

LE MICROBIOTE INTESTINAL, FACTEUR DE VULNÉRABILITÉ AUX TROUBLES ANXIEUX ET DE L'HUMEUR

THE INTESTINAL MICROBIOTA, A VULNERABILITY FACTOR IN ANXIETY AND MOOD DISORDERS

Par Sylvie RABOT¹

(Communication présentée le 6 avril 2023, manuscrit accepté le 31 août 2023)

RÉSUMÉ

De nombreuses études sur modèles animaux montrent que le microbiote intestinal affecte les réponses émotionnelles au stress. Dans ce contexte, nous avons étudié les effets d'un métabolite produit par le microbiote intestinal à partir du tryptophane, l'indole. Chez des modèles animaux dont nous avons manipulé le microbiote pour qu'il produise ou non de l'indole, nous avons montré que cette molécule intensifie les comportements de type anxieux et dépressif. Son action s'exercerait par une activation du nerf vague et l'imprégnation du cerveau par des dérivés secondaires de l'indole, produits par le foie. Dans une cohorte humaine destinée à étudier les relations nutrition-santé, nous avons montré une association positive entre symptômes dépressifs et production d'indole par le microbiote. Ces travaux illustrent l'importance de prendre en compte les activités métaboliques du microbiote intestinal dans la physiopathologie des troubles anxieux et de l'humeur.

Mots Clés : microbiote ; indole ; 3-indoxylsulfate ; stress ; nerf vague

ABSTRACT

Numerous studies on animal models show that the gut microbiota influences emotional responses to stress. In this context, we studied the effects of indole, a metabolite produced by the gut microbiota from tryptophan. In animal models whose microbiota was manipulated to produce or not indole, we showed that this molecule intensifies anxiety- and depression-like behaviours. Two pathways seem to explain indole's effects: an activation of the vagus nerve, and an accumulation in the brain of secondary indole derivatives, produced by the liver. In a human cohort designed to study the relationships between nutrition and health, we showed a positive association between depressive symptoms and indole production by the gut microbiota. These works highlight the importance of taking into account the metabolic activities of the gut microbiota in the pathophysiology of anxiety and mood disorders.

Keywords: microbiome; indole; 3-indoxylsulfate; stress; vagus nerve

INTRODUCTION

Le microbiote intestinal désigne l'ensemble des micro-organismes (virus, archées, bactéries et champignons) qui peuplent le tube digestif. C'est un écosystème abondant et diversifié, qui apporte à l'organisme un potentiel génétique de plusieurs centaines de milliers de gènes, le métagénome (Lozupone *et al.* 2012). À ce titre, le microbiote intestinal fait partie intégrante de la physiologie de l'organisme (Xu & Gordon 2003 ; Gérard & Bernalier-Donadille 2007). Il participe notamment à l'axe intestin-cerveau et exerce par ce biais des effets importants sur le fonctionnement cérébral et le comportement (Cryan & Dinan 2012).

Des comparaisons entre animaux axéniques et conventionnels montrent de manière spectaculaire que le microbiote intestinal influence les réponses émotionnelles au stress chez différentes espèces couramment utilisées en laboratoire, telles que le poisson-zèbre, la caille, la souris et le rat (Diaz Heijtz *et al.* 2011 ; Clarke *et al.* 2013 ; Crumeyrolle-Arias *et al.* 2014 ; Davis *et al.* 2016 ; Kraimi *et al.* 2018). D'autres expériences, visant à déséquilibrer le microbiote intestinal d'animaux conventionnels avec des antibiotiques, confirment cette influence (Bercik *et al.* 2011 ; Leclercq *et al.* 2017).

1- Docteur vétérinaire, Chargée de recherche, <https://orcid.org/0000-0002-4603-2038>, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, 78350 Jouy-en-Josas, France. Courriel : Sylvie.Rabot@inrae.fr



Ces observations conduisent à l'hypothèse que, chez l'être humain, des déséquilibres du microbiote intestinal pourraient contribuer à la physiopathologie des troubles anxieux et de l'humeur. Plusieurs études soutiennent cette hypothèse. Tout d'abord, des analyses menées dans divers pays montrent que la composition taxonomique du microbiote fécal de patients dépressifs diffère de celle de sujets sains (Valles-Colomer *et al.* 2019 ; Nikolova *et al.* 2021). La composition du microbiote intestinal de modèles animaux de dépression, tels que des rongeurs soumis à un stress chronique, diffère aussi de celle d'animaux naïfs (Yu *et al.* 2017 ; Chevalier *et al.* 2020). Par ailleurs, des rongeurs axéniques recevant une transplantation de microbiote fécal, issu de patients anxieux ou dépressifs ou de modèles animaux de dépression, présentent des comportements de type anxieux ou dépressif (Zheng *et al.* 2016 ; De Palma *et al.* 2017 ; Chevalier *et al.* 2020). À l'inverse, quelques études pilotes mettent en évidence la capacité de bactéries probiotiques à atténuer les symptômes d'anxiété et de dépression chez des modèles animaux et chez des patients (Bravo *et al.* 2013 ; Pinto-Sanchez *et al.* 2017 ; Nikolova *et al.* 2023).

