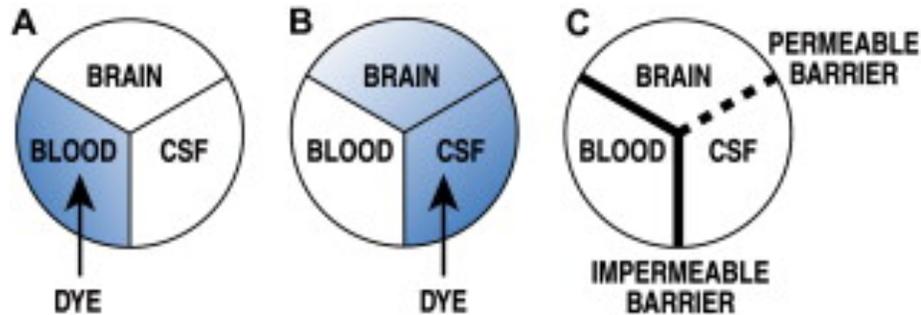
Mesures de l'activité motrice et de du niveau d'anxiété de souris:

1 – Les nouveaux-nés axéniques ont une activité motrice accrue et un comportement anormal avec diminution du niveau d'anxiété et augmentation des conduites à risque en comparaison de souris conventionnelles SPF.

2 – Ce phénotype comportemental anormal est associé à l'altération de l'expression de gènes impliqués dans la production de messagers secondaires et dans la potentialisation synaptique à long terme dans les zones du cerveau impliquées dans le contrôle moteur et dans le contrôle de l'anxiété (gyrus striatum).

3 – Les souris axéniques précocement colonisées par une flore intestinale normale acquièrent un phénotype comportemental similaire à celui des souris SPF, incluant une réduction de l'expression de PSD-95 et de la synaptophysine dans le gyrus striatum.

Historique de la barrière hémato-encéphalique



Paul Ehrlich



Edwin Goldmann



Lina Stern

- Au début du 20^{ème} siècle, Paul Ehrlich utilisant des colorants dont l'aniline afin de mieux examiner la fine structure histologique des organes note que l'aniline colore tous les organes sauf le cerveau. Sa première interprétation est que le tissu cérébral ne peut fixer les colorants.

- En 1913, un de ses étudiants, Edwin Goldmann, injecte ce même colorant dans le liquide cérébro-spinal (LCR) de plusieurs animaux et montre que le tissu cérébral est parfaitement coloré, mais pas le reste de l'organisme !

Démonstration d'une compartimentalisation entre le système nerveux central (SNC) et le reste de l'organisme. On pensa que les vaisseaux sanguins eux-mêmes étaient responsables de cet effet de barrière car aucune membrane n'était observable.

Le concept de barrière hémato-encéphalique (BHE), ou barrière hémato-cérébrale (BBB) fut proposé en 1921 par Lina Stern

Barrière hémato-encéphalique (BHE / BBB): endothélium des microvaisseaux du SNC

La BHE empêche la diffusion libre par voie paracellulaire des molécules hydrosolubles. Rôle essentiel **des jonctions serrées** (TJs) organisées dans un réseau complexe, de **l'absence de fenestration** et d'une **faible activité de micropinocytose** limitant le passage transcellulaire des molécules.

Combinaison à un grand nombre de transporteurs assurant le « filtrage » des nutriments et médiateurs nécessaires au métabolisme et fonctions du cerveau, et le rejet des molécules sériques potentiellement toxiques.

Interaction avec plusieurs types cellulaires contribuant au maintien anatomique et fonctionnel de la barrière: astrocytes, péricytes, cellules présentatrices d'antigène.



