

TP 04 Entretien du microbiote et santé.

EM : Pour commencer :
protégé par le microbiote:

<https://www.reseau-canope.fr/corpus/video/les-roles-du-microbiote-sur-la-sante-232.html>

« Toutes les maladies commencent dans l'intestin.. » — Citation attribuée à Hippocrate.

Il y a depuis le début des années 2000 un consensus médical sur l'importance du microbiote pour la santé.

Objectifs :

Grâce à l'étude des groupements de documents :

Définir les rôles du microbiote : **réaliser un schéma** de synthèse

Déduire les conduites à tenir pour conserver un microbiote en bon état. **Compléter le schéma de synthèse.**

Comment modifier le microbiote pour soigner ? **Compléter le schéma de synthèse.**

Document 0 : Qu'est ce qu'une Dysbiose ?

La dysbiose est un déséquilibre à plus ou moins long terme du microbiote. Elle peut se caractériser par :

- Perte d'espèces fondatrices
- Perte de richesse
- Augmentation de pathobiontes(éléments pathogènes du microbiote)
- Shift(changement d'état) métabolique
- Perte du dialogue avec l'hôte

Un antibiotique naturel dans le microbiote

Une équipe française a identifié, dans l'une des nombreuses bactéries de notre flore intestinale, une enzyme permettant de produire de nouveaux peptides bioactifs.

Nos intestins sont colonisés par près de 100 000 milliards de micro-organismes, notamment des bactéries, qui forment le microbiote. Grâce aux techniques de séquençage de l'ADN, les biologistes ont mis en évidence les gènes de cet ensemble complexe qui vit en symbiose avec notre organisme. Mais cela ne suffit pas à comprendre le rôle du microbiote sur la santé: encore faut-il identifier les innombrables réactions chimiques et les composés qu'il produit. Pour relever ce défi colossal, plusieurs équipes à travers le monde se sont lancées sur la piste des enzymes fabriquées par le microbiote, ces molécules qui activent ou accélèrent les réactions chimiques. C'est dans ce cadre que s'inscrit le

travail du biochimiste Olivier Berateau, à l'institut Micalis de l'Inra à Jouy-en-Josas. Son équipe a découvert qu'une enzyme produite par la bactérie *Bacillus subtilis* modifie un morceau de protéine ou peptide de façon insoupçonnée: celui-ci devient une molécule active capable de bloquer la croissance de la bactérie. En un mot, il joue un rôle d'antibiotique (1).

Pour comprendre cette activation, il faut entrer dans l'anatomie des acides aminés, les briques de base des peptides. Dans la nature, chaque acide aminé, bien qu'ayant la même formule, existe sous deux formes, dont l'image est symétrique dans un miroir: la forme D et la forme L. Les acides aminés qui entrent dans la composition des peptides

ou des protéines synthétisés par les cellules sont uniquement des acides aminés L. C'est pourquoi les biologistes ont longtemps pensé que les acides aminés D n'avaient pas de fonction biologique. Cette hypothèse a été balayée dans les années 1990, avec la découverte d'acides aminés D contenus, par exemple, dans des toxines produites par les scorpions ou les araignées.

SYSTÈME DE RÉGULATION

Mais comment ces acides aminés se retrouvent-ils dans la composition de peptides alors qu'a priori, le ribosome, le complexe qui fabrique les peptides dans la cellule, n'utilise pas d'acides aminés D? L'équipe d'Olivier Berateau vient de lever le mystère. Elle a découvert,

chez *Bacillus subtilis*, une enzyme baptisée YydG capable de transformer un acide aminé L en acide aminé D et ce dans un peptide déjà synthétisé. Cette enzyme peut en effet déplacer un atome d'hydrogène sur des acides aminés inclus dans un peptide et changer ainsi sa configuration spatiale. Les biologistes l'ont vérifié in vitro en mettant des peptides en présence de cette enzyme.

«Les biochimistes parlent d'«épipimérisation». Cette épimérisation d'un acide aminé après la synthèse d'un peptide n'avait encore jamais été observée», note Philippe Langella, biologiste à l'Inra. L'intérêt de cette modification chimique: elle confère une nouvelle fonction biologique au peptide initial. En l'occurrence, il inhibe la croissance de *Bacillus subtilis*. La bactérie est donc l'artisan de sa propre inhibition. Mais les gènes qui codent cette enzyme sont aussi présents dans d'autres bactéries du microbiote, comme les entérocoques et les staphylocoques. Cette enzyme et les peptides qu'elle cible pourraient être impliqués dans un système de régulation de la population microbienne au sein du microbiote. Son potentiel à générer de nouveaux antibiotiques est d'ores et déjà exploré. Mathias Germain

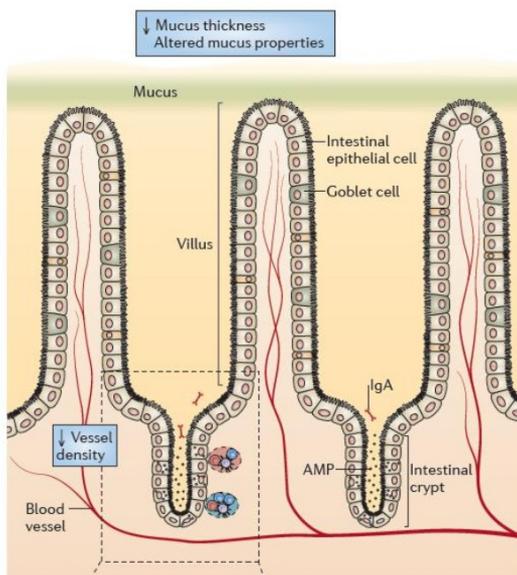
(1) A. Benjdia et al., *Nature Chemistry*, doi:10.1038/nchem.2714, 2017.