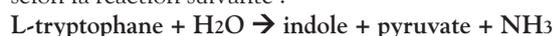
Cependant, à ce jour, il n'existe pas de consensus sur la nature des modifications du microbiote intestinal en cas de troubles anxieux ou de l'humeur : celles-ci diffèrent d'une étude à l'autre, de telle sorte qu'aucune "signature microbienne" spécifique de ces troubles n'a pu être identifiée. L'analyse de la composition taxonomique du microbiote s'avère donc insuffisante et des analyses fonctionnelles doivent y être associées pour caractériser le potentiel neuro-actif du microbiote intestinal et identifier des biomarqueurs (Yu *et al.* 2017 ; Heintz-Buschart & Wilmes 2018 ; Valles-Colomer *et al.* 2019).

À cet égard les analyses métabolomiques offrent d'intéressantes perspectives. En effet, la combinaison du potentiel génétique du microbiote intestinal et de la myriade de substrats apportés par l'alimentation et les sécrétions gastro-intestinales et hépatiques conduit à une production de métabolites bactériens très divers, qui influencent profondément le métabolome de l'hôte. Wikoff *et al.* (2009) ont montré que, comparativement à des souris axéniques, le métabolome plasmatique de souris conventionnelles est enrichi en espèces chimiques produites par le microbiote, puis éventuellement modifiées par les enzymes hépatiques du métabolisme des xénobiotiques (cytochromes P450, transférases). Il s'agit en particulier de molécules dérivées d'acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane, phénylalanine). Des modifications du profil et des concentrations de ces métabolites d'origine bactérienne pourraient-elles influencer le cerveau et le comportement ? Chez un modèle de souris reproduisant des traits comportementaux de l'autisme, Hsiao *et al.* (2013) ont identifié dans le sérum un métabolite bactérien dérivé de la tyrosine, le 4-éthylphénylesulfate, dont la concentration était 46 fois supérieure à celle observée dans le sérum de souris naïves. L'administration chronique de ce composé à ces dernières provoque un comportement de type anxieux de même intensité que celui observé chez les souris "autistes". C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés au rôle d'un métabolite bactérien issu du tryptophane, l'indole, dans la vulnérabilité aux troubles anxieux et de l'humeur.

UNE SURPRODUCTION D'INDOLE PAR LE MICROBIOTE INTESTINAL FAVORISE DES COMPORTEMENTS DE TYPE ANXIEUX ET DÉPRESSIF CHEZ LE RONGEUR

Mise au point d'un modèle animal de surproduction d'indole

Dans l'organisme, l'indole est produit exclusivement par le microbiote intestinal, via une lyase, la tryptophanase (TnaA), selon la réaction suivante :



Une grande diversité de bactéries appartenant principalement aux phyla Firmicutes, Bacteroidota et Pseudomonadota possèdent dans leur génome le gène *tnaA* codant pour cette enzyme (Lee & Lee, 2010). Cependant, beaucoup restent encore à identifier comme nous l'avons montré grâce à l'analyse de la distribution des gènes codant pour la protéine *TnaA* dans un catalogue métagénomique humain : 373 gènes de type *tnaA* ont été recensés et une importante proportion d'entre eux n'a pu être assignée à des espèces bactériennes connues (Jaglin *et al.* 2018). Face à cette diversité, manipuler expérimentalement la composition du microbiote intestinal pour faire varier sa production d'indole s'avère très complexe. Une méthode possible est de jouer sur la composition de l'aliment en protéines et en glucides, pour influencer le niveau de protéolyse bactérienne dans le côlon (Gérard & Bernalier-Donadille 2007 ; Tennoune *et al.* 2022). Mais cette méthode est trop globale pour agir uniquement sur la production d'indole. Nous avons donc choisi de mettre à profit l'existence des animaux axéniques en concevant un modèle colonisé soit avec une bactérie possédant le gène *tnaA*, en l'occurrence une souche sauvage d'*Escherichia coli* (souche BW25113, National Institute of Genetics, Mishima, Japon), soit avec son mutant dont le gène *tnaA* a été invalidé (souche JW3686, National Institute of Genetics, Mishima, Japon ; Baba *et al.* 2006). Les deux souches se sont implantées à haut niveau dans le tube digestif des animaux, soit 10^9 à 10^{10} UFC (unité formant colonie)/g de fèces, et l'analyse de la concentration fécale d'indole a validé le modèle : aucune trace d'indole n'a été détectée dans les fèces des animaux mono-associés à la souche mutante, alors que les fèces des animaux mono-associés à la souche sauvage contenaient plusieurs dizaines de nmol d'indole/g de fèces. Cette concentration reflétait bien une surproduction d'indole puisqu'elle était quatre fois supérieure à celle mesurée dans les fèces d'animaux conventionnels nourris avec le même aliment (Jaglin *et al.* 2018 ; Mir *et al.* 2020).

Étude comportementale du modèle animal de surproduction d'indole

En utilisant ce modèle animal à microbiote contrôlé, nous avons étudié l'effet de la surproduction d'indole sur les comportements de type anxieux et dépressif dans deux cas de figure : tout d'abord chez une lignée de rongeur génétiquement très sensible au stress, la lignée de rat F344 (Sarrieau *et al.* 1998) ; puis chez la lignée de souris C3H, moins sensible (Griebel *et al.*

2020), mais que nous avons exposée à des facteurs de stress environnementaux pendant plusieurs semaines.

Les rats F344 mono-associés à la souche sauvage d'*E. coli* productrice d'indole ont manifesté un comportement de type anxieux significativement plus intense que leurs congénères mono-associés à la souche mutante non productrice d'indole : dans un test de nouveauté, ils ont mis plus de temps à s'approcher de l'objet inconnu ; dans le test du labyrinthe en croix surélevé, ils se sont moins rendus dans les bras ouverts et se sont moins penchés dans le vide. Un test de suspension par la queue a aussi mis en évidence qu'ils étaient plus résignés (Figure 1). Au total, la surproduction d'indole a aggravé les comportements anxio-dépressifs chez ces animaux génétiquement prédisposés (Jaglin *et al.* 2018).