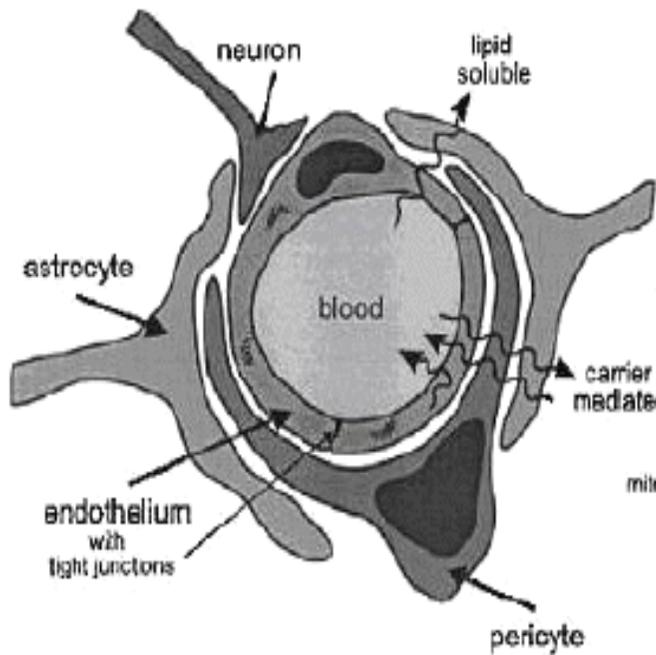
Moulage du réseau microvasculaire cérébral

Engelhardt B & Sorokin L. 2009.

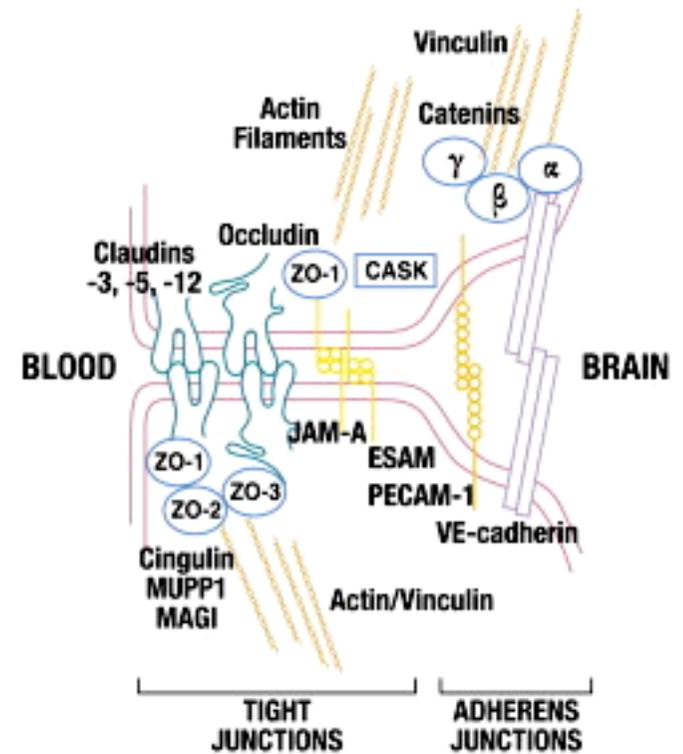
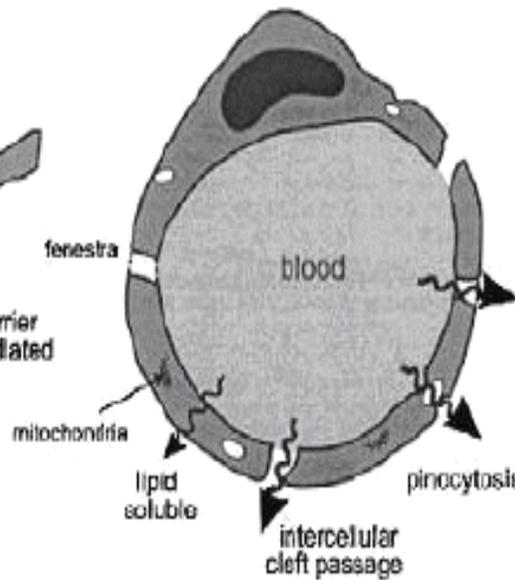
The blood brain barrier and the blood-cerebrospinal fluid barrier: function and dysfunction. Semin. Immunopathol., 31:497-511