SUR LA PISTE DES ENZYMES DE L'INTESTIN

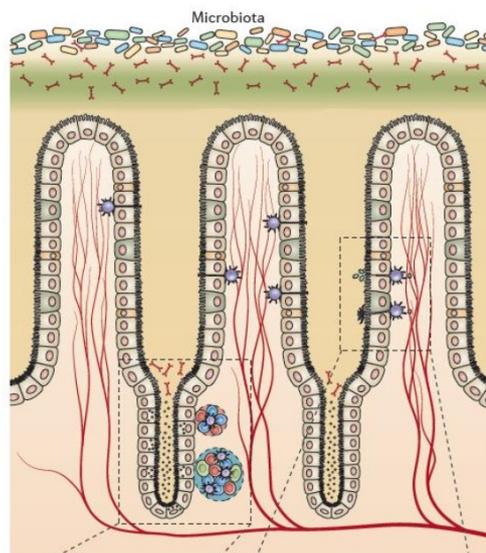
Plusieurs équipes sont à la recherche des enzymes produites par le microbiote et qui favorisent sa symbiose avec notre organisme. Celle d'Emily Balskus, à l'université Harvard, vient d'identifier une enzyme permettant aux bactéries de métaboliser certains acides aminés, les hydroxyprolines, présents dans les protéines humaines (1). Appelée Hyp, cette enzyme permettrait ainsi aux bactéries de vivre dans nos intestins. Elle fait partie de la famille des enzymes à radical glycylic. Sensibles à l'oxygène, celles-ci catalysent des réactions clés dans le métabolisme de micro-organismes anaérobies (demandant peu ou pas d'oxygène), comme l'utilisation de carbohydrates et la synthèse de l'ADN. Pour identifier Hyp, les biologistes ont défini les caractéristiques moléculaires de cette famille d'enzymes afin de les repérer dans l'immense base de données génétiques que constitue le microbiote. Puis, grâce à la bio-informatique, ils sont parvenus à repérer des gènes inconnus, susceptibles de coder des molécules appartenant à cette famille d'enzymes.

(1) B. J. Levin et al., *Science*, 355, 595, 2017.

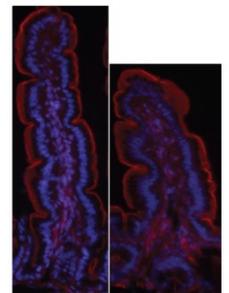
a Germ-free mice



Conventionally raised mice



Morphology of intestinal villus



Bäckhed F, 2012

Dès les premières années de vie, le microbiote est nécessaire pour que l'immunité intestinale apprenne à distinguer espèces *amies* (commensales) et pathogènes. Des études montrent que le système immunitaire de souris axéniques (stériles, élevées sous bulle) est immature et incomplet par rapport à celui de souris élevées normalement : dans l'épithélium intestinal de ces souris, les plaques de Peyer, inducteurs de l'immunité au niveau intestinal, sont immatures et les lymphocytes, effecteurs des réactions immunitaires, sont en nombre réduit. La rate et les ganglions lymphatiques, qui sont des organes immunitaires importants pour l'immunité générale de l'organisme, présentent aussi des anomalies structurelles et fonctionnelles.

Microbiote et inflammation (insERM)

L'inflammation est un élément important, étroitement corrélé à l'immunité : il existe à la fois un niveau physiologique d'inflammation indispensable, contrôlant notamment le microbiote, et des réactions inflammatoires importantes déclenchées en présence d'espèces pathogènes. Ce dernier mécanisme repose notamment sur la présence de composants bactériens inflammatoires, comme les **lipopolysaccharides (LPS)** présents à la surface de certaines bactéries (Gram négatif). Ces antigènes provoquent une réaction immunitaire de la part des macrophages (Cellule du système immunitaire chargée d'absorber et de digérer les corps étrangers) intestinaux qui produisent alors des médiateurs pro-inflammatoires : les cytokines (Substance synthétisée par certaines cellules du système immunitaire, agissant sur d'autres cellules immunitaires pour en réguler l'activité.). Ceux-ci déclenchent une inflammation locale et augmentent la perméabilité de la paroi intestinale. Les LPS peuvent alors traverser cette dernière, passer dans la circulation sanguine, et provoquer un phénomène inflammatoire dans d'autres tissus cibles.

Il existe, notamment au niveau des muqueuses intestinales et pulmonaires des

Lymphocytes régulateurs :

Certains pro inflammatoire :

Les **lymphocytes Th17** qui sécrètent des molécules (TGF- β , interleukines 6, 21 et 23) qui vont stimuler les cellules de l'immunité. Il existe aussi des interleukines pro inflammatoires qui vont, si elles sont libérées, provoquer une activation des cellules immunitaires inflammatoires : IL-18, IL-22...

D'autres anti-inflammatoires :

- Les **lymphocytes B régulateurs** (Breg) sécrètent des IL-10 qui inhibent la réponse immunitaire en inhibant notamment les LTh1 (qui libèrent de l'IL-2 qui stimulent l'amplification clonale des Lymphocytes naïfs sélectionnés.).