Les souris C3H ont quant à elles été soumises à une procédure de stress chronique modéré imprévisible (UCMS, Unpredictable Chronic Mild Stress), qui consiste à exposer les animaux, quotidiennement pendant plusieurs semaines, à des facteurs de stress modérés tels qu'une privation de nourriture pendant une nuit, une litière mouillée pendant une heure, etc. Un ou deux facteurs sont utilisés chaque jour et l'ordre en est modifié régulièrement afin que les animaux ne puissent pas s'y habituer (Yalcin *et al.* 2008). L'UCMS permet de mimer chez l'animal le rôle

du stress chronique dans l'induction d'un état dépressif chez l'être humain. En effet, il conduit à des modifications comportementales, notamment l'apparition d'une attitude résignée et d'une anhédonie (incapacité à ressentir du plaisir), qui ressemblent à celles observées chez des personnes souffrant de dépression. L'objectif était de déterminer si l'indole allait aggraver ces modifications comportementales. Après quatre semaines d'UCMS, nous avons donc appliqué aux souris une batterie de sept tests destinés à évaluer des comportements de type anxieux et dépressif et nous avons synthétisé les résultats sous forme d'un z-score émotionnel (Guilloux *et al.* 2011). Chez les souris mono-associées à la souche mutante d'*E. coli* ne produisant pas d'indole, le z-score émotionnel était similaire dans le groupe témoin et dans le groupe "UCMS". En revanche, chez les souris mono-associées à la souche sauvage d'*E. coli* produisant de l'indole, le z-score émotionnel était significativement plus élevé dans le groupe "UCMS" que dans le groupe témoin (Figure 1). Une surproduction d'indole dans l'intestin rend donc les animaux plus vulnérables aux effets délétères du stress chronique (Mir *et al.* 2020).

Nous avons alors cherché à identifier par quelles voies l'indole communiquait avec le cerveau et exerçait un effet néfaste sur les réponses émotionnelles au stress.

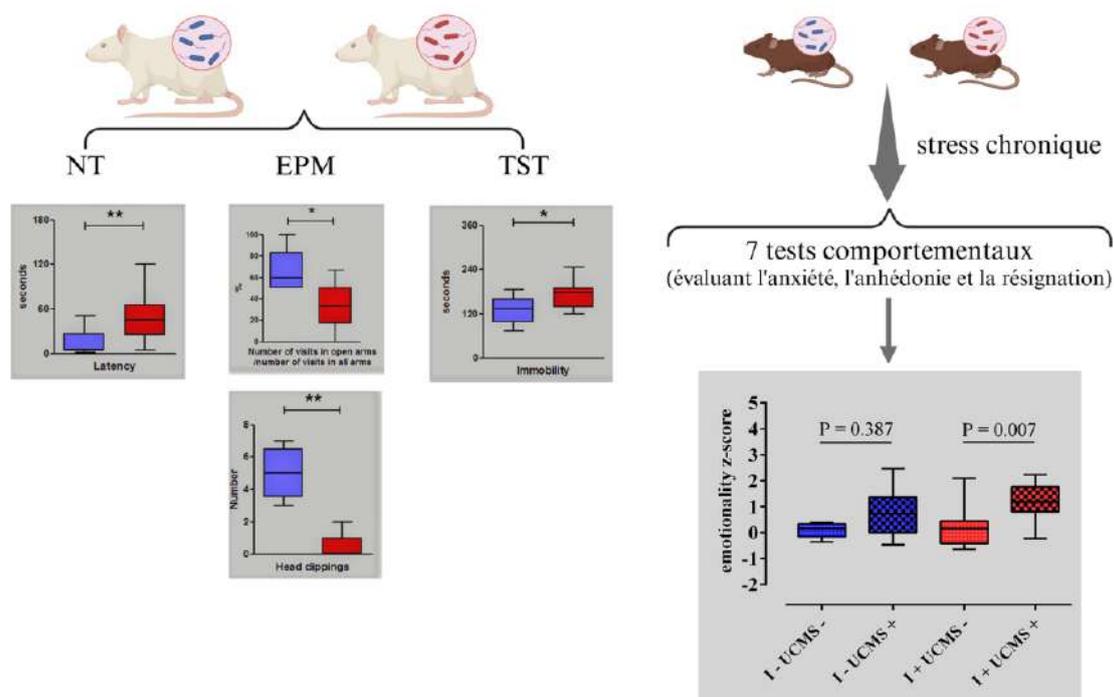


Figure 1 : Effet de la production bactérienne d'indole dans le tube digestif sur des comportements de type anxieux et dépressif chez le rat F344 et chez la souris C3H soumise à un stress chronique.

Les animaux, initialement axéniques, ont été colonisés soit avec une souche sauvage d'*E. coli* produisant de l'indole (rouge), soit avec une souche mutante ne produisant pas d'indole (bleu). NT : test de nouveauté (novelty test) ; EPM : test du labyrinthe en croix surélevé (elevated plus maze test) ; TST : test de suspension par la queue (tail suspension test). Chez les souris, les résultats de l'ensemble des tests comportementaux sont synthétisés sous forme d'un z-score émotionnel. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. (Created with BioRender.com).