Barrière hémato-encéphalique (BHE / BBB)

Microvaisseau cérébral



Microvaisseau « classique » fenêtré



B

BLOOD

Glucose →

Lactate →

essential AA →

nitronic AA →

→

→

K⁺ →

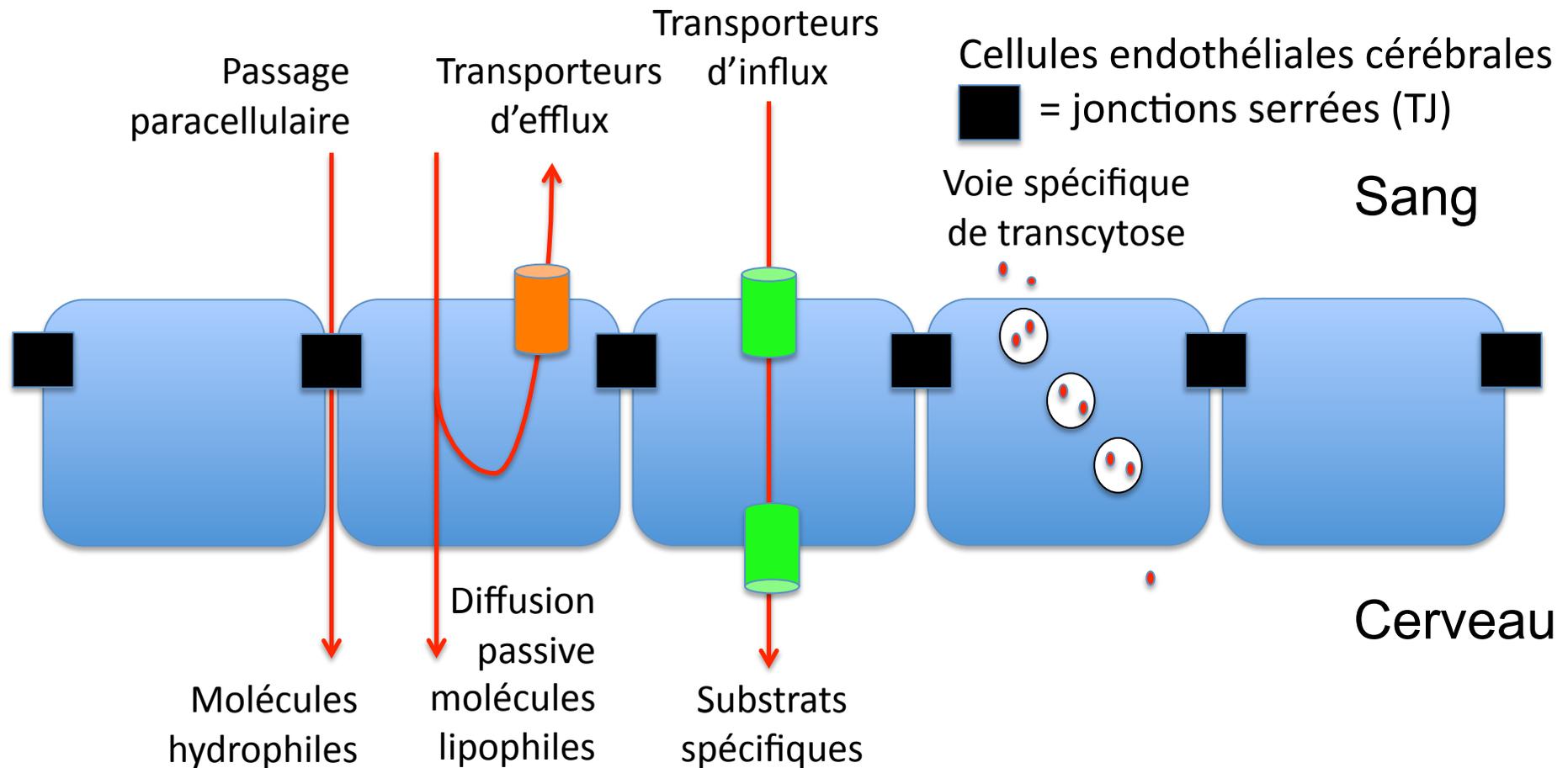
HCO₃⁻ →

→

→

H⁺ →

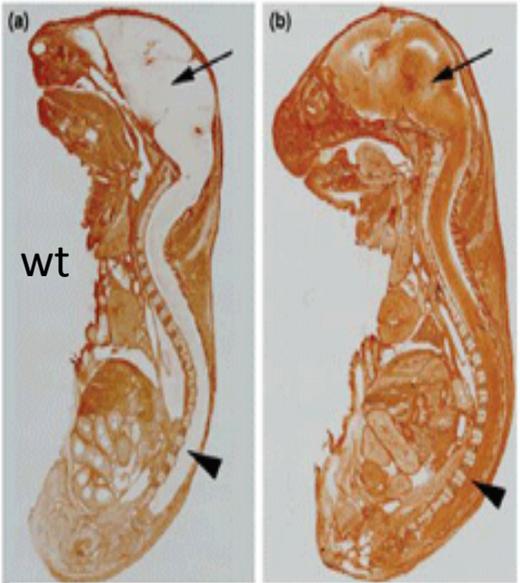
La barrière hémato-encéphalique est une barrière active permettant de maintenir l'homéostasie cérébrale en contrôlant les échanges entre le sang et le cerveau



Adapté de Vigicell