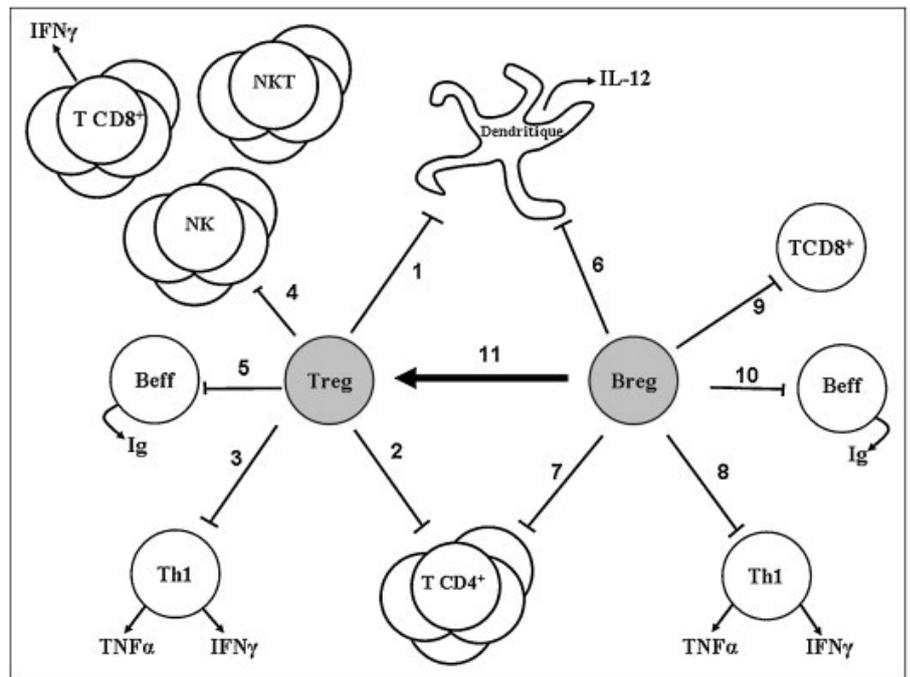
- Les **lymphocytes T régulateurs** (Treg) participent à la tolérance immunitaire en régulant les lymphocytes T effecteurs par leur action immunosuppressive. Ils sont essentiels pour la tolérance aux antigènes du soi, et aux antigènes non dangereux.

Les lymphocytes T régulateurs ne sécrètent pas d'IL-2 et prolifèrent peu lorsqu'ils sont activés par leur récepteur des cellules T à la suite de leur rencontre avec leur antigène, mais ils inhibent les réponses des autres lymphocytes T CD4 et des CD8. Ils inhibent les réponses des lymphocytes T effecteurs ou les font entrer en apoptose, par différents mécanismes encore mal connus :

- En sécrétant des **cytokines suppressives** (IL-10, IL-35)
- En consommant l'IL-2, ce qui limite la prolifération des autres lymphocytes par un effet de compétition
- Par cytolyse directe (destruction des lymphocytes cibles)
- *Via* l'expression à leur surface de molécules inhibitrices (Galectin)

Effets immunosuppresseurs des lymphocytes T et B régulateurs

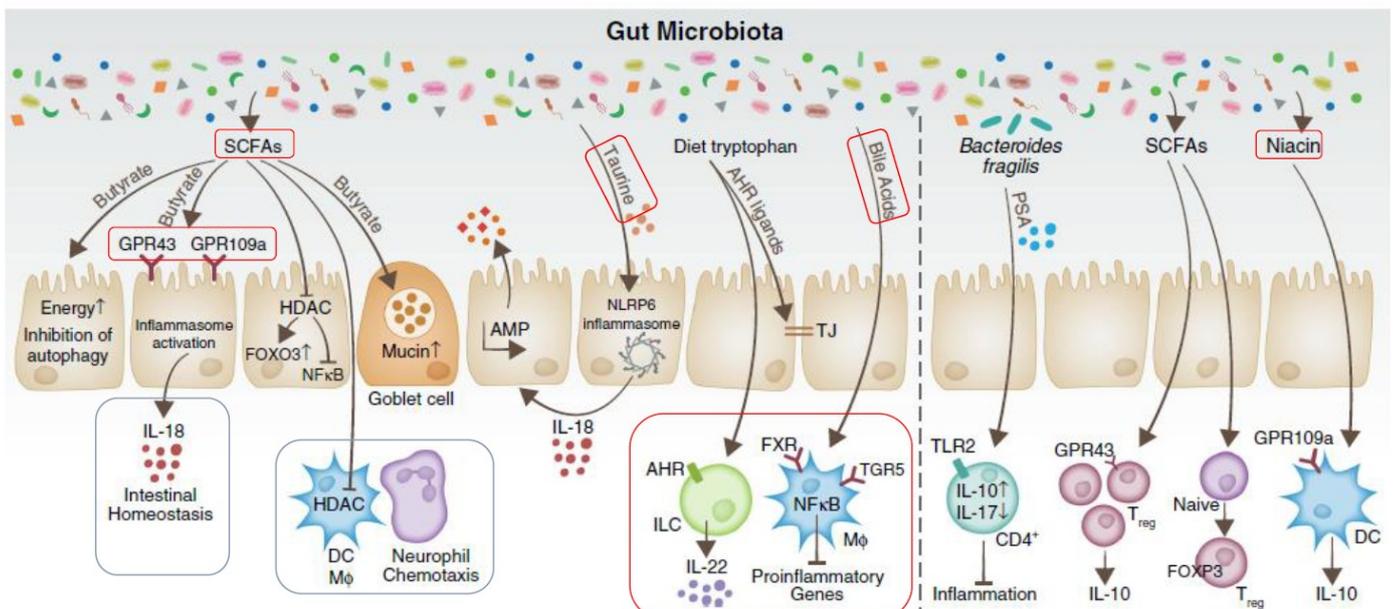
Les lymphocytes T régulateurs (Treg) modulent le développement des réponses immunitaires car ils peuvent (1) inhiber les fonctions de présentation d'antigènes des cellules dendritiques, (2) inhiber la prolifération des lymphocytes TCD4+ et (3) leur différenciation Th1, (4) freiner les réponses cytotoxiques par inhibition de la prolifération et de l'activation des lymphocytes T CD8+, des lymphocytes NK et des lymphocytes NKT, et (5) moduler la réponse anticorps des lymphocytes B effecteurs.