L'INDOLE AGIRAIT SUR LE CERVEAU PAR DIFFÉRENTES VOIES DE COMMUNICATION

L'indole n'affecte pas la capacité du cerveau à synthétiser la sérotonine, neuromédiateur dérivé du tryptophane

Nous avons tout d'abord recherché si la surproduction d'indole dans le tube digestif pouvait affecter la biodisponibilité du tryptophane, précurseur de la sérotonine. La concentration plasmatique de tryptophane s'est avérée identique chez les animaux mono-associés à la souche sauvage d'*E. coli* productrice d'indole et chez ceux mono-associés à la souche mutée non productrice (Mir *et al.* 2020). En d'autres termes, la production d'indole dans le tube digestif n'a pas affecté le pool de tryptophane circulant, disponible pour la synthèse de sérotonine dans le cerveau. Nous avons aussi mesuré la concentration de sérotonine dans l'hippocampe, une région du cerveau impliquée dans les réponses émotionnelles au stress : elle était identique dans les deux groupes d'animaux (Mir *et al.* 2020).

Des métabolites secondaires de l'indole gagnent le cerveau par voie sanguine

Il existe potentiellement plusieurs voies de communication entre les métabolites issus du microbiote intestinal et le cerveau (Rabot, 2015) :

- la voie sanguine : les métabolites sont absorbés par les entérocytes ou traversent l'épithélium via les espaces intercellulaires, gagnent la circulation porte hépatique, sont éventuellement modifiés dans le foie, puis parviennent au cerveau par la circulation sanguine systémique ;
- la voie nerveuse : les métabolites activent les fibres afférentes

du nerf vague, qui se projettent sur une aire spécifique du tronc cérébral ;

- la voie immunitaire : les métabolites interagissent avec les cellules immunitaires intestinales et modifient l'équilibre des cytokines pro- et anti-inflammatoires, connu pour affecter le fonctionnement du cerveau (Dantzer *et al.* 2008) ;
- la voie endocrine : les métabolites induisent une production de peptides neuro-actifs par les cellules entéro-endocrines.

L'isatine et l'oxindole, deux dérivés de l'indole produits par oxydation de celui-ci par les cytochromes P450 hépatiques, sont connus pour leur potentiel neuro-actif (Tennoune *et al.* 2022).

Injectées par voie parentérale à des rongeurs, ces molécules s'accumulent dans le cerveau et induisent, selon la dose, un comportement de type anxieux ou une réduction de l'activité locomotrice. Leurs modes d'action ne sont pas totalement élucidés : l'isatine interagirait avec les récepteurs et enzymes des systèmes monoaminergiques tandis que l'oxindole perturberait l'excitabilité neuronale (Tennoune *et al.* 2022). Nous avons recherché la présence de ces deux molécules dans le cerveau des rats mono-associés à la souche d'*E. coli* productrice d'indole mais nous n'en avons trouvé que des traces non quantifiables (Jaglin *et al.* 2018). Nous avons donc poursuivi nos investigations en injectant dans le caecum de rats conventionnels une dose élevée d'indole (~ 4 mmol/kg). Deux heures plus tard, les animaux présentaient une réduction marquée de l'activité locomotrice et l'analyse de leur cerveau montrait la présence de quantités substantielles d'oxindole (~ 60 nmol/g) et d'isatine (~ 2 nmol/g). Celles-ci étaient comparables à celles observées dans le cerveau de rats ayant reçu de l'oxindole ou de l'isatine par voie parentérale à des doses de l'ordre de 0,5 mmol/kg (Carpenedo *et al.* 1998 ; Jaglin *et al.* 2018). Ces résultats montrent que l'indole présent dans le gros intestin peut être absorbé par la muqueuse intestinale puis modifié dans le foie en dérivés neuro-actifs qui parviennent au cerveau (Figure 2).

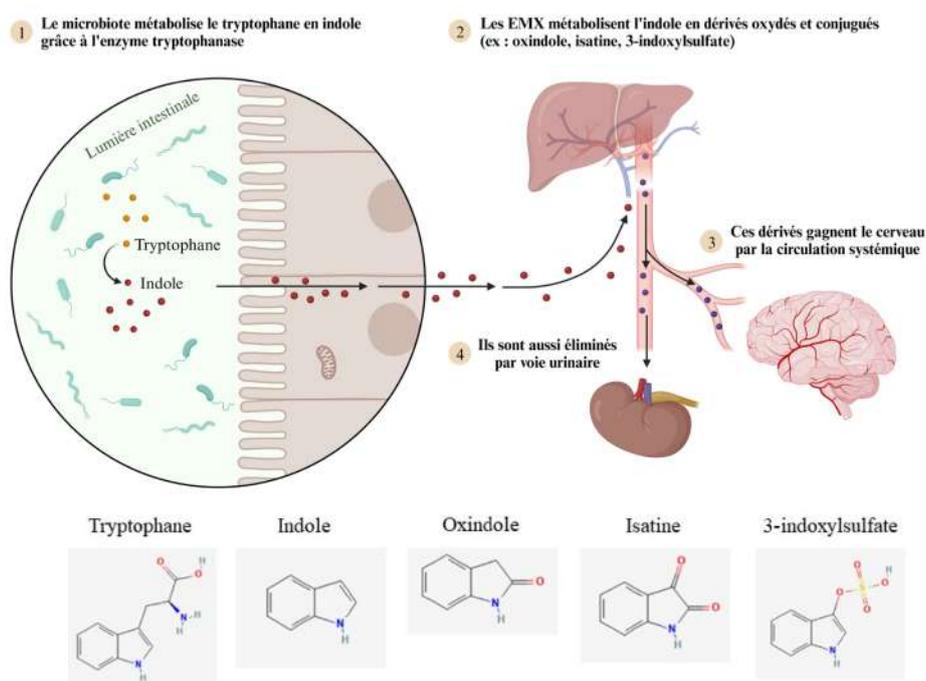


Figure 2 : Métabolisme du tryptophane en indole par le microbiote intestinal et devenir de l'indole dans l'organisme (created with BioRender.com). EMX : enzymes du métabolisme des xénobiotiques.