L'intégrité de la BHE est souvent altérée au cours maladies du système nerveux central : maladies neurodégénératives, tumeurs primaires ou métastatiques, infections virales ou bactériennes, sclérose en plaques, accident vasculaire cérébral

Maturité fonctionnelle de la BHE



E18

Claudine-5-/-

wt

E12

E13

E15

Naissance

P1

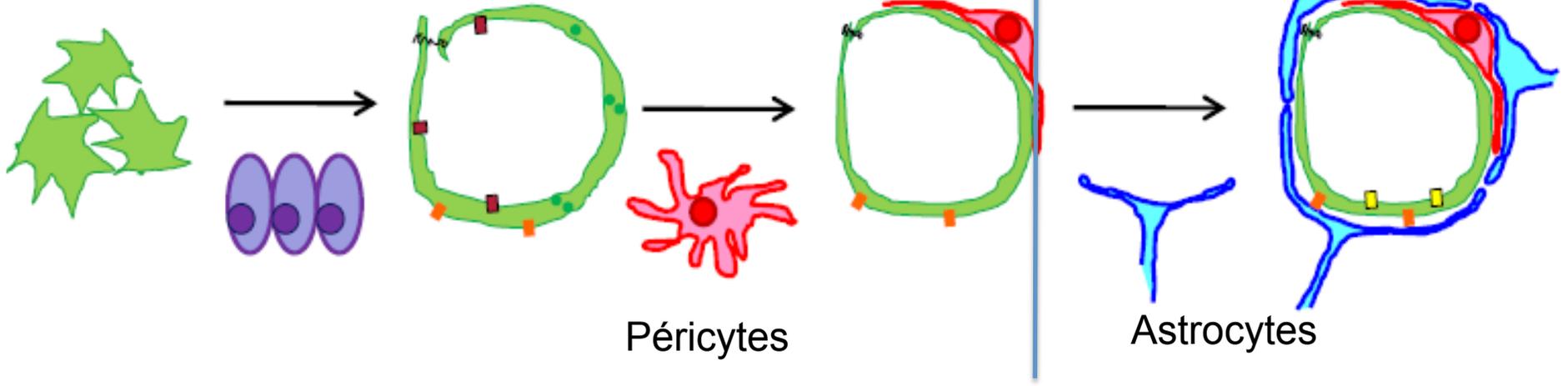
P5

Apparition des jonctions serrées

Fermeture BHE

JS matures

Altération de la BHE
Un traceur injecté dans le sang
n'est plus exclu de l'encéphale
chez un animal déficient en
Claudine-5.