Les lymphocytes B régulateurs (Breg) contrôlent également le développement des réponses immunitaires car ils peuvent (6) inhiber la maturation et la fonction des cellules dendritiques, (7) inhiber la prolifération des lymphocytes T CD4+ et (8) leur différenciation Th1, (9) inhiber l'activation des lymphocytes TCD8+ et (10) moduler la réponse anticorps des lymphocytes B effecteurs. Enfin, (11) les Breg ont la capacité d'induire la production et l'activation des Treg.

Christophe Jamin, CHRU Brest, laboratoire d'immunologie

Modulation de la signalisation immunitaire à travers les métabolites microbiens



Curr Opin Microbiol 2017;35: 8

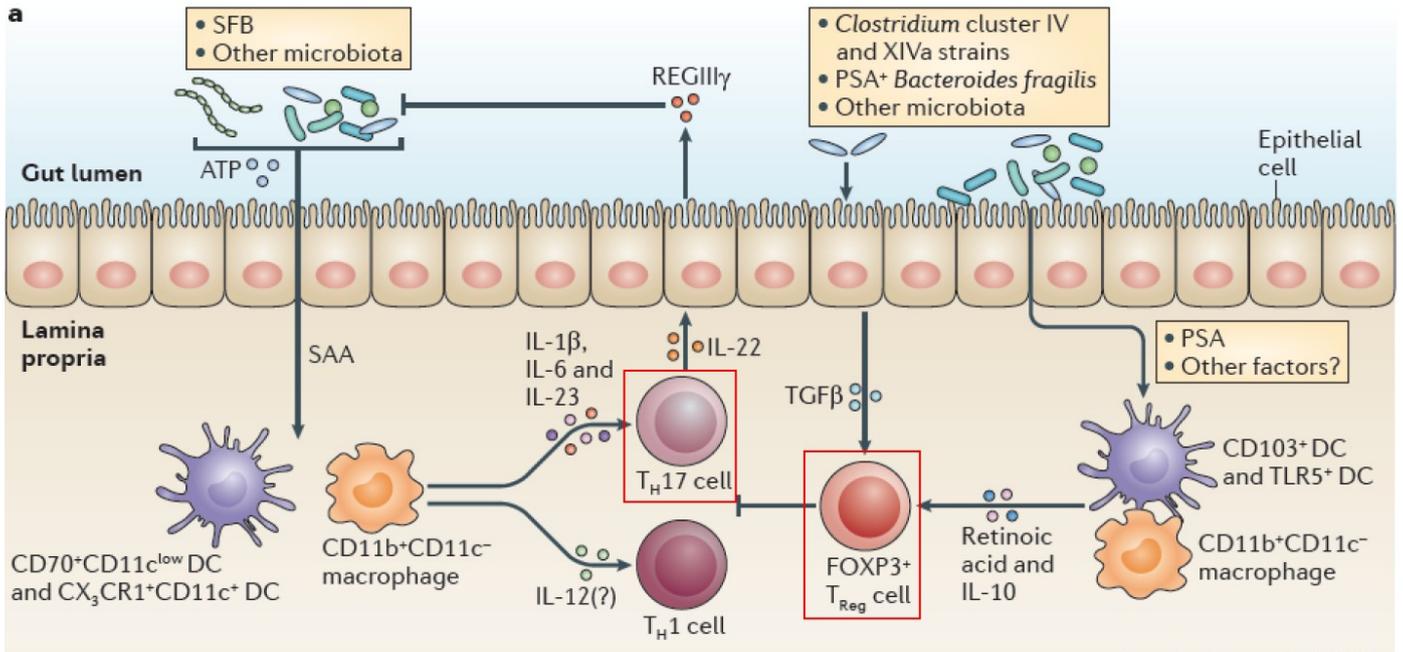
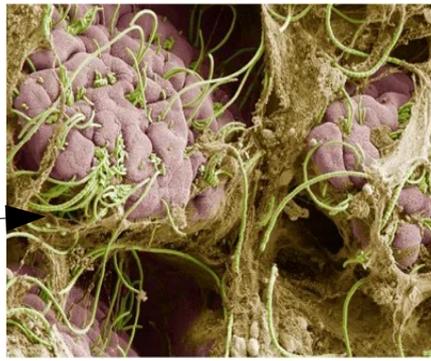
Légendes :

IL : interleukines

← stimulation

└ inhibition

SFB : bactérie segmentée filamenteuse
(échelle : 7µm : )



Groupe documentaire N°2 :