L'indole activerait les fibres afférentes du nerf vague

Parallèlement, nous avons recherché si l'indole pouvait stimuler les fibres afférentes du nerf vague, qui véhiculent les informations en provenance du tube digestif vers le cerveau. Pour ce faire, nous avons analysé un marqueur d'activité neuronale, la protéine cFos, dans le complexe vagal dorsal, région du tronc cérébral sur laquelle projettent les fibres afférentes de ce nerf. Le nombre de neurones "cFos positifs" était très nettement supérieur chez les rats conventionnels ayant reçu une injection intra-caecale d'indole que chez les rats témoins (Jaglin *et al.* 2018). Cette action de l'indole n'avait jusqu'à présent jamais été mise en évidence. Ce premier résultat nous a incités à rechercher quelles autres régions cérébrales étaient éventuellement activées par l'indole au-delà du complexe vagal dorsal. Nous avons mis en œuvre une cartographie de la protéine cFos à l'échelle du cerveau entier chez des souris conventionnelles recevant différentes doses d'indole par voie orale. Les analyses sont encore en cours mais ont d'ores et déjà permis de confirmer l'activation du complexe vagal dorsal (Mir, Yang *et al.* communication personnelle). En fonction des résultats de ces derniers travaux, il restera à déterminer les rôles respectifs de l'activation du nerf vague et des métabolites de l'indole atteignant le cerveau par voie sanguine dans la genèse des comportements de type anxieux et dépressif. Ces deux voies agissent-elles dans le même sens ou sont-elles antagonistes ? Quelles sont leurs cibles à l'échelle cellulaire et moléculaire, et leurs mécanismes d'action sur ces cibles ?

LES RÉSULTATS OBSERVÉS CHEZ LE RONGEUR SONT-ILS TRANSPOSABLES A L'ÊTRE HUMAIN ?

Les effets de l'indole chez les modèles animaux que nous avons développés soulèvent évidemment la question de la transposition des résultats obtenus à l'être humain. L'analyse de la distribution des gènes de type *tnaA* dans un catalogue métagénomique humain, exposée dans la première partie de cet article, a montré que la richesse en ces gènes variait considérablement en fonction des individus (Jaglin *et al.* 2018). Au-delà du potentiel génétique, des facteurs environnementaux peuvent aussi influencer la production d'indole par le microbiote : par exemple l'alimentation, ou des médicaments tels que les antibiotiques qui, en déséquilibrant fortement le microbiote, pourraient modifier les proportions des populations bactériennes produisant ou non de l'indole.

Nous avons donc formulé l'hypothèse que des individus ayant un microbiote intestinal à fort potentiel de production d'indole pourraient être plus vulnérables aux troubles anxieux et de l'humeur que des individus ayant un microbiote intestinal à faible potentiel de production de ce métabolite. Pour tester cette hypothèse, nous avons mené une étude cas-témoins au sein de l'étude observationnelle et prospective NutriNet-Santé (<https://etude-nutrinet-sante.fr/>). L'objectif général de l'étude NutriNet-Santé est d'identifier des facteurs de risque ou de protection liés à la nutrition, pour des maladies qui représentent des problèmes majeurs de santé publique, telles que les cancers,

les maladies métaboliques et les maladies cardio-vasculaires. Il s'agit d'une étude de cohorte, réalisée sur une large population d'adultes volontaires, suivis pendant plusieurs années. Les participants remplissent chaque année des questionnaires sur leur santé, leur alimentation et leur mode de vie. Des prélèvements sanguins et urinaires sont aussi collectés afin de constituer une bio-banque susceptible de faire l'objet d'analyses dans des études ancillaires. Parmi les questionnaires proposés aux volontaires se trouve le questionnaire CES-D (Center for Epidemiological Studies – Depression Scale), qui permet d'évaluer la symptomatologie dépressive dans la population générale (Morin *et al.* 2011). Les épisodes dépressifs étant deux fois plus fréquents chez les femmes que chez les hommes et augmentant avec l'âge (Bromet *et al.* 2011), nous avons centré notre étude cas-témoins sur les femmes âgées de 45 à 65 ans. Nous avons exclu les personnes déclarant être atteintes, ou avoir été atteintes, de pathologies inflammatoires chroniques systémiques ou de pathologies gastro-intestinales chroniques. La prise d'antibiotiques ou une pathologie gastro-intestinale aiguë dans les deux mois ayant précédé la collecte des échantillons biologiques était également des critères d'exclusion. L'application de ces différents critères a conduit à sélectionner un groupe de 261 femmes, dont 87 cas, définis par deux scores ≥ 23 à deux ans d'intervalle au questionnaire CES-D, ce qui reflète des symptômes dépressifs récurrents ; chaque cas était apparié à 2 témoins définis par deux scores < 23 au questionnaire CES-D. L'étude NutriNet-Santé ne prévoyant pas de collecte d'échantillons fécaux, il n'était possible ni de mesurer la concentration fécale d'indole, ni d'analyser la richesse du métagénome fécal en gènes de type *tnaA*. Nous avons donc mesuré dans l'urine un marqueur de la production d'indole par le microbiote intestinal, le 3-indoxylsulfate. Cette molécule est issue de l'action des enzymes hépatiques du métabolisme des xénobiotiques sur l'indole et est excrétée par voie urinaire (Figure 2).