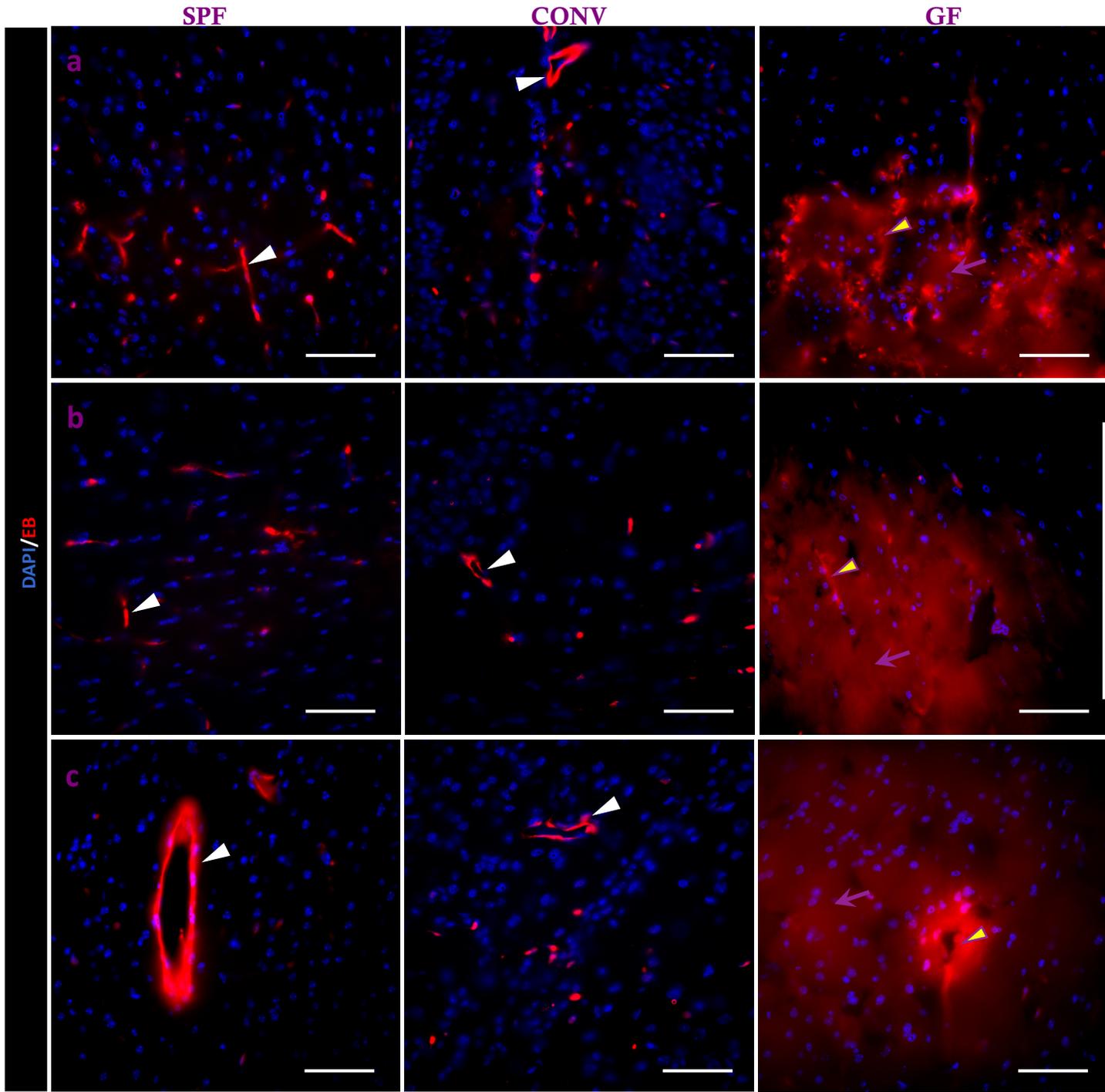
Sci Transl Med. 2014 November 19; 6(263): 263ra158. doi:10.1126/scitranslmed.3009759.