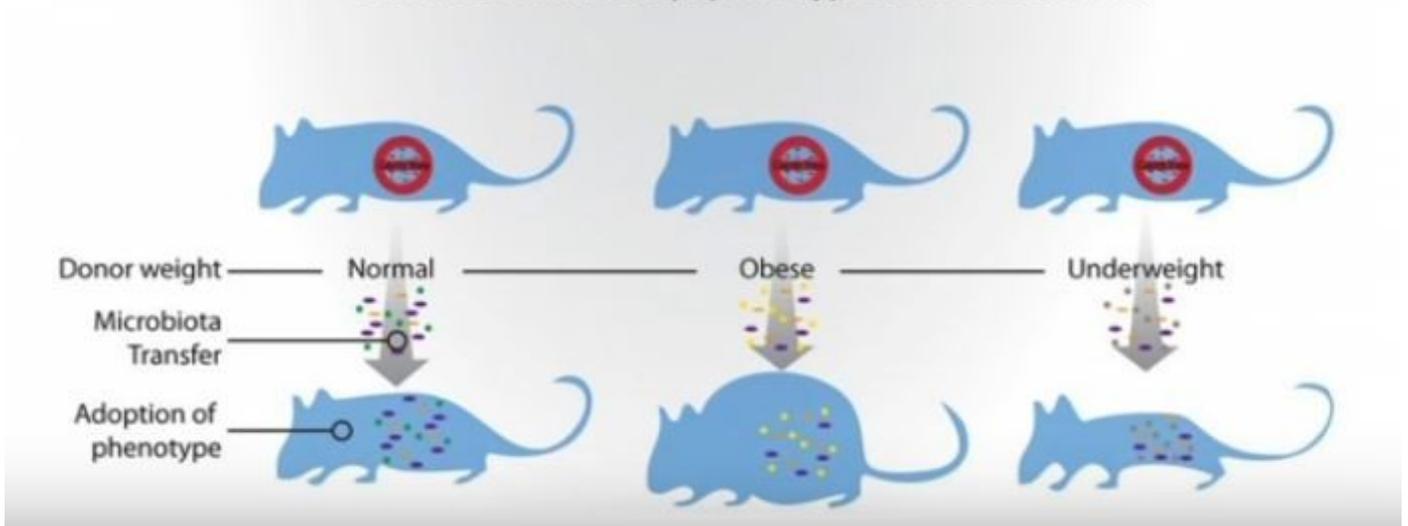
Nat Rev Microbiol. 2013 Sep;11(9):639-47. doi: 10.1038/nrmicro3089. Epub 2013 Aug 5.

The gut microbiota and obesity: from correlation to causality.

Zhao L¹.

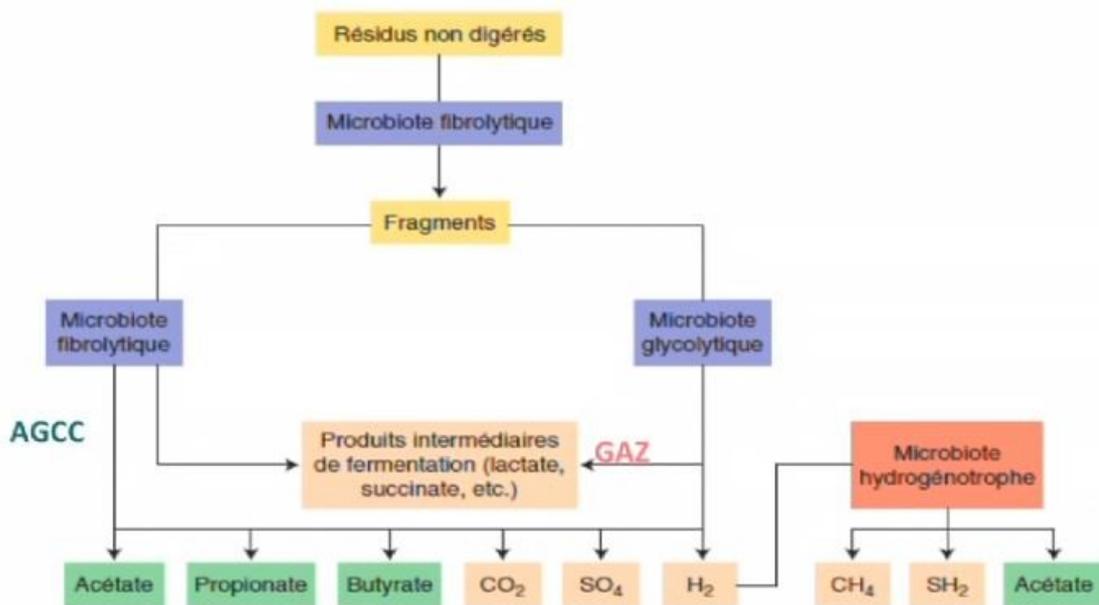
B

Germ-free animals adopt phenotype of microbiota donor



[Une vidéo : M.A. Selosse.](#)

Et un schéma :