Les concentrations urinaires de 3-indoxylsulfate se sont avérées positivement corrélées aux scores CES-D ($r = 0,1908$; $P < 0,01$) et plus élevées dans le groupe des cas que dans celui des témoins (Figure 3).

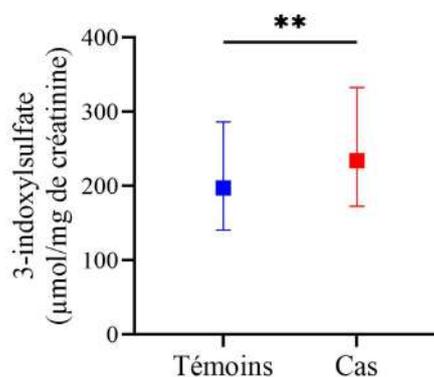


Figure 3 : Concentration urinaire (médiane et écart interquartile) de 3-indoxylsulfate dans le groupe des témoins (n=174) et dans le groupe des cas (n=87). ** $P < 0,01$.

L'analyse des données à l'aide de modèles de régression logistique, ajustés pour divers facteurs confondants, indiquait une association significativement positive entre l'excrétion de 3-indoxylsulfate et la manifestation de symptômes dépressifs récurrents (Philippe *et al.* 2021 ; Tableau 1). Ces résultats suggèrent qu'une plus grande production d'indole par le microbiote intestinal est associée à une plus grande vulnérabilité aux troubles de l'humeur.

| Modèle | Tertiles du log10 [3-indoxylsulfate / créatinine] | | | |
|--------|---|--------------------|--------------------|--------|
| | T1 | T2 | T3 | P |
| 1 | 1 | 1,70 [0,88 - 3,28] | 2,38 [1,24 - 4,58] | 0,0088 |
| 2 | 1 | 1,73 [0,90 - 3,35] | 2,47 [1,28 - 4,80] | 0,0073 |
| 3 | 1 | 1,80 [0,90 - 3,58] | 2,65 [1,31 - 5,35] | 0,0066 |
| 4 | 1 | 1,70 [0,82 - 3,52] | 2,52 [1,21 - 5,26] | 0,0139 |
| 5 | 1 | 1,56 [0,72 - 3,38] | 2,46 [1,11 - 5,45] | 0,0264 |

Tableau 1 : Résultats des différents modèles de régression logistique conditionnelle montrant une association positive entre les concentrations urinaires de 3-indoxylsulfate (exprimées par rapport aux concentrations urinaires de créatinine) et la probabilité de faire partie du groupe ayant des symptômes dépressifs récurrents.

Les valeurs sont les odds ratios [Intervalle de confiance 95%] pour les 2ème (T2) et 3ème (T3) tertiles par rapport au 1er tertile (T1). Pas d'ajustement dans le modèle 1 ; ajustement pour l'âge dans le modèle 2 ; pour l'âge, le niveau d'éducation et l'état matrimonial dans le modèle 3 ; pour l'âge, le niveau d'éducation, l'état matrimonial, la consommation d'alcool et de tabac, l'activité physique et la saison d'inclusion dans l'étude dans le modèle 4 ; pour l'âge, le niveau d'éducation, l'état matrimonial, la consommation d'alcool et de tabac, l'activité physique, la saison d'inclusion dans l'étude et l'indice de masse corporelle dans le modèle 5.

CONCLUSION

Le tryptophane est le précurseur de deux molécules d'importance pour le système nerveux central : la sérotonine, neurotransmetteur, et la kynurénine, qui joue un rôle dans le fonctionnement du système immunitaire et dans l'inflammation (Gheorghie *et al.* 2019). Des perturbations des voies de la sérotonine et de la kynurénine sont impliquées dans la physiopathologie des troubles anxieux et de l'humeur (Nutt 2008 ; Capuron & Castanon 2017). Nos travaux suggèrent qu'une autre voie métabolique du tryptophane, réalisée par le microbiote intestinal et conduisant à l'indole et à des métabolites secondaires tels que l'oxindole ou l'isatine, pourrait également jouer un rôle.

Cependant, de nombreux points restent à éclaircir. L'identification des voies de communication de l'indole avec le cerveau, des structures cérébrales cibles, et des mécanismes d'action à l'échelle cellulaire et moléculaire doit être poursuivie. Notre étude chez l'être humain a été réalisée dans un groupe appartenant à la population générale, et non chez des patients ayant

fait l'objet d'un diagnostic médical de dépression. Or, des travaux menés chez de tels patients conduisent à des résultats contrastés : le métagénome de patients bipolaires en phase dépressive est enrichi en gènes de type *tnaA* (Lai *et al.* 2021) ; à l'inverse, la concentration urinaire de 3-indoxylsulfate diminue chez des patients avec dépression sévère, mais pas chez ceux avec dépression modérée (Chen *et al.* 2017).