The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice

Viorica Braniste^{1,†,*}, Maha Al-Asmakh^{1,*}, Czeslawa Kowal^{2,*}, Farhana Anuar¹, Afrouz Abbaspour¹, Miklós Tóth³, Agata Korecka¹, Nadja Bakocevic⁴, Lai Guan Ng⁴, Parag Kundu⁵, Balázs Gulyás^{3,5}, Christer Halldin^{3,5}, Kjell Hultenby⁶, Harriet Nilsson⁷, Hans Hebert⁷, Bruce T. Volpe⁸, Betty Diamond^{2,‡}, and Sven Pettersson^{1,5,9,†,‡}

¹Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institute, 17177 Stockholm, Sweden.

²Center for Autoimmune and Musculoskeletal Disease. The Feinstein Institute for Medical

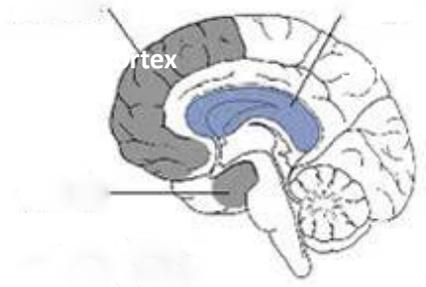


Perfusion de
bleu Evans
(rouge)