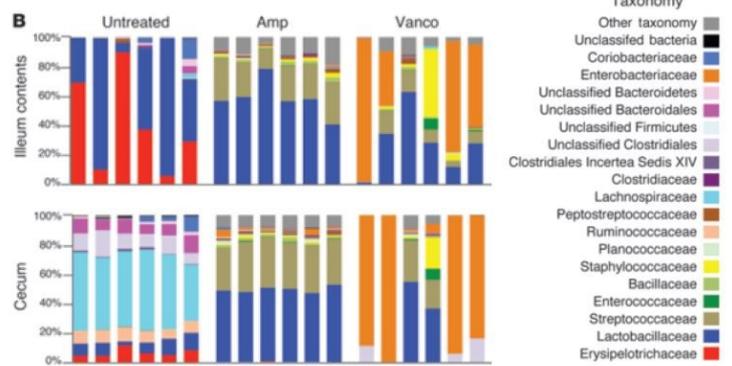
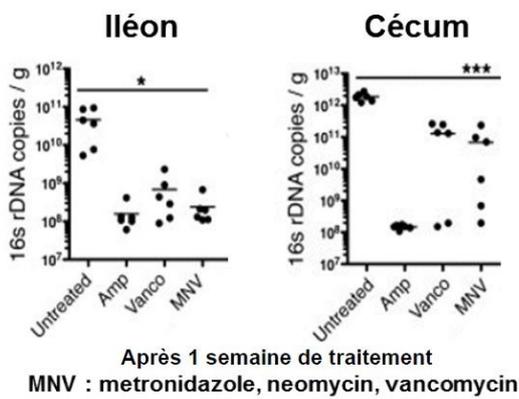


BUTYRATE : directement utilisé par l'épithélium colique tirant 60-70% de son énergie des produits de fermentation bactérienne.

ACETATE : fournit énergie au tissu musculaire + substrat à la synthèse de cholestérol.

PROPIONATE : utilisé par le foie pour la néoglucogénèse

Groupe documentaire n°3 : L'effet des traitements antibiotiques.



Ubeda *et al*, 2010, JCI

Expérimentations sur les réactions de bronchoconstrictions excessives (asthme) chez des souris.

En bas à droite : états des bronches des souris testées.

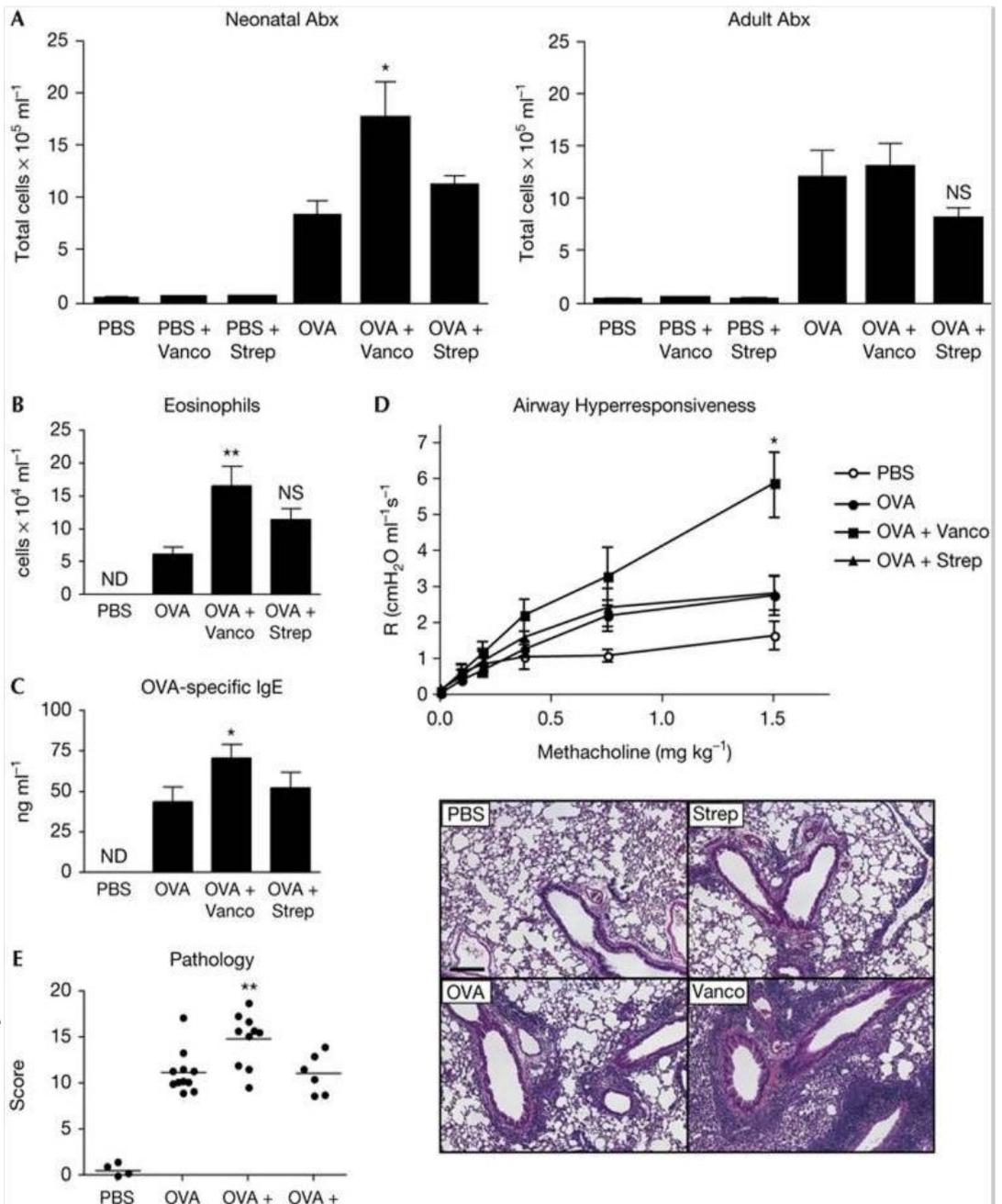
Neonatal vancomycin treatment exacerbates allergic asthma.

(A) Total cellular infiltrates from bronchoalveolar lavage (BAL) of control or antibiotic-treated mice challenged with ovalbumin, an antigen, (OVA) or PBS, a ionique solution without antigen. (B) Eosinophil numbers in the bronchoalveolar lavage (BAL) quantified by cytospin.