Au-delà du cadre des troubles de l'humeur, l'effet de l'indole et de ses métabolites secondaires sur le cerveau semble dépendre du contexte physiopathologique de l'organisme. Le 3-indoxylsulfate, qui est impliqué dans la physiopathologie de la maladie rénale chronique, semble également à l'origine des troubles neurocomportementaux associés à cette maladie (troubles cognitifs, dépression) (Karbowska *et al.* 2020). Mais, dans un modèle murin d'encéphalomyélite auto-immune, supplémenter les souris avec de l'indole ou du 3-indoxylsulfate atténue l'inflammation cérébrale (Rothhammer *et al.* 2016).

Quelle que soit l'hétérogénéité de ces résultats, ils illustrent les capacités des produits du métabolisme du microbiote intestinal à influencer le fonctionnement du cerveau. Ils soulignent ainsi l'importance pour la santé de préserver les capacités de résilience du microbiote intestinal afin qu'il entretienne durablement un dialogue harmonieux avec son hôte (Kumar Dogra *et al.* 2020).

ENCADRÉ

- Animal axénique : animal né et élevé en conditions stériles, il est dépourvu de microbiote intestinal.
- Animal conventionnel : animal né et élevé en conditions non contrôlées d'un point de vue microbiologique, il possède un microbiote intestinal complexe.
- Métabolome : ensemble des métabolites présents dans un échantillon biologique.
- Analyse métabolomique : analyse du métabolome d'un échantillon biologique (par spectrométrie de masse et/ou résonance magnétique nucléaire).
- Test de nouveauté : l'animal est placé dans une enceinte qu'il connaît, dans laquelle on dépose un objet qu'il ne connaît pas. Plus l'animal met de temps à s'approcher de l'objet inconnu (temps de latence), plus il est considéré comme anxieux. Le test dure 10 minutes.
- Test du labyrinthe en croix surélevé : l'animal est placé au centre d'une croix grecque comprenant deux branches sombres protégées par des parois (bras fermés) et deux branches éclairées, sans paroi (bras ouverts). Le tout est placé à 70 cm au-dessus du sol, accroissant le caractère anxiogène des bras ouverts. Moins l'animal se rend dans les bras ouverts et moins il penche la tête dans le vide ("head dipping"), plus il est considéré comme anxieux. Le test dure 5 minutes.
- Test de suspension par la queue : l'animal est suspendu par la queue à un crochet au-dessus du sol à l'aide d'un ruban adhésif. Il est jugé immobile en absence de tout mouvement, hormis le mouvement des vibrisses et de la respiration. Plus l'animal reste immobile, plus il est considéré comme résigné. Le test dure 6 minutes.

BIBLIOGRAPHIE

- Baba T, Ara T, Hasegawa M, Takai Y, Okumura Y, Baba M *et al.* Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: the Keio collection. *Mol Syst Biol.* 2006; 2: 0008
- Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J *et al.* The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology.* 2011; 141: 599-609
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan T *et al.* Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *P Natl Acad Sci USA.* 2011; 108(38): 16050-5
- Bromet E, Andrade LH, Hwang I, Sampson NA, Alonso J, De Girolamo G *et al.* Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Med.* 2011; 9: 90
- Capuron L & Castanon N. Role of inflammation in the development of neuropsychiatric symptom domains: evidence and mechanisms. *Curr Top Behav Neurosci.* 2017; 31: 31-44
- Carpenedo R, Mannaioni G, Moroni F. Oxindole, a sedative tryptophan metabolite, accumulates in blood and brain of rats with acute hepatic failure. *J Neurochem.* 1998; 70: 1998-2003
- Chen J, Zhou C, Zheng P, Cheng K, Wang H, Li J. Differential urinary metabolites related with the severity of major depressive disorder. *Behav Brain Res.* 2017; 332: 280-7
- Chevalier G, Siopi E, Guenin-Macé L, Pascal M, Laval T, Rifflet A *et al.* Effect of gut microbiota on depressive-like behaviors in mice is mediated by the endocannabinoid system. *Nat Commun.* 2020; 11: 6363
- Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney RD, Shanahan F *et al.* The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatr.* 2013; 18: 666-73
- Crumeyrolle-Arias M, Jaglin M, Bruneau A, Vancassel S, Cardona A, Daugé V *et al.* Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology.* 2014; 42: 207-17
- Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 2012; 13: 701-12
- Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci.* 2008; 9(1): 46-56
- Davis DJ, Bryda EC, Gillespie CH, Ericsson AC. Microbial modulation of behavior and stress responses in zebrafish larvae. *Behav Brain Res.* 2016; 311: 219-27
- De Palma G, Lynch MDJ, Lu J, Dang VT, Deng Y, Jury J *et al.* Transplantation of fecal microbiota from patients with irritable bowel syndrome alters gut function and behavior in recipient mice. *Sci Transl Med.* 2017; 9: eaaf6397
- Diaz Heijtz R, Wang S, Anuar F, Qian Y, Björkholm B, Samuelsson A *et al.* Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *P Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 3047-52
- Étude Nutrinet-Santé. Disponible à <https://etude-nutrinet-sante.fr/> et https://fr.wikipedia.org/wiki/Étude_Nutrinet-Santé (consulté le 23/08/2023)
- Gérard P & Bernalier-Donadille A. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. *Cah Nutr Diét.* 2007; 42: 2S31-2S39
- Gheorghie CE, Martin JA, Villalobos Manriquez F, Dinan TG, Cryan JF, Clarke G. Focus on the essentials: tryptophan metabolism and the microbiome-gut-brain axis. *Curr Opin Pharmacol.* 2019; 48: 137-45
- Griebel G, Belzung C, Perrault G, Sanger DJ. Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice. *Psychopharmacology (Berl.).* 2000; 148: 164-70
- Guilloux JP, Seney M, Edgar N, Sibille E. Integrated behavioral z-scoring increases the sensitivity and reliability of behavioral phenotyping in mice: relevance to emotionality and sex. *J Neurosci Meth.* 2011; 197 (1): 21-31
- Heintz-Buschart A & Wilmes P. Human gut microbiome: function matters. *Trends Microbiol.* 2018; 26(7): 563-74
- Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T *et al.* Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell.* 2013; 155: 1451-63
- Jaglin M, Rhimi M, Philippe C, Pons N, Bruneau A, Goustard B *et al.* Indole, a signaling molecule produced by the gut microbiota, negatively impacts emotional behaviors in rats. *Front Neurosci.* 2018; 12: 216
- Kraimi N, Calandreau L, Biesse M, Rabot S, Guitton E, Velge P *et al.* Absence of gut microbiota reduces emotional reactivity in Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Front Physiol.* 2018; 9: 603
- Kumar Dogra S, Doré J, Damak S. Gut microbiota resilience: definition, link to health and strategies for intervention. *Front Microbiol.* 2020; 11: 572921
- Lai W, Zhao J, Xu S, Deng W, Xu D, Wang M *et al.* Shotgun metagenomics reveals both taxonomic and tryptophan pathway differences of gut microbiota in bipolar disorder with current major depressive episode patients. *J Affect Disorders* 2021; 278: 311-9
- Leclercq S, Mian FM, Stanis AM, Bindels LB, Cambier E, Ben-Amram H *et al.* Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior. *Nat Commun.* 2017; 8: 15062
- Lee JH & Lee J. Indole as an intercellular signal in microbial communities. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010; 34: 426-44
- Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature.* 2012; 489: 220-30
- Mir HD, Milman A, Monnoye M, Douard V, Philippe C, Aubert A *et al.* The gut microbiota metabolite indole increases emotional responses and adrenal medulla activity in chronically stressed male mice. *Psychoneuroendocrinology.* 2020; 119: 104750
- Morin A, Moullec G, Maïano C, Layet