Cortex

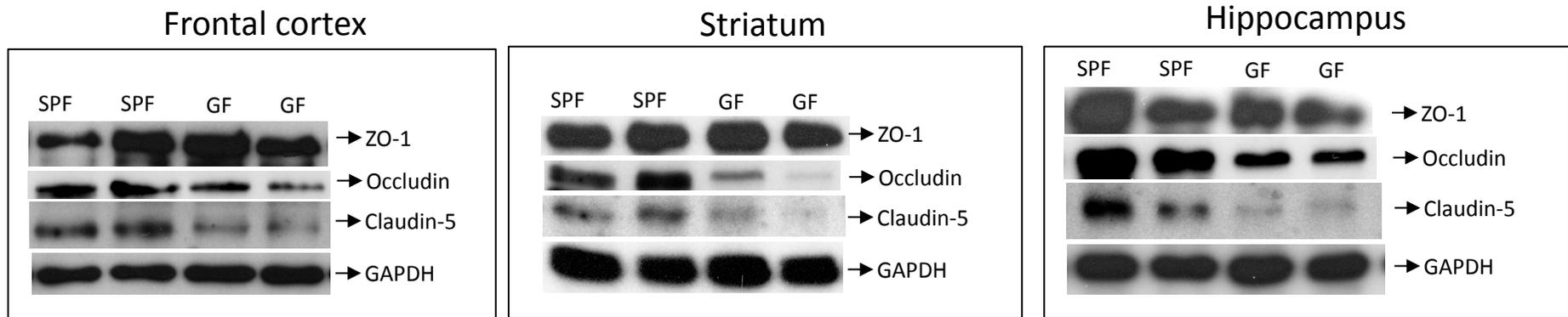
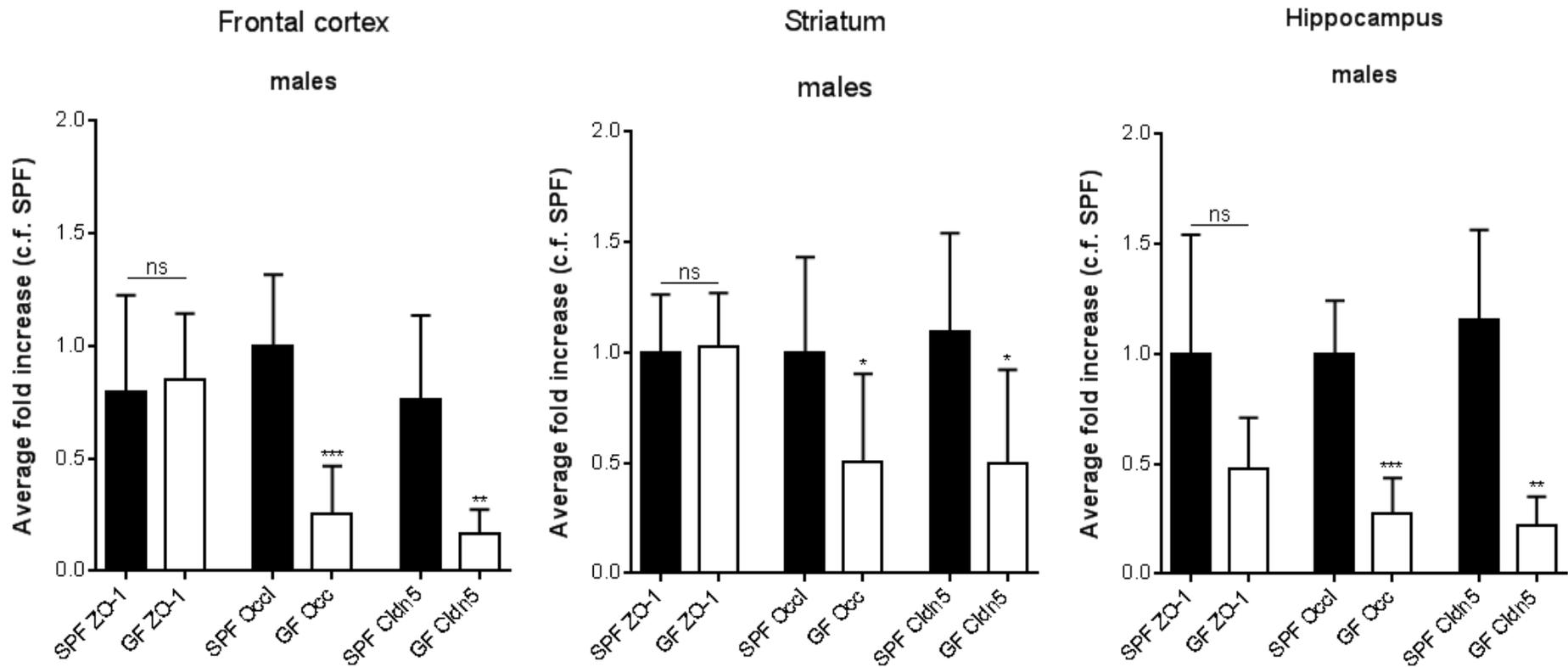
Hippocampe