(C) Serum OVA-specific IgE responses measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

(D) Airway hyperresponsiveness, measured by changes in resistance (R) in response to increasing doses of methacholine administered intravenously.

(E) Total pathological scores and representative haematoxylin- and eosin-stained lung sections. Scale bar, 300 μ m. All assessments were made on day 26. The data are shown as means of 5–7 mice per group \pm s.e.m.



and represent at least two independent experiments. Statistics shown are based on comparisons to OVA-challenged controls. Antibiotic-treated animals in B–E were treated neonatally. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Abx, antibiotics; ND, none detected; NS, not significant; Strep, streptomycin; Vanco, vancomycin.

PBS : soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium

OVA : ovalbumine : antigène non pathogène.

Groupe documentaire n°4 :

voir l'annexe : TP04Extrait2ArticlesMicrobiotesLRFev2018N532

et

Une vidéo :

https://www.youtube.com/watch?time_continue=325&v=i-JIWuYqkfw&feature=emb_logo

Document en + : Conférence sur les soins maladie de MICI (Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin) via microbiote.

<https://www.youtube.com/watch?v=wL08HMc8yDY>

EM : → Compléter le schéma produit durant la séance.

Le microbiote intestinal réduit l'efficacité du traitement de la maladie de Parkinson

Le lundi 1 juillet 2019 (La recherche)

Des chercheurs de l'Université de Californie et Harvard sont parvenus à identifier deux bactéries de notre microbiote intestinal responsables de la faible efficacité d'un traitement de la maladie de Parkinson. Cette étude confirme l'importance du microbiote intestinal pour notre santé.

Archées, bactéries, champignons, virus : pas moins de 100 000 milliards de microorganismes vivent dans notre tube digestif. Ils forment le microbiote intestinal, améliorant notre digestion ou encore notre immunité. Mais cet allié se retourne parfois contre nous. Alors que la maladie de Parkinson affecte plus de 1% de la population mondiale âgée de 60 ans et plus, l'efficacité de son principal traitement, la Lévodopa (L-dopa), est très variable selon les malades, et même parfois nulle. Les responsables de cette efficacité réduite sont les microorganismes du microbiote intestinal : l'un eux métabolise la molécule de L-dopa dans les intestins, l'empêchant d'agir dans le cerveau et déclenchant des effets secondaires. Jusqu'à récemment, les mécanismes d'action du microbiote sur la L-dopa étaient mal compris. Une équipe de chercheurs de l'Université de Californie et Harvard a identifié, parmi les milliards de bactéries de nos intestins, celle qui est à l'origine de ce métabolisme non désirable, et a trouvé un composé capable de la bloquer.

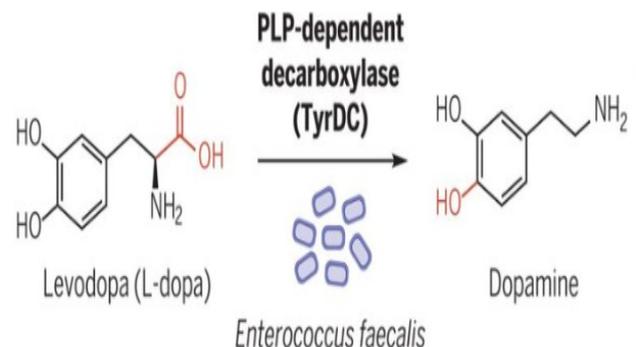
Apporter de la dopamine au cerveau

Lenteur des mouvements, raideur musculaire et tremblements au repos : les principaux symptômes de la maladie de Parkinson proviennent d'un déficit en dopamine, neurotransmetteur impliqué entre autre dans le contrôle moteur. « *La L-dopa doit donc pénétrer dans le cerveau, où elle est convertie en dopamine par une enzyme qui décarboxyle les acides aminés aromatiques (AADC)* », explique Philippe Langella, responsable du laboratoire des interactions des bactéries commensales et probiotiques avec l'hôte au sein de l'Institut Micalis de l'Inra. En amenant in fine de la dopamine au cerveau, ce médicament traite donc, en théorie, les symptômes de la maladie.

En réalité, seul 1 à 5% de la L-dopa ingérée atteint le cerveau. « *Le tractus gastro-intestinal est aussi un site majeur du métabolisme de L-dopa, ce qui est problématique dans la mesure où la dopamine générée dans l'intestin ne peut pas traverser la barrière hémato-encéphalique* », poursuit le biologiste. Cette barrière protège le cerveau en le séparant de la circulation sanguine. Ce métabolisme périphérique du médicament empêche une partie du médicament de se rendre dans le cerveau, et provoque des effets secondaires chez les patients, notamment des arythmies cardiaques. « *La L-dopa est donc aujourd'hui co-administrée avec le carbidopa, un inhibiteur de l'AADC* », développe le chercheur de l'Inra. Mais même avec cette prescription, 56% de la L-dopa reste malgré tout modifiée au niveau intestinal. Pour stopper ce mécanisme, il est nécessaire de comprendre ce qui se déroule dans l'intestin.

Enterococcus faecalis, responsable du métabolisme intestinal de la Lévodopa

La molécule de Lévodopa, prescrite pour atténuer les symptômes de la maladie de Parkinson, est convertie en dopamine par une enzyme produite par la bactérie intestinale *Enterococcus faecalis*. Le déficit en dopamine est responsable des principaux symptômes de cette maladie neurodégénérative.