- L, Just JL, Ninot G. Psychometric properties of the Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) in French clinical and nonclinical adults. *Rev Épidémiol Santé Publique*. 2011; 59: 327-40
- Nikolova VL, Smith MRB, Hall LJ, Cleare AJ, Stone MJ, Young AH. Perturbations in gut microbiota composition in psychiatric disorders. A review and meta-analysis. *JAMA Psychiat*. 2021; 78(12): 1343-54
 - Nikolova VL, Cleare AJ, Young AH, Stone MJ. Acceptability, tolerability, and estimates of putative treatment effects of probiotics as adjunctive treatment in patients with depression. A randomized clinical trial. *JAMA Psychiat*. 2023; 80(8): 842-47
 - Nutt DJ. Relationship of neurotransmitters to the symptoms of major depressive disorder. *The J Clin Psychiat*. 2008; 69 (Suppl E1): 47
 - Pinto-Sanchez MI, Hall GB, Ghajar K, Nardelli A, Bolino C, Lau JT *et al*. Probiotic *Bifidobacterium longum* NCC3001 reduces depression scores and alters brain activity: a pilot study in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2017; 153: 448-59
 - Philippe C, Szabo de Edelenyi F, Naudon L, Druesne-Pecollo N, Hercberg S, Kesse-Guyot E *et al*. Relation between mood and the host-microbiome co-metabolite 3-indoxylsulfate: results from the observational prospective NutriNet-Santé study. *Microorganisms*. 2021; 9: 716
 - Rabot S. Axe intestin-cerveau : comment le microbiote intestinal influence la réponse au stress. *Bull Acad Vét France*. 2015; 168(3): 267-73
 - Rothhammer V, Mascanfroni ID, Bunse L, Takenaka MC, Kenison JE, Mayo L *et al*. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and CNS inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med*. 2016; 22(6): 586-97
 - Sarrieu A, Chaouloff F, Lemaire V, Mormède P. Comparison of the neuroendocrine responses to stress in outbred, inbred and F1 hybrid rats. *Life Sci*. 1998; 63: 87-96
 - Tennoune N, Andriamihaja M, Blachier F. Production of indole and indole-related compounds by the intestinal microbiota and consequences for the host: the good, the bad, and the ugly. *Microorganisms*. 2022; 10: 930
 - Valles-Colomer M, Falony G, Darzi Y, Tigchelaar EF, Wang J, Tito RY *et al*. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nat Microbiol*. 2019; 4(4): 623-32
 - Wikoff WR, Anfora AT, Liu J, Schultz PG, Lesley SA, Peters EC *et al*. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *P Natl Acad Sci USA*. 2009; 106: 3698-703
 - Xu J & Gordon JI. Honor thy symbionts. *P Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(18): 10452-9
 - Yalcin I, Belzung C, Surget A. Mouse strain differences in the unpredictable chronic mild stress: a four-antidepressant survey. *Behav Brain Res*. 2008; 193 (1): 140-3
 - Yu M, Jia H, Zhou C, Yang Y, Zhao Y, Yang M *et al*. Variations in gut microbiota and fecal metabolic phenotype associated with depression by 16S rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics. *J Pharmaceut Biomed*. 2017; 138: 231-9
 - Zheng P, Zeng B, Zhou C, Liu M, Fang Z, Xu X *et al*. Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism. *Mol Psychiatr*. 2016; 21: 786-96