Striatum



DAPI/EB

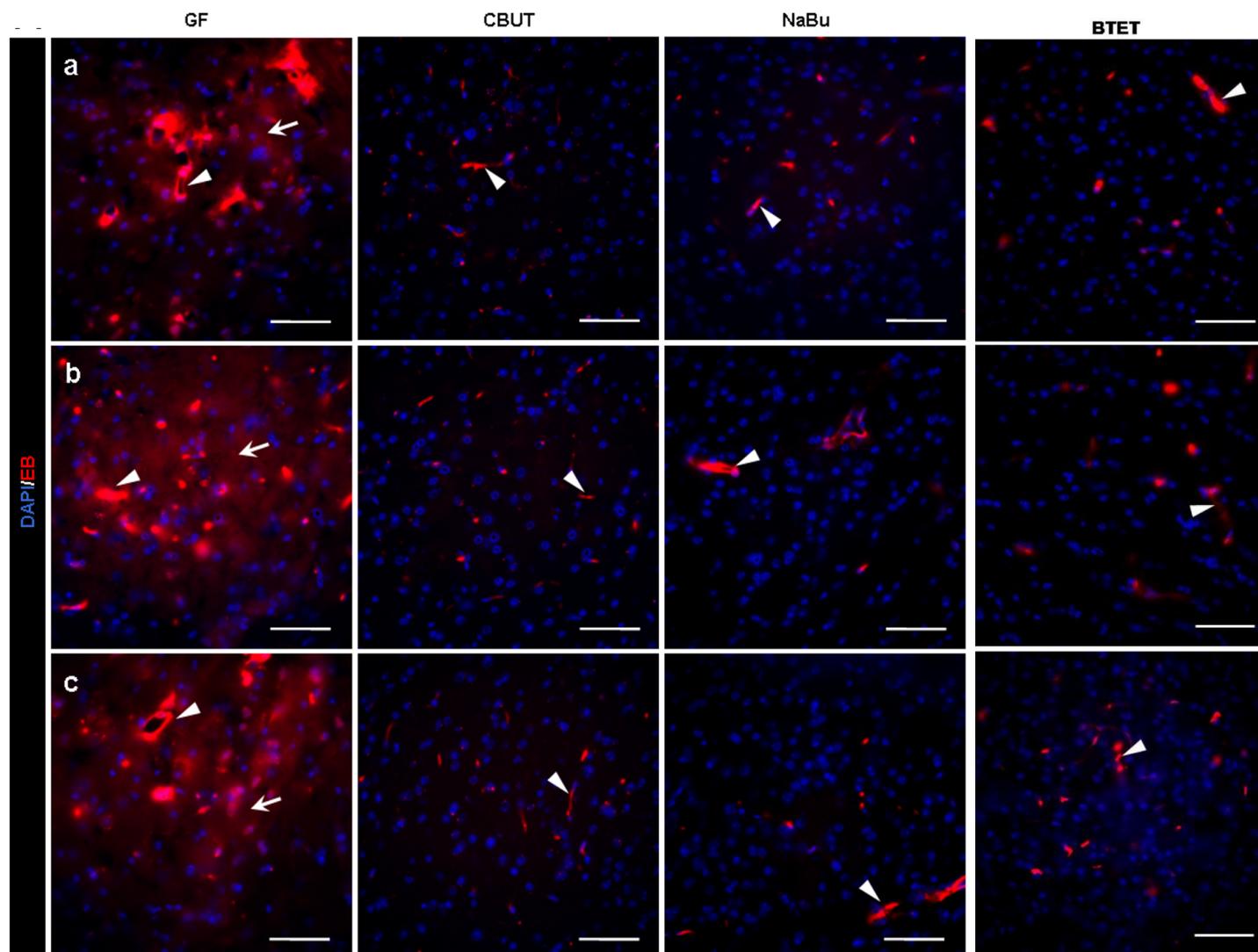
Expression des jonctions serrées chez la souris



Sven Pettersson 2014

The results are from 6 GF vs 10 SPF mice

Augmentation de l'imperméabilité de la barrière hématoencéphalique par SCFA



Gut microbiota physiological development

Gut microbiota physiological programming

Intestinal microbial symbiosis



Time scale, age: 0–18 years



Infancy

- Breast or formula feeding

0–1 year

a

Mother/infant microbiota interaction



Toddlerhood

- Solid food weaning

1–6 years

b

Gut microbiota and host child communication: energy storage and metabolism, immune function, barrier integrity, autonomic nervous system, processes of the host (epithelial cell proliferation, intestinal motility)



Childhood

6–13 years



Teens

13–19 years

Food–host microbiome interaction