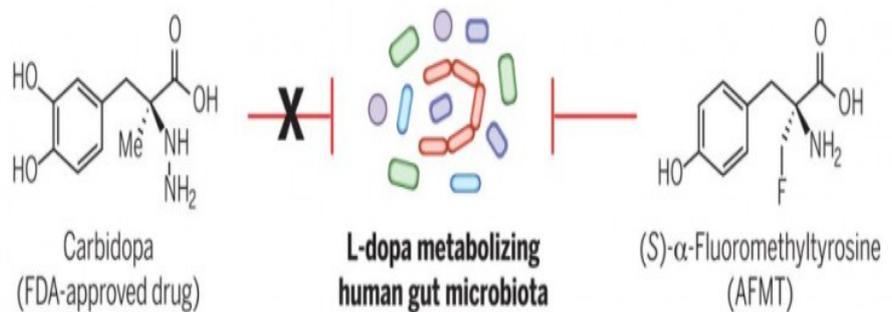


C'est ce que l'équipe de Maini Rekdal, auteur de l'étude, et chercheur au sein du département de chimie et de chimie biologique de l'Université Harvard, est parvenue à faire. Les chercheurs ont isolé des souches de

bactéries intestinales et y ont cherché des enzymes capables de produire de la dopamine à partir de la L-dopa. Ils se sont aperçus que deux bactéries, *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis*, étaient entourées de ces enzymes. En mettant ces deux dernières en présence de L-dopa, ils ont observé qu'*Enterococcus faecalis* produisait systématiquement de la dopamine.

Le carbidopa est prescrite conjointement à la Lévodopa, médicament traitant les symptômes de la maladie de Parkinson, afin d'éviter le métabolisme intestinal non désirable de cette dernière.

Les auteurs de l'étude se sont aperçus qu'un autre composé, l'alpha-Fluoromethyltyrosine, inhibe de manière beaucoup plus efficace ce métabolisme non désirable.



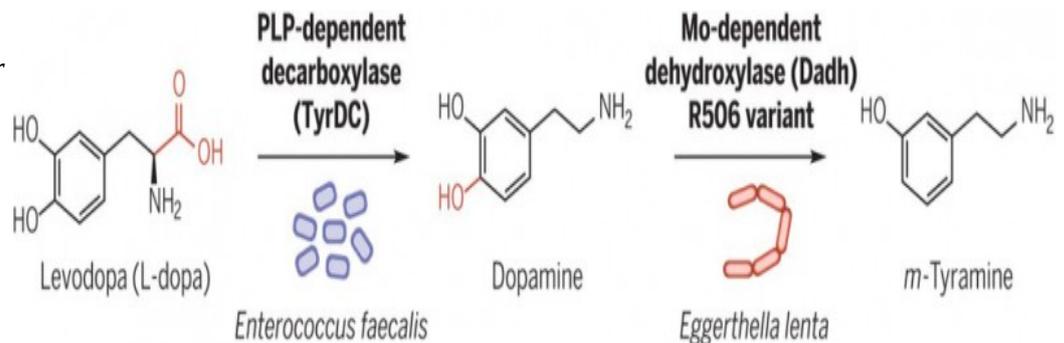
« Cette bactérie produit une AADC insensible au carbidopa », poursuit Philippe Langella. Cette enzyme est donc à l'origine du métabolisme périphérique de la L-dopa, et ce même lorsque le carbidopa est conjointement prescrit. Les auteurs sont allés plus loin encore : ils ont identifié un inhibiteur très puissant de cette enzyme, l'alpha-Fluoromethyltyrosine (AFMT). Ce composé, en bloquant la production d'enzyme par *Enterococcus faecalis*, empêche la formation de dopamine dans l'intestin, sans tuer la bactérie. Cette découverte ouvre de nouvelles pistes pour augmenter l'efficacité du traitement à la L-dopa. Cependant, l'objectif est aussi de réduire les effets indésirables de ce traitement, ce que les biologistes sont parvenus à faire.

Eggerthella lenta, responsable des effets secondaires de la Lévodopa ?

La molécule de Lévodopa, prescrite pour atténuer les symptômes de la maladie de Parkinson, est convertie en dopamine par une enzyme produite par la bactérie intestinale *Enterococcus faecalis*.

Cette dopamine est

ensuite elle-même convertie en m-Tyramine par une enzyme produite par une autre bactérie intestinale, *Eggerthella lenta*. La m-tyramine serait responsable des effets secondaires indésirables du traitement à la Lévodopa.



Après que la L-dopa ait été transformée en dopamine, celle-ci peut à son tour être métabolisée en m-tyramine, molécule qui pourrait bien être responsable des effets secondaires du traitement. En présence d'*Enterococcus faecalis* uniquement, cette m-tyramine n'est pas produite, ce qui suggère qu'un autre microbe est responsable de sa production. Les chercheurs ont montré qu'*Eggerthella lenta*, une seconde bactérie intestinale, est capable de produire une enzyme métabolisant la dopamine en m-tyramine. Il s'agit, là encore, d'une piste prometteuse pour l'amélioration des traitements des personnes atteintes de la maladie de Parkinson. Pour le spécialiste du microbiote intestinal Philippe Langella, il s'agit d'un « très bel exemple de l'impact de nos bactéries intestinales sur la métabolisation de nos médicaments, qui confirme la nécessité de prendre en compte notre microbiote intestinal dans notre santé ».

Margot Brunet © V. Maini Rekdal et al., Science, 364, 1055, 2019